

Farklı Su Sıcaklıklarında Gül Ağacı (*Aniba rosaeodora*) Esansiyel Yağının ve 2-fenoksietanolün Japon Balığı (*Carassius auratus*) Üzerindeki Anestezik Etkileri

Bariş ŞAHİN¹ , Volkan KIZAK^{2*} 

¹ Munzur Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı, Tunceli/Türkiye

² Munzur Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, Tunceli/Türkiye

* E-mail: volkan.kizak@munzur.edu.tr

Makale Bilgisi

Geliş:

06/10/2023

Kabul Ediliş:

25/12/2023

Anahtar Kelimeler:

- Anestezi
- Su sıcaklığı
- Balık
- Bitkisel esansiyel yağ

Öz

Bu çalışmada, gül ağacı esansiyel yağının ve 2-fenoksietanolün farklı su sıcaklıklarında Japon balıkları üzerinde anestezik etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında anestezik denemeler gerçekleştirilmiştir. Gül ağacı esansiyel yağı için 250, 300 ve 350 µl/lit, 2-fenoksietanol için ise 600, 700 ve 800 µl/lit konsantrasyonlar denenmiştir. 14°C'de ideal Gül ağacı esansiyel yağı konsantrasyonu 300 µl/lit, 20°C'de ise 250 µl/lit olarak belirlenmiştir. 2-fenoksietanol için her iki su sıcaklığında da ideal konsantrasyon 800 µl/lit olarak tespit edilmiştir. Gül ağacı esansiyel yağı ve 2-fenoksietanolün yüksek konsantrasyonları daha kısa indüksiyon sürelerine ve daha uzun iyileşme sürelerine neden olmuştur. Anestezik ajanların konsantrasyonları indüksiyon süreleri ile negatif, iyileşme süreleri ile pozitif korelasyon göstermiştir. Gül ağacı esansiyel yağı için 14°C'de derin anestezi ve tam iyileşme süreleri arasında zayıf negatif bir ilişki, 20°C'de ise negatif bir ilişki bulunmuştur. 14°C ve 20°C'lerde 2-fenoksietanol anestezisinde derin anestezi ve tam iyileşme süreleri arasında negatif ilişki tespit edilmiştir. Gül ağacı esansiyel yağı derin anestezi süreleri ve Gül ağacı esansiyel yağı konsantrasyonları arasında 14°C ve 20°C'lerde kuvvetli negatif bir ilişki vardır ve benzer bir ilişki 2-fenoksietanol için de bulunmuştur. Bununla birlikte, farklı su sıcaklıklarında her iki anestezik ajanda tam iyileşme süreleri ve konsantrasyonlar arasında kuvvetli pozitif ilişki tespit edilmiştir. Artan su sıcaklığının bir sonucu olarak her iki anestezik maddede anestezi ve iyileşme sürelerinin kıaldığı görülmüştür. Gül ağacı esansiyel yağı ve 2-fenoksietanol için indüksiyon ve iyileşme sürelerinde su sıcaklığı ve anestezik konsantrasyon interaksyonu önemli bulunmuştur.

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

Article Info

Received:

06/10/2023

Accepted:

25/12/2023

Keywords:

- Anesthesia
- Water temperature
- Fish
- Herbal essential oil

Abstract

In this study, it was aimed to investigate the anesthetic effects of rosewood essential oil and 2-phenoxyethanol in goldfish at different water temperatures. Anesthetic trials were carried out at water temperatures of 14°C and 20°C. Concentrations of 250, 300 and 350 µl·L⁻¹ for rosewood essential oil and 600, 700 and 800 µl·L⁻¹ for 2-phenoxyethanol were tested. The ideal rosewood essential oil concentration was determined as 300 µl·L⁻¹ at 14°C and 250 µl·L⁻¹ at 20°C. The ideal concentration for 2-phenoxyethanol was determined to be 800 µl·L⁻¹ at both water temperatures. Higher concentrations of rosewood essential oil and 2-phenoxyethanol caused shorter induction times and prolonged recovery times. Concentrations of anesthetic agents were negatively correlated with induction times and positively correlated with recovery times. A weak negative relationship was found between deep anesthesia and full recovery durations at 14°C and a negative relationship at 20°C for rosewood essential oil. A negative relationship was detected between deep anesthesia and full recovery times in 2-phenoxyethanol at 14°C and 20°C. There is a strong negative relationship between rosewood essential oil deep anesthesia times and rosewood essential oil concentrations at 14°C and 20°C, and a similar relationship was found for 2-phenoxyethanol. However, a strong positive relationship was detected between full recovery times and concentrations of both anesthetic agents at different water temperatures. As a result of increasing water temperature, anesthesia and recovery times were observed to be shortened for both anesthetic substances. The interaction of water temperature and anesthetic concentration was found to be important in the induction and recovery durations for rosewood essential oil and 2-phenoxyethanol.

Atf bilgisi/Cite as: Şahin B. & Kızak V. (2023). Farklı Su Sıcaklıklarında Gül Ağacı (*Aniba rosaeodora*) Esansiyel Yağının ve 2-fenoksietanolün Japon Balığı (*Carassius auratus*) Üzerindeki Anestezik Etkileri. Menba Journal of Fisheries Faculty, 9(2), 15-26. <https://doi.org/10.58626/menba.1372338>

GİRİŞ

Son yıllarda su ürünleri yetiştiriciliğinin kayda değer artışı balık refahını da beraberinde gündeme getirmektedir ve bu yönde gereken hassasiyetin göz ardı edilmemesi gerekliliği doğmaktadır. Akuakültür alanında yapılan birçok operasyonel uygulamalarda balık refahının gözetilmesi kaçınılmazdır. Bu uygulamalarda balıkların en az strese ve zarara maruz kalması için anestezik ajanlar ve teknikler ön plana çıkmaktadır. Balık refahı dikkate alınarak yapılacak bir üretim hem balık sağlığı hem de insan sağlığı açısından oldukça önemlidir.

Anestezik ilaçlar tarihsel olarak su ürünleri yetiştiriciliğinde, deneylerde ve veterinerlik uygulamalarında balıklar üzerinde kullanılmıştır (Schoettger ve Julin, 1967). Kullanımları, özellikle tartım, aşılama, kan alma, markalama, deneysel cerrahi ve veterinerlik prosedürleri gibi rutin prosedürler sırasında ellemenin stresli etkilerini azaltır (Sneddon, 2012). Anestezik işlemi ile balıklar üzerinde bütün operasyonel faaliyetler balıklara zarar vermeden gerçekleştirilebilir. Anestezik ajanlar strese bağlı balıkta meydana gelebilecek zararları ve strese karşı fizyolojik tepkiyi azaltabilir (Weber vd., 2009).

Anestezik madde konsantrasyonu ve çeşitli biyolojik veya çevresel faktörler balıkların anestezisini önemli ölçüde etkiler. Sıcaklık, pH, yaş, boyut, cinsiyet ve bu faktörler arasındaki etkileşimler de balıklarda anesteziklerin etkinliğine tesir eder (Ross ve Ross, 2008; Zahl vd., 2009; Sneddon, 2012; Aydın vd., 2015; Santos vd., 2015; Mitjana vd., 2018; Aydın vd., 2019). Balıklar poikilotermiktir ve bu nedenle fizyolojileri ve metabolik hızları ortamdaki su sıcaklığına bağlıdır. Daha yüksek sıcaklıklar genellikle indüksiyon ve iyileşme sürelerini azaltır. Balıkların anesteziklere tepkileri farklı su sıcaklıklarında önemli ölçüde değişebilmektedir (Hamackova vd., 2004; Mylonas vd., 2005; Zahl vd., 2009; Kucuk, 2010; Aydın vd., 2015; Santos vd., 2015; Skâr vd., 2017; Park vd., 2018; Aydın vd., 2019). Farklı su sıcaklıklarında her balık türü için etkili anestezik konsantrasyonlarının belirlenmesi su ürünleri yetiştiriciliği açısından oldukça önemlidir.

Su ürünleri yetiştiriciliği uygulamalarında MS-222, 2-fenoksietanol ve benzokain gibi kimyasal özellikte anestezik maddelerin kullanımı yaygındır. Doğal olan bitkisel anestezik maddeler içerisinde ise en çok karanfil yağının su ürünleri yetiştiriciliği alanında kullanımının yaygın olduğu görülmektedir (Kızak vd., 2018a). Son yıllarda birbirinden farklı birçok bitkisel esansiyel yağın su ürünleri araştırmalarında anestezik ajan olarak etkinliği araştırılmıştır (Cunha vd., 2010; Can vd., 2017; Correia vd., 2018; Can vd., 2018; Kızak vd., 2018a; Kızak vd., 2018b; Can vd., 2019; Kızak vd., 2020; Yigit ve Kocaayan, 2023).

Gül ağacı (*Aniba rosaeodora*) türleri Brezilya, Guyana, Peru, Kolombiya, Venezuela ve Surinam'da dağılım göstermektedir. *A. rosaeodora* esansiyel yağı analjezik, antikonvülsan, antidepresan, antimikrobiyal, antiseptik, afrodisyak, bakterisidal, hücresel uyarıcı, sefalik, uyarıcı, doku yenileyici ve uykusuzluğu ve ağrıyı azaltmak için uygulanmaktadır (Sarrazin vd., 2016).

En yaygın kimyasal ajanlardan biri 2-fenoksietanoldür ve etkinliği birçok çalışmada farklı balık türleri üzerinde çalışılmıştır (Weyl vd., 1996; Mylonas vd., 2005; Velisek ve ark, 2007; Weber vd., 2009; Kızak vd., 2018a; Mitjana vd., 2018; Aydın vd., 2019; Kızak vd., 2020). 2-fenoksietanol nakiller sırasında balıkların sakinleştirilmesi için de yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, hipoventilasyon üretir, çok az analjezi sağlar ve bu ajana düzenli olarak maruz kalmak insanlarda nörofizyolojik bir sendroma neden olur (Fernandez-Parra vd., 2017).

Bu çalışmada Japon balıklarında gül ağacı esansiyel yağının ve kimyasal bir anestezik ajan olan 2-fenoksietanolün farklı su sıcaklıklarında anestezik etkilerinin incelenmesi ve optimal konsantrasyonlarının belirlenmesi, anestezik konsantrasyonu ile su sıcaklığı arasındaki interaksyonun anesteziklerin etkinliği üzerindeki tesirlerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Deneme Yeri ve Deneme Materyalleri

Çalışma, Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Denemelerde 500 lt hacimli balık tankları, cam akvaryumlar, 1 lt şeffaf anestezik kabı, kepçe ve mikropipet kullanılmıştır.

Deneme Balığı ve Su Koşulları

Denemeler ortalama canlı ağırlığı $8,33 \pm 0,07$ gr (n=84) olan Japon balıkları (*Carassius auratus*) ile gerçekleştirilmiştir. Balıklar Elazığ'daki bir evcil hayvan satış yerinden temin edilip Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne transfer edilmiştir. Fiberglas tanklara stoklanan balıklar kademeli olarak suya alıştırmıştır. Günde iki kez doyana kadar (*ad libitum*) yemleme yapılmıştır ve denemelerin başlamasından 24 saat önce balıklar aç bırakılmıştır.

Su kalitesi parametrelerinden su sıcaklığı ve çözülmüş oksijen değerleri YSI marka portatif multi parametre ölçüm cihazı ile ölçülmüştür. 20°C su sıcaklığını sağlamak için 200 watt gücünde akvaryum su ısıtıcıları kullanılmıştır. Deneme balıklarının bir kısmı 14°C su sıcaklığında stoklanırken, bir kısmı da 20°C su sıcaklığına adapte edilip stoklanmıştır. Bu sayede aynı zaman diliminde aynı popülasyon için iki farklı su sıcaklığı oluşturulmuştur. $14,11 \pm 0,4^\circ\text{C}$ ortalama su sıcaklığında çözülmüş O₂ değeri $7,06 \pm 0,11$ mg/lt iken, $20,07 \pm 0,8^\circ\text{C}$ ortalama su sıcaklığında çözülmüş O₂ değeri $6,35 \pm 0,12$ mg/lt olarak kaydedilmiştir.

Anestezik Ajanlar

Gül ağacı (*A. rosaeodora*) esansiyel yağı ticari bir şirketten temin edilmiştir. Bu esansiyel yağın ana bileşeni %86,23 ile linalool maddesidir. Gül ağacı esansiyel yağı renksizdir ve karakteristik bir kokuya sahiptir. Kimyasal bileşimleri ve fiziksel özellikleri ticari üreticisi (Nu-Ka Defne Essencia) tarafından sağlanmıştır. Kimyasal anestezik ajan olarak 2-fenoksietanol (2-PE) (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır.

Anestezik Uygulamalar

Gül ağacı esansiyel yağı ilk olarak etanol içinde çözülmüştür. Gül ağacı esansiyel yağı ve etanol karışımından ArEO anestezik ajanı oluşturulmuştur. Her anestezik konsantrasyon denemeye başlamadan birkaç dakika önce hazırlanmıştır. Esansiyel yağların homojenizasyonu Can vd. (2018)'na göre gerçekleştirilmiştir. İlk olarak 15 ml hacimli plastik kapaklı bir tüpe istenilen konsantrasyonda esansiyel yağ aktarılmış, ardından tüpe 1:10 olacak şekilde %94 saflıkta etanol eklenmiştir. 5 sn çalkaladıktan sonra uçucu yağ+etanol solüsyonuna 10 ml saf su ilave edilerek tekrar çalkalanmıştır. Son olarak solüsyon 1 lt su ile doldurulmuş şeffaf anestezik kaba uygulanmıştır. 2-fenoksietanol anestezik ajanı (2-PE) ise doğrudan deneme suyunda çözülmüştür. Her iki anestezik ajan için üç farklı konsantrasyon seçilmiştir; ArEO için 250, 300 ve 350 µl/lt, 2-PE için 600, 700 ve 800 µl/lt konsantrasyonlar denenmiştir.

Anestezi (A_I : İlk İndüksiyon, A_D : Derin Anestezi) ve İyileşme (R_I : İlk İyileşme, R_F : Tam İyileşme) safhalarının tespitinde balık davranışları dikkate alınmıştır (Mylonas vd., 2005; Kızak vd., 2018a) ve saniye (sn) olarak süreler tespit edilerek kaydedilmiştir. Her bir konsantrasyon için 7 adet balık teker teker denenmiş ve her balık bir tekerrür olarak kabul edilmiştir. Toplamda her bir konsantrasyon için 7 tekrarlı uygulama gerçekleştirilmiştir. Anestezi ve iyileşme safhalarının belirlenmesinde iki kişi tarafından gözlem yapılmıştır. Sürelerin ölçülmesinde kronometre kullanılmıştır. Kepçe yardımıyla alınan balık şeffaf anestezi kabına aktarıldıktan sonra denge kaybı, operküler hareket ve kuyruğa dış müdahaleye verdiği tepki yönünden gözlemlenmiştir. Anestezi kabında A_D safhasına ulaşan balık kepçe yardımıyla alınıp canlı ağırlık ölçümü yapıldıktan sonra iyileşmenin gerçekleşeceği anestezik maddenin bulunmadığı iyileşme (ayılma) kabına alınmıştır. R_F safhasına ulaşan balık stok tankına alınarak ölüm ve anormal davranışlar olup olmadığının tespiti amacıyla 24 saat gözlem altında tutulmuştur. Anestezi ve iyileşme esnasında deneme sularına hafif şiddette havalandırma uygulanmıştır.

İstatistiksel Analizler

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS istatistik programı (20.0) ve Excel programı kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Verilerin normalliği ve homojenliği ANOVA varsayımlarına uyacak şekilde kontrol edilmiştir. Ortalamalar arasındaki önemli farklılıklar ANOVA ve ardından Duncan post hoc testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Anestezik konsantrasyonlar ve su sıcaklıkları arasında interaksyonu belirlemek için iki yönlü varyans analizi (two-way ANOVA) kullanılmıştır. Anestezik konsantrasyonları ile indüksiyon/iyileşme süreleri ve ayrıca indüksiyon ve iyileşme süreleri arasındaki ilişkiyi açıklamak için regresyon denklemleri kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

İki farklı su sıcaklığında bütün ArEO ve 2-PE konsantrasyonları için indüksiyon sağlanmıştır. Anestezi edilen balıklarda mortalite ve herhangi bir yan etki gözlemlenmemiştir. R_F safhasından yaklaşık 2 saat sonra balıklar yem almaya başlamıştır. 24 saatlik gözlem neticesinde balıklarda herhangi bir olumsuz durum görülmemiştir. Su sıcaklığı farkına bağlı olarak her iki anestezik ajanda indüksiyon ve iyileşme süreleri değişkenlik göstermiştir (Tablo 1 ve 2).

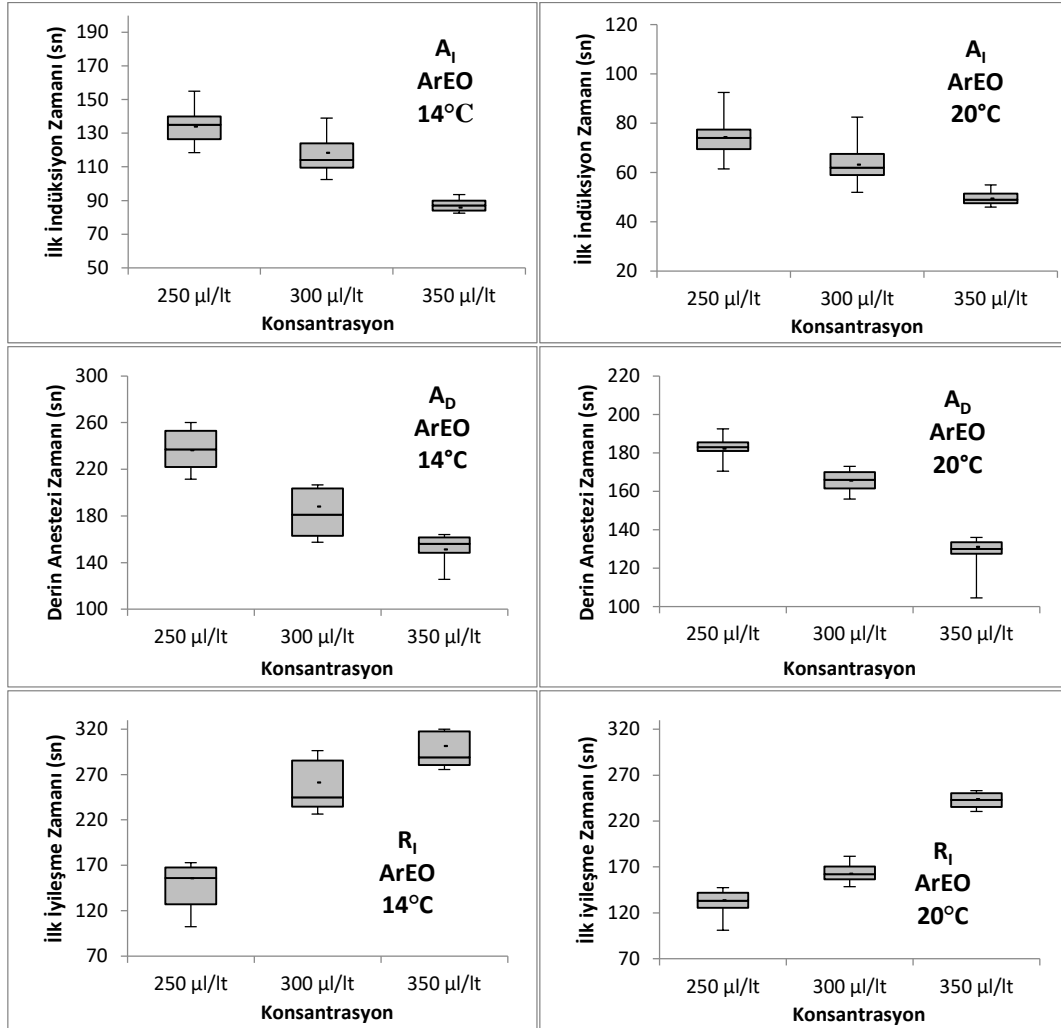
ArEO indüksiyon ve iyileşme süreleri

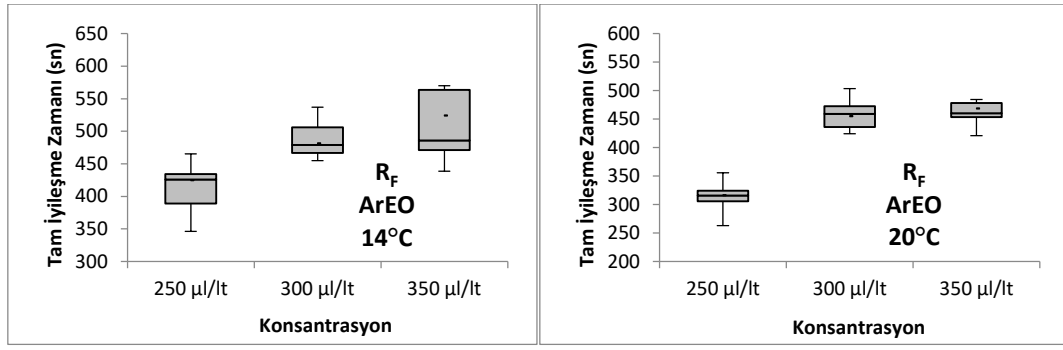
En etkili ArEO konsantrasyonu 14°C'de 350 µl/lt (A_D ; R_F →151 \pm 6,4 sn ; 524 \pm 32,6 sn) ve 20°C'de 350 µl/lt (A_D ; R_F →131 \pm 1,6 sn ; 468 \pm 11,1 sn) olarak tespit edilmiştir. Konsantrasyonlar arasında aynı safhalar bakımından önemli istatistiksel farklılıklar vardır ($p<0,05$). 14°C ve 20°C'lerde ArEO anestezik ajanında konsantrasyon arttıkça A_D safhasında süreleri kısalırken, R_F safhası süreleri uzamıştır (Tablo 1, Şekil 1). Su sıcaklığı farkına bağlı olarak ArEO'da indüksiyon ve iyileşme süreleri de farklılık göstermiştir. Düşük sıcaklıkta bütün indüksiyon (A_I ve A_D) ve iyileşme (R_I ve R_F) süreleri yüksek sıcaklığa göre uzun kaydedilmiştir.

Tablo 1. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında *C. auratus* türünde farklı konsantrasyonlardaki ArEO anestezi ajanına ait induksiyon (A_I ve A_D) ve iyileşme (R_I ve R_F) safhalarının süreleri (sn).

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

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





Şekil 1. 14°C ve 20°C’lerde farklı konsantrasyonlarda ArEO ile anestezi edilen *C. auratus* türünde A_I , A_D , R_I ve R_F safhaları sürelerine ait Box Plot grafiği.

14°C ve 20°C’lerde ArEO konsantrasyonu arttıkça A_I ve A_D safhaları süreleri kısalırken, R_I ve R_F safhalarının süreleri uzamaktadır (Tablo 1, Şekil 1) ($p < 0,05$). ArEO anestezi ajanında indüksiyon ve iyileşme sürelerinin iki farklı su sıcaklığında da önemli derecede konsantrasyona bağlı olduğu görülmektedir ($p < 0,05$).

2-PE indüksiyon ve iyileşme süreleri

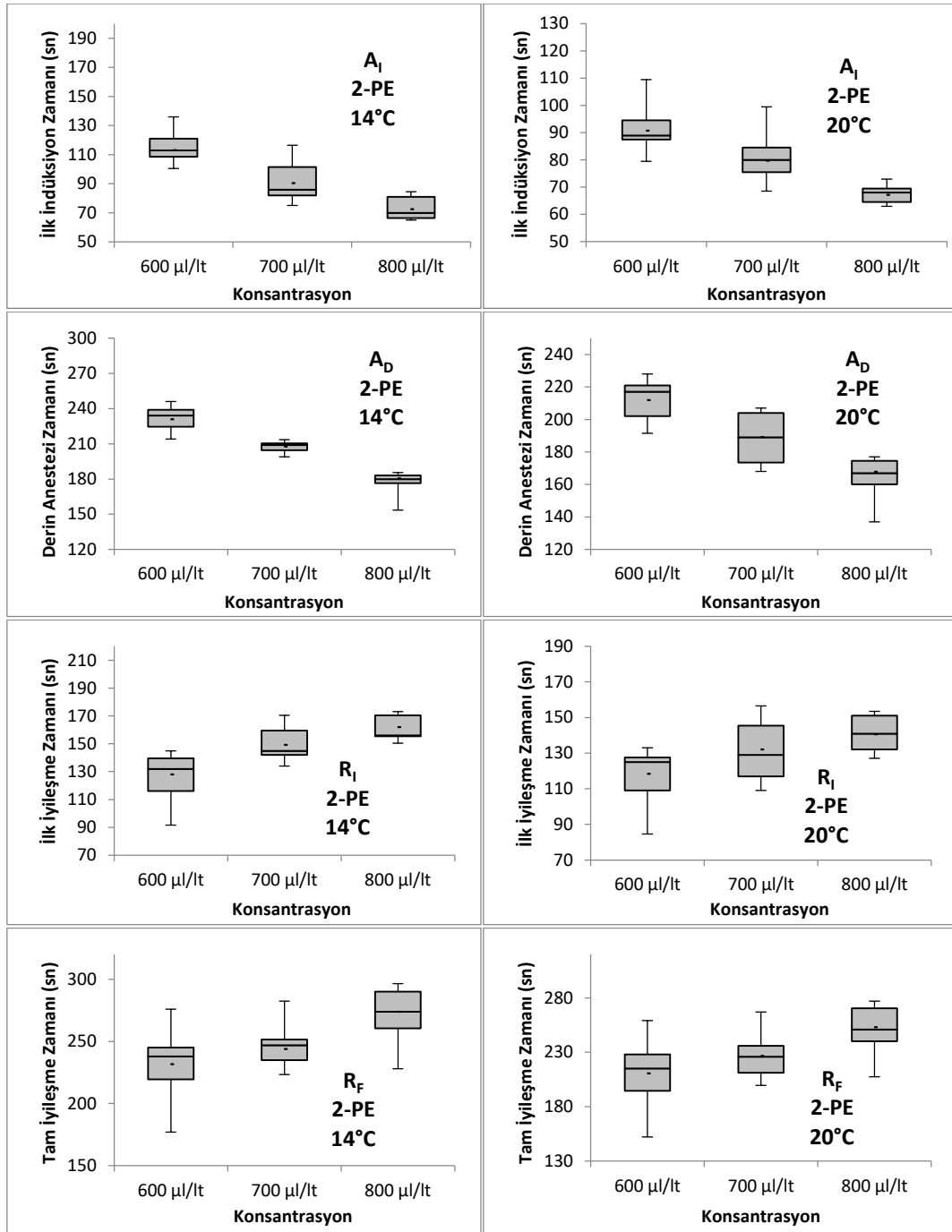
14°C’de en etkili 2-PE konsantrasyonu 800 µl/l (A_D ; $R_F \rightarrow 181 \pm 2,38$ sn ; $274 \pm 9,8$ sn) ve 20°C’de 800 µl/l (A_D ; $R_F \rightarrow 168 \pm 3,4$ sn ; $253 \pm 7,8$ sn) olarak belirlenmiştir. Konsantrasyonlar arasında aynı safhalar bakımından önemli istatistiksel farklılıklar vardır ($p < 0,05$). 14°C ve 20°C’lerde 2-PE anestezi ajanında konsantrasyon artışına bağlı olarak A_D safhası süreleri kısalmaktadır. Buna karşın 14°C ve 20°C’lerde konsantrasyon artışına bağlı olarak R_F sürelerinin uzadığı gözlemlenmiştir (Tablo 2, Şekil 2).

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

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

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

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

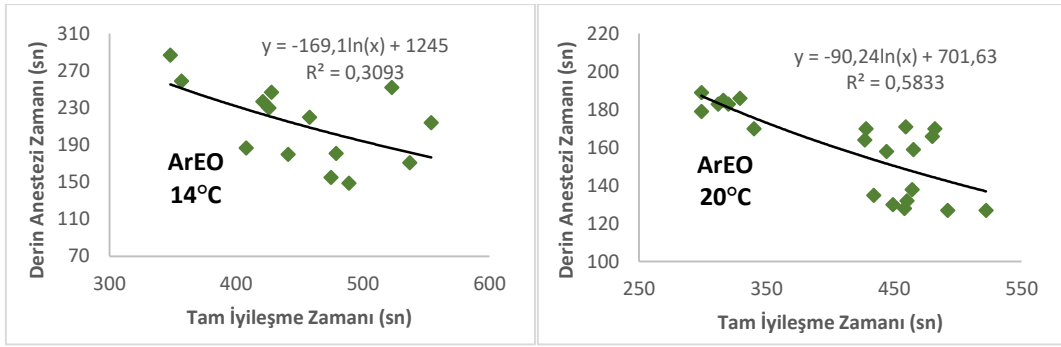


Şekil 2. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında farklı konsantrasyonlarda 2-PE ile anestezi edilen *C. auratus* türünde A_I, A_D, R_I ve R_F safhaları sürelerine ait Box Plot grafiği.

14°C ve 20°C’lerde 2-PE konsantrasyonu arttıkça A_I ve A_D safhaları süreleri azalmakta, R_I ve R_F safhalarının süreleri ise uzamaktadır (Tablo 2, Şekil 2) ($p < 0,05$). 2-PE anestezi maddesinde induksiyon ve iyileşme süreleri iki farklı su sıcaklığında da önemli derecede konsantrasyona bağlıdır ($p < 0,05$).

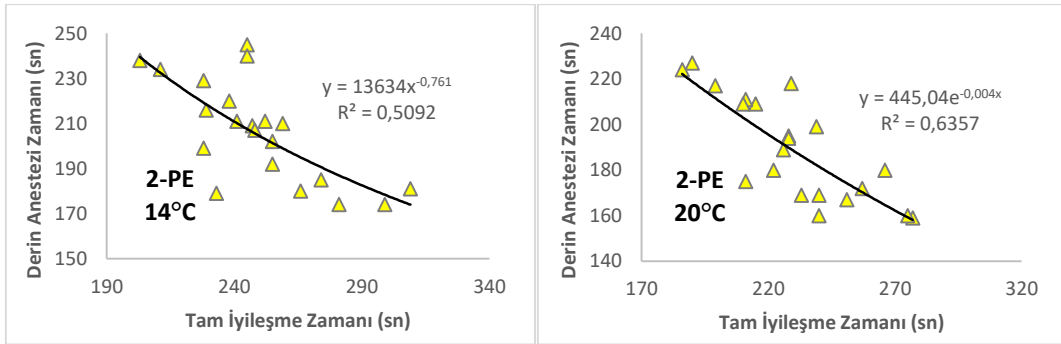
A_D ve R_F zamanları arasındaki ilişki

14°C’de arEO A_D ve R_F süreleri arasında zayıf negatif bir ilişki ($R^2 = 0,3093$), 20°C’de ise A_D ve R_F süreleri arasında negatif bir ilişki kaydedilmiştir ($R^2 = 0,5833$) (Şekil 3).



Şekil 3. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlardaki ArEO ile anestezi edilen *C. auratus* türünde A_D ve R_F zamanları arasındaki ilişki.

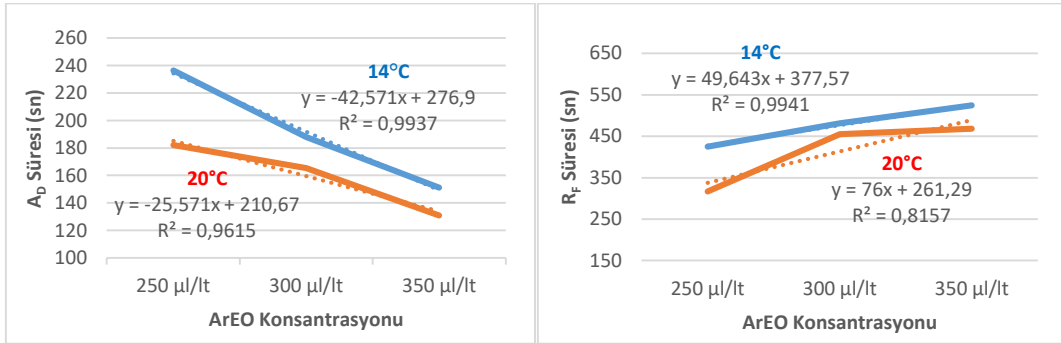
14°C'de 2-PE A_D ve R_F süreleri arasında negatif bir ilişki ($R^2=0,5092$), 20°C'de A_D ve R_F süreleri arasında negatif bir ilişki kaydedilmiştir ($R^2=0,6357$) (Şekil 4).



Şekil 4. 14°C su sıcaklığında farklı konsantrasyonlardaki 2-PE ile anestezi edilen *C. auratus* türünde A_D ve R_F zamanları arasındaki ilişki.

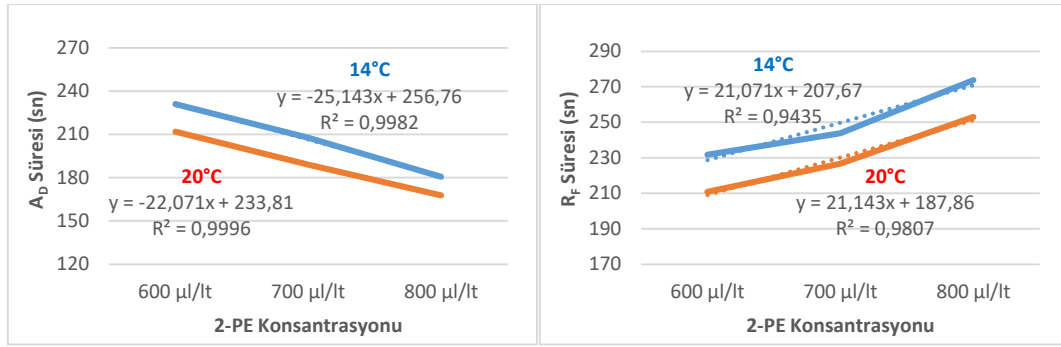
Farklı su sıcaklıklarında A_D/R_F zamanları ve konsantrasyonlar arasındaki ilişki

ArEO A_D süreleri ve konsantrasyonlar arasında 14°C'de kuvvetli negatif bir ilişki ($R^2=0,9937$) ve 20°C'de kuvvetli negatif bir ilişki tespit edilmiştir ($R^2=0,9615$). ArEO R_F süreleri ve konsantrasyonlar arasında 14°C'de kuvvetli pozitif bir ilişki ($R^2=0,9941$) ve 20°C'de kuvvetli pozitif bir ilişki bulunmuştur ($R^2=0,8157$) (Şekil 5).



Şekil 5. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında ArEO A_D zamanları / konsantrasyonları arasındaki ilişki ve ArEO R_F zamanları ve konsantrasyonları ilişkisi.

2-PE A_D süreleri ve konsantrasyonlar arasında 14°C'de kuvvetli negatif bir ilişki ($R^2=0,9982$) ve 20°C'de kuvvetli negatif bir ilişki bulunmuştur ($R^2=0,9996$). 2-PE R_F süreleri ve konsantrasyonlar arasında 14°C'de kuvvetli pozitif bir ilişki ($R^2=0,9435$) ve 20°C'de kuvvetli pozitif bir ilişki vardır ($R^2=0,9807$) (Şekil 6).



Şekil 6. 14°C ve 20°C su sıcaklıklarında 2-PE A_D zamanları / konsantrasyonları arasındaki ilişki ve 2-PE R_F zamanları / konsantrasyonları arasındaki ilişki.

Bu çalışmada, Japon balıkları iki farklı su sıcaklığında (14°C ve 20°C) farklı konsantrasyonlardaki gül ağacı (*A. rosaeodora*) esansiyel yağı (ArEO) ve kimyasal anestezi ajan 2- fenoksietanol (2-PE) ile anestezi edilmiştir. ArEO'nun ana bileşeni linalool olup anestezi etkisinin olduğu birkaç çalışmada bildirilmektedir (Heldwein vd., 2014; Mirghaed vd., 2016; Mazandarani vd., 2017; Silva vd., 2017). ArEO'nun Japon balıkları üzerinde anestezi etkisi göstermesinde başlıca unsur linalool bileşenidir (Kızak vd., 2018a).

Ross ve Ross (2008)'a göre, derin anestezi (A_D) safhası 3 dk'dan az bir sürede gerçekleşmelidir. Tam iyileşme (R_F) safhası da 5 dk'yı aşmamalıdır. Weber vd. (2009)'ne göre bu süreler balıklar üzerinde yapılacak operasyonel faaliyetler için yeterlidir. 14°C'de Japon balıklarının anestezi (A_D) edilmesinde en etkin ArEO konsantrasyonu 350 µl/Lt (A_D→151 ± 6,4 sn) iken, iyileşme (R_F) bakımından en ideal konsantrasyon 250 µl/Lt (R_F→425 ± 25,6 sn) olarak bulunmuştur. Bununla birlikte, 14°C'de ideal süreler yakınlık açısından A_D ve R_F birlikte dikkate alındığında ideal konsantrasyonun 300 µl/Lt (A_D ; R_F→188 ± 13,9 sn ; 481 ± 16,1 sn) olduğunu söyleyebiliriz. 20°C'de Japon balıklarının anestezi (A_D) edilmesinde en etkin ArEO konsantrasyonu 350 µl/Lt (A_D→131 ± 1,6 sn) iken, iyileşme (R_F) bakımından en ideal konsantrasyon 250 µl/Lt (R_F→316 ± 5,7 sn) olarak kaydedilmiştir. 20°C'de ideal süreler yakınlık açısından A_D ve R_F beraber ele alındığında ideal konsantrasyonun 250 µl/Lt (A_D ; R_F→182 ± 2,3 sn ; 316 ± 5,7 sn) olduğu görülmektedir. Bu verilere göre, balıklarda anestezi için süre kriterleri dikkate alındığında ArEO maddesinin ideal bir anestezi ajan olduğu ortaya çıkmaktadır. 14°C'de A_D için en etkin 2-PE konsantrasyonu 800 µl/Lt (A_D→181 ± 2,38 sn) ve R_F bakımından en ideal 2-PE konsantrasyonu 600 µl/Lt (R_F→232 ± 7,0 sn) olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, 14°C'de ideal süreler yakınlık açısından A_D ve R_F birlikte dikkate alındığında ideal 2-PE konsantrasyonunun 800 µl/Lt (A_D ; R_F→181 ± 2,38 sn ; 274 ± 9,8 sn) olduğu görülmektedir. 20°C'de A_D için en etkin 2-PE konsantrasyonu 800 µl/Lt iken (A_D→168 ± 3,4 sn), R_F bakımından en ideal konsantrasyon 600 µl/Lt (R_F→211 ± 7,1 sn) olarak bulunmuştur. 20°C'de ideal süreler yakınlık açısından A_D ve R_F beraber dikkate alındığında ideal konsantrasyonun 800 µl/Lt (A_D ; R_F→168 ± 3,4 sn ; 253 ± 7,8 sn) olduğu söylenebilir. 14°C ve 20°C'lerde ArEO ve 2-PE konsantrasyonları arttıkça A_D süreleri kısalmışken R_F süreleri artış eğilimi göstermektedir (p<0,05). ArEO ve 2-PE için benzer bulgular 23°C su sıcaklığında Kızak vd. (2018a) tarafından da bildirilmektedir. Weyl vd. (1996) balıkların anesteziden kurtulma süresinin konsantrasyona bağlı olduğunu, en yüksek konsantrasyonda anestezi uygulanan balıkların daha düşük konsantrasyonlarda anestezi uygulananlardan daha geç iyileştiğini belirtmiştir. Bu çalışmada anestezi ajanlarının konsantrasyonları indüksiyon süreleri ile negatif, iyileşme süreleri ile pozitif korelasyon göstermiştir.

Genel olarak anesteziden iyileşme durumuna geçme anestezinin konsantrasyonuna bağlıdır (Weyl vd., 1996) ve bu durum anestezi ajan tipine ve balık türüne bağlı olarak indüksiyon ve iyileşme arasında pozitif veya negatif bir ilişkiye sebep olabilmektedir. Bu çalışmada, 14°C'de ArEO anestezi ajanında A_D ve R_F süreleri arasında zayıf negatif bir ilişki (R²= 0,3093), 20°C'de A_D ve R_F süreleri arasında negatif bir ilişki bulunmuştur (R²= 0,5833). Yine benzer şekilde, 14°C ve 20°C'lerde 2-PE anestezi maddesinde A_D ve R_F süreleri arasında negatif ilişki tespit edilmiştir (sırasıyla, R²= 0,5092 ve R²= 0,6357). İndüksiyon ve iyileşme süreleri arasındaki negatif ilişki birçok çalışmada bildirilmektedir (Weyl vd., 1996; Hoseini vd., 2015; Mazandarani vd., 2017; Can vd., 2018a; Kızak vd., 2018a; Kızak vd., 2018b; Kızak vd., 2020).

ArEO ve 2-PE anestezi maddelerinde konsantrasyon ve indüksiyon süresi arasında önemli derecede negatif bir ilişki olduğu görülmektedir. 14°C ve 20°C'lerde ArEO A_D süreleri ve konsantrasyonlar arasında kuvvetli negatif bir ilişki (sırasıyla, R²= 0,9937 ve R²= 0,9615) bulunmuştur. 14°C ve 20°C'lerde 2-PE A_D süreleri ve konsantrasyonları arasında da kuvvetli negatif bir ilişki (sırasıyla, R²= 0,9982 ve R²= 0,9996) kaydedilmiştir. Konsantrasyon ve indüksiyon süresi arasındaki bu negatif ilişki durumu diğer anestezi maddelerle yapılan çalışmalarda da karşılaşılan bir olgudur (Cunha vd., 2010; Kızak vd., 2018a; Kızak vd., 2018b; Aydın vd., 2015; Aydın vd., 2019; Can vd., 2019; Kızak vd., 2020; Silva vd., 2020). ArEO ve 2-PE'de konsantrasyon artışına bağlı olarak A_D süreleri kısalmış olsa da R_F sürelerinde durum farklı olmuştur. Her iki su sıcaklığında da ArEO ve 2-PE'de R_F süreleri konsantrasyon artışına bağlı olarak uzamıştır. 14°C ve 20°C'lerde ArEO R_F süreleri ve konsantrasyonlar arasında kuvvetli pozitif ilişki (sırasıyla, R²= 0,9941 ve R²= 0,8157) vardır. 14°C ve 20°C'lerde 2-PE R_F süreleri ve konsantrasyonları arasında kuvvetli pozitif ilişki (sırasıyla, R²= 0,9435 ve R²= 0,9807) bulunmuştur. Anestezi konsantrasyonu ile iyileşme süresi arasındaki bu pozitif ilişki farklı anestezi ajanlar ve farklı balık türleriyle yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir (Aydın vd., 2015; Kızak vd., 2018a; Kızak vd., 2018b; Can vd., 2019; Aydın vd., 2019). Bununla birlikte, Kızak vd. (2020) defne yaprağı esansiyel yağı ve 2-PE ile yaptıkları çalışmada, 2-PE konsantrasyonları ile iyileşme süreleri arasında pozitif, defne yaprağı esansiyel yağı konsantrasyonları ile iyileşme süreleri arasında negatif ilişki kaydetmiştir. Benzer negatif ilişkiler birkaç

çalışmada da bildirilmiştir (Sena vd., 2016; Limma-Netto vd., 2016). Uygulanan anestezi ajanları, su sıcaklığı ve balık türleri iyileşme sürelerini etkileyebilir (Mylonas vd., 2005; Limma-Netto vd., 2016).

Su sıcaklığı farkının indüksiyon ve iyileşme sürelerine olan etkisi barizdir. Su sıcaklığı yükseldikçe anestezi ve iyileşme sürelerinin azalması olgusu (Sneddon, 2012), bu çalışmada elde edilen bulgular ile teyit edilmektedir. Daha yüksek sıcaklıklarda daha hızlı indüksiyon ve iyileşme sürelerinin gerçekleşmesi, sıcaklık ve balık metabolizması arasındaki pozitif ilişkiye bağlanmaktadır (Mylonas vd., 2005). *Psetta maxima* türünde karanfil yağı ile yapılan bir çalışmada, balık boyutu ve konsantrasyonları fark etmeksizin, su sıcaklığının 10°C'den 20°C'ye çıkarılmasıyla indüksiyon ve iyileşme sürelerinin yarı yarıya azaldığı bildirilmektedir (Aydın vd., 2015). Su sıcaklığındaki değişiklik nedeniyle balık fizyolojisinde meydana gelen değişimler, anestezi ve iyileşme sürelerini önemli ölçüde etkiler (Aydın vd., 2019). Olasılıkla daha yüksek oksijen talebi gerektiren artan bazal metabolik hız ile ilişkili olarak bu durum artan solunum ve dolaşıma yol açmaktadır (Schurmann ve Steffensen, 1997; Clarke ve Johnston, 1999). Farklı balık türlerinde farklı anestezi maddeleriyle yapılan araştırmalarda artan su sıcaklığının bir sonucu olarak anestezi ve iyileşme sürelerinin kısaldığı bildirilmektedir (Hamackova vd., 2004; Hoskonen ve Pirhonen, 2004; Mylonas vd., 2005; Zahl vd., 2009; Aydın vd., 2015; Santos ve ark, 2015; Skår vd., 2017; Park vd., 2018; Aydın vd., 2019).

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

Bitkisel esansiyel yağlar ve bunların etken maddeleri ile yapılan anestezi çalışmalarında, balıklarda anormal yüzme davranışları, kas kasilması, öksürme, solunum kesme, lateral bölgede siyah bant oluşumları gibi bir takım yan etkilerden bahsedilmektedir (Mazandarani ve Hoseini, 2017; Mirghaed vd., 2018; Kızak vd., 2020). Başka bir çalışmada istemsiz kas kasilmaları ve ayrıca mortalite nedeniyle fesleğen yağı önerilmemiştir (Correia vd., 2018). Deri renginde ve desenlerde, siyah ve hafif gölgelenme şeklindeki bant oluşumları ile meydana gelen değişimler balıklarda stresi işaret etmektedir (Van der Salm vd., 2006; Rezende vd., 2017). Çalışmada, Japon balıkları üzerinde ArEO ve 2-PE anestezi ajanlarının herhangi bir yan etkisi gözlemlenmemiştir. Konsantrasyon artışına bağlı olarak ArEO'nun karakteristik kokusu artmasına rağmen uygulayanlar üzerinde rahatsız edici bir tesire sahip değildir. Gül ağacı esansiyel yağının etanol ile olan karışımı suda herhangi bulanıklığa sebep olmamakta, dolayısıyla balık davranışlarını gözlemlemek açısından bir zorlukla karşılaşılmamaktadır.

SONUÇ

Sonuç olarak, ArEO anestezi ajanının her iki su sıcaklığında da etkili olduğu kanaatine varılmıştır. Uygulayanlarda koku ve gözlem açısından herhangi bir olumsuz etkisinin olmaması, balıklar üzerinde herhangi bir yan etkisinin olmaması, anestezi ve iyileşme süreleri bakımından ideal süreler içinde olması, anesteziyi sağlayabilmek için yüksek konsantrasyonlarda esansiyel yağ kullanılmasına gerek olmaması gibi makul özellikleri sebebiyle ArEO maddesi anestezi ajanı karakteristikleri sergilemektedir. Bununla birlikte, ArEO anestezi ajanının farklı balık türleri üzerinde, farklı balık büyüklüklerinde ve farklı su koşullarında test edilmesi faydalı olacaktır.

ETİK STANDARTLARA UYUM

Yazarların katkıları

B.Ş.: Literatür taraması yaptı, çalışmayı gerçekleştirdi, verileri yorumladı, makaleyi yazdı.

V.K.: Çalışmayı tasarladı, verileri yorumladı, makaleyi kontrol etti.

Çıkar çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan ettiler

Hayvanların Refahına İlişkin Beyan

T.C. Munzur Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun E-63614754-050.01.04-2300006839 sayılı kararı (Toplantı sayısı 2022-21 / Karar no. 21-01) ile etik kurallar çerçevesinde bu çalışma gerçekleştirilmiştir.

İnsan Hakları Beyanı

Bu çalışma insan katılımcıları kapsamamaktadır.

KAYNAKLAR

- Aydın, İ., Akbulut, B., Küçük, E. & Kumlu, M. (2015). Effects of temperature, fish size and dosage of clove oil on anaesthesia in turbot (*Psetta maxima* Linnaeus, 1758). Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 15:899-904. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v15_4_13
- Aydın, A., Akhan, S., Gümüş, E. & Özbaş, M. (2019). Anesthetic efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol on Doctor fish, *Garra rufa* (Heckel, 1843). Boletim Do Instituto De Pesca, 45(4):e506. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2019.45.4.506>
- Can, E., Kızak, V., Özçiçek, E. & Can, S. S. (2017). The efficacy of chamomile (*Matricaria chamomilla*) oil as a promising anesthetic agent for two freshwater aquarium fish species. The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 1437(69):1-8.
- Can, E., Kızak, V., Özçiçek, E. & Can S. S. (2018). Anesthetic potential of geranium (*Pelargonium graveolens*) oil for two cichlid species, *Sciaenochromis fryeri* and *Labidochromis caeruleus*. Aquaculture, 491:59-64. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.03.013>
- Can, E., Kızak, V., Özçiçek, E. & Can, S. S. (2019). Anesthetic Efficiency of Three Medicinal Plant Oils for Aquatic Species: Coriander *Coriandrum sativum*, Linaloe Tree *Bursera delpechiana*, and Lavender *Lavandula hybrida*. Journal of Aquatic Animal Health, 31:266-273. <https://doi.org/10.1002/aah.10081>
- Clarke, A. & Johnston, N. M. (1999). Scaling of metabolic rate with body mass and temperature in teleost fish. Journal of Americal Ecology, 68:893-905.
- Correia, A. M., Pedrazzani, A. S., Mendonca, R. C., Massucatto, A., Ozorio, R. A. & Tsuzuki, M. Y. (2018). Basil, tea tree and clove essential oils as analgesics and anaesthetics in *Amphiprion clarkii* (Bennett, 1830). Brazilian Journal of Biology, 78(3):436-442. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.166695>
- Cunha, M. A., Barros, F. M. C., Oliveira Garcia, L., Lima Veeck, A. P., Heinzmann, B. M., Loro, V. L., & Baldisserotto, B. (2010). Essential oil of *Lippia alba*: A new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. Aquaculture, 306:403-406. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.06.014>
- Fernandez-Parra, R., Donnelly, T. M., Pignon, C., Noirault, A. & Zilberstein, L. (2017). Immersion anesthesia with alfaxalone in a goldfish (*Carassius auratus*). Journal of Exotic Pet Medicine, 26:276-282. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2017.08.003>
- Hamackova, J., Lepicova, A., Kozak, P., Stupka, Z., Kouril, J. & Lepic, P. (2004). The efficacy of various anaesthetics in tench (*Tinca tinca* L.) related to water temperature. Veterinarni Medicina, 49:467-472.
- Heldwein, C. G., Silva, L. L., Gai, E. Z., Roman, C., Parodi, T. V., Bürger, M. E., Baldisserotto, B., Flores, E. M. & Heinzmann, B. M. (2014). S-(+)-Linalool from *Lippia alba*: sedative and anesthetic for silver catfish (*Rhamdia quelen*). Veterinary Anaesthesia and Analgesia, 41:621-629. <https://doi.org/10.1111/vaa.12146>
- Hoseini, S. M., Rajabiesterabadi, H. & Tarkhani, R. (2015). Anaesthetic efficacy of eugenol on iridescent shark, *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage, 1878) in different size classes. Aquaculture Research, 46:405-412. <https://doi.org/10.1111/are.12188>
- Hoskonen, P. & Pirhonen, J. (2004). Temperature effects on anaesthesia with clove oil in six temperate-zone fishes. Journal of Fish Biology, 64:1136-1142.
- Kızak, V., Can, E., Danabaş, D. & Seyhaneyıldız Can, S. (2018a). Evaluation of anesthetic potential of rosewood (*Aniba rosaodora*) oil as a new anesthetic agent for goldfish (*Carassius auratus*). Aquaculture, 493:296-301. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.05.013>
- Kızak, V., Can, E., Can, Ş. S. & Özçiçek, E. (2018b). Anesthetic efficacy of *Cymbopogon citratus* essential oil as a herbal agent in two ornamental fish species. The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 70:1-8.
- Kızak, V., Can, E. & Seyhaneyıldız Can, S. (2020). [Potential anesthetic properties of Bay Leaf \(*Laurus nobilis*\) essential oil compared with 2-phenoxyethanol on Blue Dolphin Cichlid, *Cyrtocara moorii*](http://doi.org/10.46989/IJA.72.2020.961461). The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh, 72:1-9. <http://doi.org/10.46989/IJA.72.2020.961461>
- Kucuk, S. (2010). Efficacy of tricaine on *Peocilia latipinna* at different temperatures and concentrations. African Journal of Biotechnology, 9(5):755-759. <https://doi.org/10.5897/AJB09.1353>
- Limma-Netto, J. D., Sena, A. C. & Copatti, C. E. (2016). Essential oils of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon flexuosus* in the sedation, anesthesia and recovery of tambacu (*Piaractus mesopotamicus* male x *Colossoma macropomum* Female). Boletim do Instituto de Pesca, 42(3):727-733. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2016v42n3p727>
- Mazandarani, M., Hoseini, S. M. & Ghomshani, M. D. (2017). Effects of linalool on physiological responses of *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) and water physico-chemical parameters during transportation. Aquaculture Research, 48:5775-5781. <https://doi.org/10.1111/are.13400>
- Mazandarani, M. & Hoseini, S. M. (2017). Menthol and 1,8-cineole as new anaesthetics in common carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758). Aquaculture Research, 48:3041-3051. <https://doi.org/10.1111/are.13136>

- Mirghaed, A. T., Ghelichpour, M. & Hoseini, S. M. (2016). Myrcene and linalool as new anesthetic and sedative agents in common carp, *Cyprinus carpio*- comparison with eugenol. *Aquaculture*, 464:165-170. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.06.028>
- Mirghaed, A. T., Yasari, M., Mirzargar, S. S. & Hoseini, S. M. (2018). Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) anesthesia with myrcene: efficacy and physiological responses in comparison with eugenol. *Fish Physiology and Biochemistry*, 44:919-926. <https://doi.org/10.1007/s10695-018-0481-5>
- Mitjana, O., Bonastre, C., Tejedor, M. T., Garza, L., Esteban, J. & Falceto, M. V. (2018). Simultaneous effect of sex and dose on efficacy of clove oil, tricaine methanesulfonate, 2-phenoxyethanol and propofol as anaesthetics in guppies, *Poecilia reticulata* (Peters). *Aquaculture Research*, 49:2140-2146. <https://doi.org/10.1111/are.13668>
- Mylonas, C. C., Cardinaletti, G., Sigelaki, I. & Polzonetti-Magni, A. (2005). Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus auratus*) at different temperature. *Aquaculture*, 246:467-481. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.02.046>
- Park, I. S., Lee, T. H. & Lim, S. G. (2018). Anesthetic efficacy and physiological responses of clove oil on juvenile and adult red spotted grouper, *Epinephelus akarra*. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 21:1-6. <https://doi.org/10.1186/s41240-018-0100-5>
- Rezende, F. P., Pascoal, L. M., Vianna, R. A. & Lanna, E. A. T. (2017). Sedation of Nile tilapia with essential oils: Tea tree, clove, eucalyptus, and mint oils. *Revista Caatinga*, 30(2):479-486. <https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n223rc>
- Ross, L. G. & Ross, B. (2008). Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals, 3rd edition. Wiley-Blackwell Publishing, Oxford, İngiltere, 240s.
- Santos, S., Ghanawi, J. & Saoud, I. P. (2015). Effects of water temperature and body weight on anaesthetic efficiency in marbled rabbitfish (*Siganus rivulatus*). *Aquaculture Research*, 46:928-936. <https://doi.org/10.1111/are.12249>
- Sarrazin, S. L. F., Oliveira, R. B., Maia, J. G. S. & Mourao, R. H. V. (2016). Antibacterial activity of the rosewood (*Aniba rosaedora* and *A. parviflora*) linalool-rich oils from the Amazon. *European Journal of Medicinal Plants*, 12:1-9. <https://doi.org/10.9734/EJMP/2016/22901>
- Schoettger, R. A. & Julin, A. M. (1967). Efficacy of MS-222 as an anesthetic on four salmonids. *Investigations in Fish Control 13, Report-Federal Government Series, U.S. Fish and Wildlife Service, A.B.D, 15s.*
- [Schurmann, H. & Steffensen, J. F. \(1997\). Effects of temperature, hypoxia and activity on the metabolism of juvenile Atlantic cod. *Journal of Fish Biology*, 50:1166-80.](#)
- Sena, A. C., Teixeira, R. R., Ferreira, E. L., Heinzmann, B. M., Baldisserotto, B., Caron, B. O., Schmidt, D., Couto, R. D. & Copatti, C.E. (2016). Essential oil from *Lippia alba* has anaesthetic activity and is effective in reducing handling and transport stress in tambacu (*Piaractus mesopotamicus* X *Colossoma macropomum*). *Aquaculture*, 465:374-379. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.09.033>
- Silva, L. L., Balconi, L. S., Gressler, L. T., Garlet, Q. I., Sutili, F. J., Vargas, A. P. C., Baldisserotto, B., Morel, A. F. & Heinzmann, B. M. (2017). S-(+)- and R-(-)-linalool: a comparison of the in vitro anti-*Aeromonas hydrophila* activity and anesthetic properties in fish. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89:203-212. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720150643>
- Silva, L. A., Martins, M. A., Santo, F. E., Oliveira, F. C., Chaves, F. C. M., Chagas, E. C., Martins, M. L. & Campos, C. M. (2020). Essential oils of *Ocimum gratissimum* and *Zingiber officinale* as anesthetics for the South American catfish *Pseudoplatystoma reticulatum*. *Aquaculture*, 528:735595. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735595>
- Skår, M. W., Haugland, G. T., Powell, M. D., Wergeland, H. I. & Samuelson, O. B. (2017). Development of anaesthetic protocols for lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.): Effect of anaesthetic concentrations, sea water temperature and body weight. *PLoS ONE*, 12(7):e0179344. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179344>
- Sneddon, L. U. (2012). Clinical anesthesia and analgesia in fish. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 21:32-43. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2011.11.009>
- Van der Salm, A. L., Pavlidis, M., Flik G. & Wendelaar Bonga, S. E. (2006). The acute stress response of red porgy, *Pagrus pagrus*, kept on a red or white background. *General and Comparative Endocrinology*, 145:247-253. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2005.09.010>
- Velisek, J., Wlasow, T., Gomulka, P., Svobodova, Z. & Novotny, L. (2007). Effects of 2-phenoxyethanol anaesthesia on sheatfish (*Silurus glanis* L.). *Veterinární medicína*, 52:103-110.
- Weber, R. A., Peleteiro, J. B., García Martín, L. O. & Aldegunde, M. (2009). The efficacy of 2-phenoxyethanol, metomidate, clove oil and MS-222 as anaesthetic agents in the Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858). *Aquaculture*, 288:147-150. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.11.024>

- Weyl, O., Kaiser, H. & Hecht, T. (1996). On the efficacy and mode of action of 2- phenoxyethanol as an anaesthetic for goldfish (*Carassius auratus*), at different temperatures and concentrations. *Aquaculture Research*, 27:757-764.
- Yigit, N. O. & Kocaayan, H. (2023). Efficiency of thyme (*Origanum onites*) and coriander (*Coriandrum sativum*) essential oils on anesthesia and histopathology of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 562:738813. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738813>
- Zahl, I. H., Kissling, A., Samuelsen, O. B. & Hansen, M.K. (2009). Anaesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*) - Effect of pre-anaesthetic sedation, and importance body weight, temperature and stress. *Aquaculture*, 295:52-59. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.06.019>