

## Karanfil Yağının Japon Balığının (*Carassius auratus*) Anestezisinde Optimal Konsantrasyonu ve Balığın Taşınmasında Stoklama Yoğunluğuna Etkisi

### Optimal Concentration of Clove Oil in Anesthetization of Goldfish (*Carassius auratus*) and its Effect on Stocking Density for Fish Transportation

Mahmut Yanar<sup>1\*</sup>, Kazım Ergin Gürkan<sup>1</sup>, Ece Evliyaoğlu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, Adana

\*Sorumlu yazar: [myanar@cu.edu.tr](mailto:myanar@cu.edu.tr)

Geliş: 22.04.2021

Kabul: 02.11.2021

Yayın: 01.06.2022

**Alıntılama:** Yanar, M., Gürkan, K. E. & Evliyaoğlu, E. (2022). Karanfil Yağının Japon Balığının (*Carassius auratus*) Anestezisinde Optimal Konsantrasyonu ve Balığın Taşınmasında Stoklama Yoğunluğuna Etkisi. *Acta Aquatica Turcica*, 18(2), 147-158. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.923939>

**Özet:** Bu çalışmada, karanfil yağının ortalama ağırlığı 4,16±0,61 g olan japon balığının (*Carassius auratus*) derin anestezisi (30 dk) ve taşınması (15 s) için etkili olan konsantrasyonları tespit edilmiştir. Ayrıca karanfil yağının balıkların 15 s süreli taşınmasında stoklama yoğunluğu üzerindeki etkisi belirlenmiştir. Karanfil yağının konsantrasyonu ve uygulama süresine bağlı olarak anesteziyeye giriş süresi 2 ile 11 dk, kendine gelme süresi ise 5 ile 17 dk arasında değişmiştir. Balıkların solunum sayısı anestezisi içermeyen suda 73/dk iken, karanfil yağı uygulanmış olanlarda konsantrasyon ve uygulama süresine bağlı olarak 104/dk'ya kadar çıkmıştır. Karanfil yağının 30 dk sürede hafif anestezisi için 6-12 µL/L, derin anestezisi için 18-24 µL/L; 15 s sürede hafif anestezisi için 6-9 µL/L, derin anestezisi için 12-18 µL/L konsantrasyonları güvenle kullanılabilir. Karanfil yağının toksik konsantrasyonları 30 dk uygulama için 42 µL/L, 15 s uygulama için 21 µL/L olarak saptanmıştır. Balıkların 15 s süreli taşınmasında taşıma suyuna karanfil yağı ilavesinin balığın yaşama oranı üzerine bir etkisi olmamıştır. Juvenil japon balıklarının 3/4 oksijen basılmış naylon torbalarda 15 s süre ile taşınmasında, %98-99 yaşama oranı ile en uygun stoklama oranları 80 veya 100 adet/L'dir.

#### Anahtar kelimeler

- Japon balığı
- Karanfil yağı
- Anestezisi
- Stoklama yoğunluğu
- Taşıma

**Abstract:** In this study, the effective concentrations of clove oil for deep anesthesia (30 min) and transportation (15 h) of goldfish (*Carassius auratus*) with an average weight of 4.16±0.61g were determined. Besides, the effect of clove oil on stocking density in transporting fish for 15 hours was determined. Depending on the concentrations and application time of clove oil, induction time ranged from 2 to 11 min while recovery time varied between 5 and 17 min. Depending on the concentrations and application time of clove oil, the respiratory rate of fish increased from 73/min to 104/min with the addition of clove oil in the anesthetic-free water. 6-12 µL/L for light anesthesia and 18-24 µL/L for deep anesthesia at a 30 min period, 6-9 µL/L for light anesthesia and 12-18 µL/L for deep anesthesia at a 15 h period are determined concentrations of clove oil that can be used safely. The toxic concentrations of clove oil were determined as 42 µL/L for 30 min application, 21 µL/L for 15 h application. Adding clove oil to the transport water did not affect the survival rate of the fish during the 15 h transport period. When transporting juvenile goldfish in 3/4 oxygen compressed nylon bags for 15 h, the most suitable stocking rate is 80 or 100 fish/L with a 98-99% survival rate.

#### Keywords

- Goldfish
- Clove oil
- Anesthesia
- Stocking density
- Transportation



## 1. GİRİŞ

Akvaryum balıkçılığı popüler bir hobi olmasının yanı sıra, yan sektörleriyle birlikte dünyada 15-30 milyar US \$ ticaret hacmine sahip önemli bir sektördür (Tlusty vd., 2012; Raghavan vd., 2013). Türkiye’de resmi olmayan verilere göre akvaryum balığı ithalatına yılda yaklaşık 10 milyon US \$ döviz harcadığı, yan sektörleriyle birlikte bu rakamın 15-20 milyon US \$’ı bulduğu, satılan yıllık akvaryum balığının ise 30-40 milyon adet olduğu tahmin edilmektedir. Bu çalışmanın balık materyali olan japon balığı (*Carassius auratus*) hem yurdumuzda (Türkmen ve Çelik, 2014) hem küresel ölçekte (Ghosh vd., 2003; FAO, 2014) akvaryum balığı pazarında açık ara en büyük paya sahiptir.

Anestezikler, boylama, aşılama, markalama, sağım ve cerrahi işlemler gibi balıkların hareketsizleştirilmesi gereken durumlarda, ayrıca balıkların uzun süreli taşınmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda popüleritesi artan karanfil yağı, ucuz, kolay bulunan, güzel kokulu, insan ve çevre sağlığı bakımından güvenli olan bitkisel bir anesteziktir (Fischer vd., 1990; Woody vd., 2002). Karanfil bitkisinin (*Eugenia aromatica* / *E.caryophyllata*) gövde, yaprak ve tomurcuklarından damıtma yöntemiyle elde edilir (Soto ve Burhanuddin, 1995; Kolarova vd., 2006). Etken madde olarak %70-90 fenol bileşiği olan öjenol (4-allil-2-metoksifenol), %17’nin üzerinde öjenol asetat ve %12 nin üzerinde karyofilen içerir (Briozzo vd., 1989; Keene vd., 1998). Antioksidan (Kramer, 1985), antiviral (Siddiqui, 1996) antibakteriyel (Stecchini vd., 1993) ve antifungal (Bullerman vd., 1977) özellikleri olduğu rapor edilmiştir. Kanserojenik ve mutajenik olmayan (Maura vd., 1989) karanfil yağı, FDA (ABD Gıda ve İlaç İdaresi) tarafından da güvenli kabul edilen bir anesteziktir. İdeal bir anesteziye aranan çoğu kriteri karşılamaktadır (Marking ve Meyer 1985; Keene vd., 1998; Grush vd., 2004). Dezavantajı ise terapik endeksi yani güven aralığının dar olmasıdır (Velisek vd., 2005a; Kaiser vd., 2006).

Karanfil yağı bir anestezik olarak sazan (Otay vd., 2014), gökkuşuğu alabalığı (Keene vd., 1998; Tort vd., 2002; Perdikaris vd., 2010), çipura (Tort vd., 2002; Mylonas vd., 2005), levrek (Mylonas vd., 2005; Kamacı vd., 2009), Nil tilapiası (Simoes vd., 2011), dil balığı (Weber vd., 2009), mersin balığı (Akbulut vd., 2011), karabalık (Öğretmen ve Gökçek, 2013), ayrıca akvaryum balıklarından melek balığı (Hekimoğlu ve Ergun, 2012; Chellapan vd., 2013), zebra çiklid (Han vd., 2016), yunus (Han vd., 2016), sarı prenses (Han vd., 2016) ve japon balığı (Perdikaris vd., 2010; Abdolazizi vd., 2011) üzerinde test edilmiştir. Ancak bu çalışmalar, tartım, aşılama veya sağım gibi balıkların kısa süreli hareketsizleştirilmesine yönelik olup, balıkların uzun süreli taşınmasında stok yoğunluğu üzerindeki etkileri araştırılmamıştır. Diğer yandan anestezik madde uygulansın veya uygulanmasın, balıkların oksijen basılmış naylon torbalarda birim hacimde kaç adet veya biomasta taşınması gerektiği konusunda literatür bilgileri bulunmamaktadır.

Bu çalışmada karanfil yağının juvenil japon balığında 30 dk (dakika) ve 15 s (saat) süre uygulanmasında optimal konsantrasyonu, ayrıca balıkların oksijen basılmış naylon torbalarda 15 s taşınmasında optimal stoklama oranı ve stoklama oranına karanfil yağı ilavesinin etkisi belirlenmiştir.

## 2. MATERYAL ve YÖNTEM

Denemede akvaryum balıkçılığı sektöründe “SM” (Small medium) olarak tanımlanan ve ortalama ağırlığı 4,16±0,61 g olan juvenil japon balıklarının düz kırmızı varyeteleri kullanılmıştır. Çalışma, karanfil yağının (Sigma-Aldrich, USA) japon balığında kısa ve uzun süreli uygulanmasında optimal konsantrasyonun belirlenmesi (I. Deneme), ayrıca balıkların oksijen basılmış naylon torbalarda uzun süreli taşınmasında optimal stoklama oranı ve stoklama oranına karanfil yağı ilavesinin etkisinin test edilmesi (II. Deneme) amaçlanarak iki deneme halinde yürütülmüştür. Balıkların sağım, tartım ve aşılama gibi operasyonlar için 30 dk, şehirlerarası taşımadan ise 15 saat süre gerektiğinden denemede bu süreler dikkate alınmıştır. İkinci denemde kullanılacak anestezi seviyesi, birinci denemede belirlenen optimal konsantrasyona göre belirlenmiştir.

## 2.1. Karanfil yağının japon balığında kısa ve uzun süreli uygulanmasında optimal konsantrasyonun belirlenmesi (I. Deneme)

Karanfil yağının Japon balığında 30 dk (dakika) ve 15 s (saat) uygulanmasında anestezi etki ve yanıtını belirlemek amacıyla farklı konsantrasyonları test edilmiştir. Karanfil yağının balıklara 30 dk uygulamada 6 µL/L aralıklarla 0 ile 48 µL/L arasındaki konsantrasyonları; 15 s uygulamada ise 3 µL/L'lik aralıklarla 0 ile 24 µL/L arasındaki konsantrasyonları denenmiştir. Karanfil yağı 1/10 oranında %99 saflıktaki etil alkolde çözündürülerek stok solusyon hazırlanmıştır (Ross ve Ross, 2008).

Laboratuvara getirilen balıklar yeni ortamlarında 2 hafta sürede adapte edildikten sonra denemeye alınmışlardır. Her bir muamele grubu 3 tekrardan oluşturulmuş ve her bir tekrar için 10 adet balık kullanılmıştır. Denemeler 100 L'lik cam akvaryumlarda gerçekleştirilmiştir. Deneme süresince su sıcaklığı 22°C dolayında sabit tutulmuş ve akvaryumlar sürekli havalandırılmıştır. Deneme sonunda balıklar ayrı akvaryumlara alınarak 96 s süre boyunca olası ölümler kaydedilmiştir. Deneme süresince balıkların anestezije giriş ve kendine gelme süresi, anestezisi düzeyi, solunum sayıları ve ölüm oranları kaydedilmiştir. Akvaryumdaki balıkların yarıdan fazlasının anestezisi olması, grubun anestezisi için yeterli kabul edilmiştir. Anestezisi seviyesinin belirlenmesinde genelde balığın yüzme aktivitesi, denge, fiziksel veya görsel dış uyaranlara karşı vermiş olduğu yanıtlar dikkate alınmaktadır.

Ancak bu parametreler metrik olmadığı için, çalışmamızda nispeten daha ölçülebilir olan LOE (loss of equilibrium) esas alınmıştır. LOE, balıkların sıcaklık toleransı çalışmalarında denge kaybının belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan standart bir kriterdir. Düşük ve yüksek sıcaklık nedeniyle balığın motor aktivitesi ve koordinasyonunu yitirdiği ve 1 dakikadan fazla dorsa-ventral oryantasyon pozisyonunu sürdürmemesi olarak tanımlanmaktadır (Bennett ve Beitinger, 1997). Pek çok araştırmacı balıklarda 4 ile 6 anestezisi seviyesi ve nispeten farklı kriterler üzerinden değerlendirme yapmıştır (Yoshikawa vd., 1988; Summerfelt ve Smith, 1990; Stoskopf, 1993; Keene vd., 1998). Bu araştırmacıların önerileri ve sıcaklık tolerans çalışmasında standardize edilen LOE başta olmak üzere önerilen diğer kriterler dikkate alınarak dört anestezisi seviyesi üzerinden değerlendirme yapılmıştır:

1. Seviye (\*): *Hafif sedasyon*: Hafif denge kaybı, normal yüzme, dış fiziksel veya görsel uyaranlara karşı hafif tepki kaybı.

2. Seviye (\*\*): *Derin sedasyon*: Denge kaybı, hafif yüzme kaybı ve yüzmede koordinasyonsuzluk, dış fiziksel veya görsel uyaranlara karşı tepki kaybı.

3. Seviye (\*\*\*): *Hareketsizlik*: Tam denge kaybı, ağır yüzme kaybı, dış fiziksel veya görsel uyaranlara karşı tam tepki kaybı.

4. Seviye (\*\*\*\*): *Çöküntü*: Tam denge kaybı ve tam hareketsizlik, dış fiziksel uyaranlara karşı tam tepki kaybı, solungaç hareketlerinde duraksama ve ona bağlı oksijensizlik (hypoxia), ileri safhalarda ölüm.

## 2.2. Japon balığının naylon torbalarda uzun süreli taşınmasında optimal stoklama oranı ve stoklamada karanfil yağı ilavesinin balığın yaşama oranına etkisi (II. Deneme)

Stoklamada 105x21 cm boyutunda naylon torbalar kullanılmıştır. Bağlanınca toplam hacmi 7 litre olan naylon torbalara 2 L su ilave edilmiş ve geri kalan kısmına saf oksijen gazı basılmıştır. Balıklar torbalara stoklanmadan 3 gün önce aç bırakılmıştır. Juvenil japon balıklarında stoklama ile ilgili yapılan ön çalışmalardan elde edilen verilerden hareket edilerek balıklar torbalara 80, 100 ve 120 adet/L stoklanmıştır. Taşımacılıkta genellikle anestezinin 1. veya 2. seviyeleri önerilmektedir (Prince ve Powel., 2000; Cooke vd., 2004). Dolayısıyla, I. Denemede karanfil yağının japon balığında 15 s uygulanmasında 2. anestezisi seviyesini veren 12 µL/L konsantrasyonu esas alınmıştır. Özet olarak japon balığının 3 stok grubundan (80, 100 120 adet/L) ve karanfil yağının iki konsantrasyonundan (0 ve 12 µL/L) oluşan iki faktörlü 6 deneme grubu oluşturulmuştur. Deneme grupları 3 tekrarıyla düzenlenmiştir. Torbalardaki su sıcaklığı 22°C' de sabit tutulmuştur. 15 saat deneme süresi sonunda balıklar anestezik içermeyen taze suya alınmış ve 96 saat gözlem sonunda ölüm oranları kaydedilmiştir. En uygun deneme grubunun tespitinde, en yüksek stoklama oranını ve en yüksek yaşama oranını veren grup dikkate alınmıştır.

Denemelerdeki bütün verilerin istatistik analizlerinde SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) programı kullanılmıştır. Stok yoğunluğunun ve karanfil yağı ilavesinin birbirlerinden bağımsız olarak yaşama oranı üzerindeki etkileri tek yönlü varyans analizini (one-way ANOVA) takiben Tukey testi ile 0,05 önem düzeyinde; ayrıca stok yoğunluğu ve karanfil yağı faktörlerinin yaşama oranı üzerindeki kombine etkisinin belirlenmesinde çok yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Çalışmanın yapılabilmesi için Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'ndan (12.11.2020 tarih ve 8 sayılı toplantı) gerekli izin alınmıştır.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Karanfil yağının japon balığında kısa süre uygulanmasında optimal konsantrasyonun belirlenmesi

Karanfil yağının japon balıklarında 30 dk süre ile uygulanmasında anestezi etkisi ve yanıtları Tablo 1'de verilmiştir. Balıkların anesteziye giriş süresi konsantrasyonla ters orantılı, kendine gelme süresi ise dozla doğru orantılı olarak değişmiştir. Anesteziye giriş süresi 6 µL/L'de 11 dk iken, 48 µL/L'de 2 dk'ya düşmüştür. Bununla birlikte, kendine gelme süresi 6 µL/L'de 5 dk iken, 48 µL/L'de 13 dk'ya yükselmiştir. Diğer yandan, balıkların solunum sayısı, anestezinin konsantrasyonuna bağlı olarak artmıştır. Anestezi içermeyen suda balığın 73/dk olan solunum sayısı 36 µL/L'de 99/dk seviyesine kadar çıkmıştır. Ancak ölümlerin başladığı 42 ve 48 µL/L'de solunum sayısı aniden düşerek sırasıyla 27 ve 18/dk seviyesine inmiştir.

Karanfil yağının 6 ile 36 µL/L aralığındaki konsantrasyonları balıklarda hafif sedasyondan derin anesteziye kadar tüm anestezi seviyelerini oluşturmuştur. Karanfil yağının 36 µL/L konsantrasyonuna kadar balıklarda herhangi bir ölüm gözlenmezken, 42 ve 48 µL/L'de sırasıyla %13 ve %60 ölüm oranı gözlenmiştir. Ölümler dikkate alındığında, karanfil yağının japon balığında 30 dk sürede kullanılabilir güvenli konsantrasyonları amaca bağlı olarak 6 ile 36 µL/L arasında değişmektedir.

**Tablo 1.** Karanfil yağının farklı konsantrasyonlarının japon balığında kısa süreli (30 dk) anestezi etkisi ve yanıtları.

Karanfil yağı konsantrasyonu (µL/L)	Anesteziye giriş süresi (dk)	Kendine gelme süresi (dk)	Anestezi düzeyi	Solunum Sayısı (dk)	Ölüm oranı (%)
0	-	-	-	73±3,28 <sup>d</sup>	-
6	10,67±0,58 <sup>a</sup>	5,17±0,29 <sup>e</sup>	*	76±4,33 <sup>d</sup>	-
12	8,17±0,29 <sup>b</sup>	6,00±0,00 <sup>de</sup>	**	80±3,34 <sup>cd</sup>	-
18	6,33±0,29 <sup>c</sup>	6,17±0,29 <sup>de</sup>	**/**	87±3,40 <sup>bc</sup>	-
24	4,83±0,29 <sup>d</sup>	6,83±0,29 <sup>d</sup>	***	93±1,78 <sup>ab</sup>	-
30	4,17±0,29 <sup>d</sup>	8,33±0,58 <sup>c</sup>	***/**	98±3,63 <sup>a</sup>	-
36	3,00±0,00 <sup>e</sup>	9,17±0,29 <sup>c</sup>	****	99±6,32 <sup>a</sup>	-
42	1,83±0,29 <sup>f</sup>	10,83±0,58 <sup>b</sup>	****	27±7,12 <sup>e</sup>	13
48	1,50±0,00 <sup>f</sup>	13,00±0,50 <sup>a</sup>	****	18±5,96 <sup>f</sup>	60

\*: 1.anestezi seviyesi, \*\*: 2.anestezi seviyesi, \*\*\*: 3.anestezi seviyesi, \*\*\*\*: 4.anestezi seviyesi

Veriler ortalama ± standart sapma şeklinde sunulmuştur (n=3). Her sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirlerinden farklıdır (P<0,05).

#### 3.2. Karanfil yağının japon balığında uzun süre uygulamasında optimal konsantrasyonun belirlenmesi

Karanfil yağının 15 s sürede japon balığı üzerindeki anestezi etkisi ve yanıtları Tablo 2'de verilmiştir. Birinci denemede olduğu gibi, anestezinin konsantrasyonu arttıkça anesteziye giriş süresi kısalmış, kendine gelme süresi ise uzamıştır. Anestezi etkisinin görülmeye başladığı 6 µL/L'de anesteziye giriş süresi 11 dk iken, 24 µL/L'de 5 dk'ya düşmüştür. Balıkların kendine gelme süresi ise 6 µL/L'de 7 dk iken, konsantrasyonun artmasına paralel olarak artmış ve 24 µL/L'de 17 dk'ya

yükselmiştir. Diğer yandan, balıkların solunum sayısı, anestezinin konsantrasyonuna bağlı olarak artmıştır. Anestezi içermeyen suda balığın 74/dk olan solunum sayısı 18 µL/L’de 104/dk seviyesine kadar yükselmiştir. Ancak ölümlerin görülmeye başladığı 21 ve 24 µL/L’de solunum sayısı aniden düşerek 35 ve 16/d seviyesine inmiştir.

Karanfil yağının 3 µL/L’lik konsantrasyonu balıklarda herhangi bir anestezi etkisi göstermezken, 6 ile 24 µL/L aralığındaki konsantrasyonları hafif sedasyondan derin anesteziye kadar tüm anestezi seviyelerini üretmiştir. Anesteziğin 18 µL/L konsantrasyonlarına kadar herhangi bir ölüm olgusu görülmezken, 21 ve 24 µL/L’de sırasıyla %20 ve %87 ölüm oranı kaydedilmiştir. Mevcut ölümler dikkate alındığında, 15 s sürede karanfil yağının güvenli kullanılabilir konsantrasyonları amaca bağlı olarak 6 ile 18 µL/L aralığında gözükmektedir.

**Tablo 2.** Karanfil yağının farklı konsantrasyonlarının japon balığında uzun süreli (15 s) anestezi etkisi ve yanıtları.

Karanfil yağı konsantrasyonu (µL/L)	Anesteziye giriş süresi (dk)	Kendine gelme süresi (dk)	Anestezi düzeyi	Solunum Sayısı (dk)	Ölüm oranı (%)
0	-	-	-	74±6,29 <sup>c</sup>	-
3	-	-	-	75±6,13 <sup>c</sup>	-
6	11,17±0,29 <sup>a</sup>	6,83±0,29 <sup>e</sup>	*	81±6,54 <sup>bc</sup>	-
9	9,50±0,50 <sup>b</sup>	9,17±0,29 <sup>d</sup>	*/**	85±6,54 <sup>bc</sup>	-
12	8,17±0,58 <sup>c</sup>	10,00±0,00 <sup>d</sup>	**	93±2,90 <sup>ab</sup>	-
15	6,83±0,29 <sup>d</sup>	12,00±0,50 <sup>c</sup>	***	101±6,07 <sup>a</sup>	-
18	6,17±0,29 <sup>de</sup>	14,33±0,58 <sup>b</sup>	***/*	104±10,02 <sup>a</sup>	-
21	5,50±0,00 <sup>ef</sup>	16,17±0,29 <sup>a</sup>	****	35±10,00 <sup>d</sup>	20
24	4,83±0,29 <sup>f</sup>	16,67±0,58 <sup>a</sup>	****	16±7,13 <sup>e</sup>	87

Veriler ortalama±Standart sapma şeklinde sunulmuştur (n=3). Her sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirlerinden farklıdır (P<0,05).

### 3.3. Japon balığının naylon torbalarda uzun süre taşınmasında optimal stoklama oranı ve stoklamada karanfil yağı ilavesinin balığın yaşama oranına etkisi

80, 100 ve 120 adet/L oranında stoklanıp karanfil yağına maruz bırakılan (12 µL/L) ve bırakılmayan (0 µL/L) japon balıklarının 15 s sürede naylon torbalarda taşınmasında, birbirlerinden bağımsız olarak stok yoğunluğunun balıkların yaşama oranı üzerine etkisi olmuş (P<0,05), ancak karanfil yağının bir etkisi olmamıştır (P>0,05). Diğer yandan, stok yoğunluğu ve karanfil yağının kombine olarak balıkların yaşama oranı üzerinde bir etkisi olmamıştır (P>0,05)(Tablo 3).

**Tablo 3.** Stok yoğunluğu ve anestezinin yaşama oranı üzerindeki kombine etkisinin iki yönlü varyans analiz sonuçları.

Varyasyon kaynağı	Tip III Kareler toplamı	Df	Kareler ortalaması	F	Sig.
Düzeltilmiş model	144,13	5	28,83	116,03	0,00
Intercept	168530,57	1	168530,57	678351,42	0,00
Doz	0,95	1	0,95	3,81	0,08
Stok	141,55	2	70,78	284,88	0,00
Doz*Stok	1,63	2	0,82	3,28	0,07
Hata	2,98	12	0,25	-	-
Toplam	168677,68	18	-	-	-
Düzeltilmiş toplam	147,11	17	-	-	-

R<sup>2</sup>=0,980 (Düzeltilmiş R<sup>2</sup>=0,971)

Karanfil yağı ilave edilmiş ve edilmemiş balıklarda yaşama oranı 80 adet/L stoklamada sırasıyla %99,17 ve 99,37; 100 adet/L stoklamada %98,33 ve 98,00; 120 adet/L stoklamada ise %93,47 ve 92,22 olarak belirlenmiştir (Tablo 4).

**Tablo 4.** Japon balıklarının naylon torbalarda 15 s taşınmasında stok yoğunluğu ve karanfil yağı ilavesine bağlı yaşama oranları.

Stok oranları (adet/L)	Karanfil yağı ilavesine bağlı yaşama oranları (%)	
	0 µl/L	12 µl/L
80	99,17±0,36 <sup>a</sup>	99,38±0,63 <sup>a</sup>
100	98,33±0,29 <sup>a</sup>	98,00±0,50 <sup>a</sup>
120	93,47±0,48 <sup>b</sup>	92,22±0,64 <sup>b</sup>

Veriler ortalama ± standart sapma şeklinde sunulmuştur (n=3). Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirlerinden farklıdır (P<0,05).

Yaşama oranı bakımından 80 ile 100 adet/L stoklama arasında anlamlı bir fark görülmezken (P>0,05), 120 adet/L stoklama, 80 ve 100 adet/L stoklamaya göre daha düşük bir yaşama oranı göstermiştir (P<0,05). Özetle, balıkların 15 saat taşınmasında yaklaşık %7-8 oranında bir ölüme neden olduğu için 120 adet/L stoklama uygun değildir. Ancak %1 ve 2 ölümün görüldüğü 80 ve 100 adet/L stoklama grupları, balıkların 15 saat sürede taşınmaları için uygun gözükmektedir.

## 4. TARTIŞMA VE SONUÇ

### 4.1. Balıkların bayılma ve ayılma süreleri ile solunum sayısı

Karanfil yağının konsantrasyonuna paralel olarak balıkların anesteziye giriş süresi 2 dk ile 11 dk arasında, kendine gelme süresi ise 5 dk ile 17 dk arasında değişmiş olup, anesteziye giriş süresi kendine gelme süresinden daha uzun zaman almıştır. Anesteziye maruz kalma süresinin anesteziye giriş süresine olan etkisi ise sınırlı olmuştur. Küçükosman (2019), aynı balık türünde karanfil yağının (80 µL/L), tarafımızdan belirlenen değerlerden daha düşük olarak anesteziye giriş ve kendine gelme sürelerini 1-5 dk aralığında bildirmiştir. Yapılan çalışmalarda karanfil yağının balıklarda anesteziye giriş ve kendine gelme süreleri, balık türüne göre oldukça değişkenlik göstermiştir. Örneğin gökkuşacağı alabalığında hafif anestezi seviyelerinde anesteziye giriş ve kendine gelme süresi sırasıyla 1,6 dk ve 4,9 dk; ağır anestezi seviyelerinde ise 3,7 dk ve 4,9 dk (Prince ve Powel, 2000), *Oncorhynchus nerka*' da 3 dk ve 10 dk (Woody vd., 2002); Sazan'da 3 dk ve 4 dk (Hajek vd., 2006); inci kefalinde (*Chalcalburnus tarichi*) 1-4 dk ve 3-8 dk (Şahin vd., 2019) olarak bildirilmiştir. Akvaryum balıklarından *Cichlosoma nigrofasciatum*, *Cyrtocara moorii*, *Labidochromis caeruleus*'da anesteziye giriş süreleri sırasıyla 2,97 dk, 3,16 dk ve 2,65 dk iken, kendine gelme süreleri 9,76 dk, 9,86 dk ve 9,96 dk olarak rapor edilmiştir (Han vd., 2016). Japon balıkları için tarafımızdan belirlenen kendine gelme süresi, yukarıda bahsedilen farklı balık türlerinde bildirilen sürelerden kısmen daha uzun gözükmektedir. Akbulut vd. (2011) tarafından bildirilen karanfil yağı konsantrasyonu ile anesteziye giriş süresi arasında negatif, anestezi konsantrasyonu ile kendine gelme süresi arasında pozitif bir ilişkinin olduğu, tarafımızdan yapılan çalışmada da gözlenmiştir. Ancak Waterstrat (1999), çalışmasında böyle bir ilişkinin olmadığını ileri sürmüştür. Gerek tarafımızdan yapılan çalışmada, gerekse önceki çalışmalarda görüldüğü gibi, karanfil yağının balıklarda kendine gelme süresi, diğer anesteziyelere göre daha uzundur. Bu bir dezavantaj olarak ileri sürülse de (Munday ve Wilson, 1997), ölçüm, aşılama ve cerrahi uygulama gibi elle yapılan operasyonlarda daha uzun bir süreye olanak sağladığından bir avantaj olarak ta kabul edilebilir.

Balıkların solunum sayısı anestezi içermeyen suda 73/dk iken, karanfil yağı uygulanmış olanlarda anestezi konsantrasyonu ve uygulama süresine bağlı olarak 104/dk'ya kadar yükselmiştir. Ancak ölümlerin başladığı konsantrasyonlarda solunum sayısı aniden düşerek 16-35 dk'ya kadar inmiştir. Bu durum, yüksek konsantrasyonlardaki karanfil yağının balığın solunum sistemini felç ettiği ve mevcut

ölümlerin de olasılıkla bundan meydana geldiğini düşündürmektedir. Anestezik maddelerin genellikle balığın metabolizmasını yavaşlatacağı, dolayısıyla amonyak salınımı ve oksijen talebini düşüreceği varsayılır (McFarland, 1959; Pattanasiri ve Taparhudee, 2017). Ancak bunun aksine, çalışmamızda, balıkta metabolizmanın artmasının bir göstergesi olan solunum sayısında bir yükselme olmuştur. Diğer yandan, anestezik madde ilave edilmiş naylon torbaların suları anestezik içermeyenlere göre dışkıdan dolayı daha fazla bulanıklaştığı gözlemlenmiştir. Bu durum, fenoksietanolün japon balıklarında uygulanmasında da bildirilmiştir (Yanar vd., 2020). Diğer yandan Kaiser vd. (2006), karanfil yağı ile anestezi edilen *Haplochromis obliquoidens* 'in sularında kontrol gurubuna göre daha fazla  $NH_4^+$  ve  $NH_3$  bulunduğunu rapor etmişlerdir. Molinero ve Gonzalez (1995) ise, bazı anesteziklerin, beklenenin aksine bazı balık türlerinde kimyasal strese neden olduğunu ileri sürmüştür. Sonuç olarak anesteziğin balığın solunum sayısını azaltıp, stok yoğunluğu üzerinde olumlu etki yapacağı hipotezi karanfil yağı ve japon balığı özelinde doğrulanmamıştır.

#### 4.2. Karanfil yağının optimal konsantrasyonu

Karanfil yağının gerek 30 dk, gerekse 15 s uygulanmasında balıklardaki anestezik etkisi 6  $\mu\text{L/L}$ 'den itibaren başlamıştır. Herhangi bir yaşama kaybı olmadan, karanfil yağının 30 dk sürede 6 ile 30  $\mu\text{L/L}$  aralığındaki konsantrasyonları, 15 s sürede ise 6 ile 18  $\mu\text{L/L}$  konsantrasyonları balıklarda en hafiften en ağırına kadar tüm anestezi seviyelerini üretmiştir. Hangi konsantrasyonların seçileceği ise uygulamacının hangi anestezi seviyesini amaçladığına göre değişecektir. Küçükosman (2019), karanfil yağının juvenil japon balıklarında kısa süreli uygulanmasında en uygun konsantrasyonunu 80  $\mu\text{L/L}$  olarak tespit etmiştir. Bu konsantrasyon, tarafımızdan kısa sürede derin anestezi için tespit edilen optimal konsantrasyonun (30  $\mu\text{L/L}$ ) çok üzerindedir. Bu fark, su kalitesi veya araştırmada kullanılan karanfil yağının saflık derecesiyle ilgili olabilir. Japon balığı ile aynı aileden olan sazanda ise karanfil yağının önerilen konsantrasyonu, uygulama süresine bağlı olarak 15 ile 100  $\mu\text{L/L}$  arasında değişmektedir (Hikasa vd., 1986; Hamackova vd., 2002; Velisek vd., 2005b). Diğer balık türleri üzerinde yapılan çalışmalarda ise önerilen konsantrasyon 9 ile 80  $\mu\text{L/L}$  arasında bildirilmiştir (Keene vd., 1998; Taylor, 1999; Waterstrat, 1999; Soto ve Burhanuddin, 1995; Grush vd., 2004; Velisek vd., 2005a; Kaiser vd., 2006; Dolezelova vd., 2011; Koçak ve Can, 2019; Şahin vd., 2019). Literatür bilgilerinden de anlaşılacağı gibi, karanfil yağının önerilen konsantrasyonları, balık türüne, uygulama süresine, su kalitesine (özellikle sıcaklık) göre değişmektedir. Dolayısıyla karanfil yağının önerilen konsantrasyonları yaklaşık bir seviye verir. Geniş balık kitlelerine uygulanmadan önce ise bunun az sayıda balıklara test edilerek revize edilmesi gerekir. Diğer yandan, konsantrasyon arzu edilen anestezi seviyesine göre değişir. Genellikle ölçme, aşılama ve sağım ve gibi balıkların hareketsizleştirilmesi gereken durumlarda 1. veya 2. anestezi seviyesi amaçlanmalıdır. Bulgularımıza göre, bunun için süreye bağlı olarak karanfil yağının 6 ile 12  $\mu\text{L/L}$  arası konsantrasyonları kullanılabilir. Cerrahi operasyonlar gibi daha derin anestezi gerektiren durumlarda ise 3. anestezi seviyesinin amaçlanması daha doğru olur. Bunun için ise karanfil yağının süreye bağlı olarak 15 ile 24  $\mu\text{L/L}$  konsantrasyonları kullanılabilir.

Karanfil yağının 30 dk uygulanmasında 42 ve 48  $\mu\text{L/L}$  konsantrasyonları sırasıyla %13 ve %60; 15 s uygulanmasında ise 21 ve 24  $\mu\text{L/L}$  konsantrasyonları sırasıyla %20 ve %87 ölüme neden olduğu için, karanfil yağı bu konsantrasyonların altında kullanılmalıdır. Kaiser vd. (2006), karanfil yağının güven aralığının dar olduğuna işaret etmiştir. Velisek vd. (2005a), karanfil yağının terapötik indeksini (toksik konsantrasyon/terapötik konsantrasyon) alabalıkta 2,7 gibi oldukça düşük bir değerde hesaplamıştır. Tarafımızdan yapılan çalışmada LC50 değerine odaklanılmadığı için güven aralığı hesaplanmamıştır. Ancak eldeki bulgulardan, etkili konsantrasyon ile ölümlerin başladığı letal konsantrasyon arasındaki bandın dar olması dikkat çekicidir. Özet olarak, karanfil yağı pek çok üstün özellikleri nedeniyle su ürünleri yetiştiriciliğinde veya balıkçılık faaliyetlerinde kullanılabilir nitelikte bir anestezik maddedir. Ayrıca organik balık yetiştiriciliği için de güçlü bir seçenektir.

### 4.3. Balıkların taşınmasında optimal stoklama yoğunluğu

Stok yoğunluğu balığın yaşama oranı üzerinde beklenildiği gibi önemli bir etki yapmış, ancak taşıma suyuna karanfil yağı ilavesinin bir etkisi olmamıştır. Diğer yandan bu iki faktör balığın yaşama oranı üzerinde kombine olarak anlamlı bir etki yapmamıştır ( $P>0.05$ ). Japon balıklarının 15 s naylon torbalarda taşınmasında, 80 ve 100 adet/L stoklama oldukça düşük bir ölüm oranı (%1-2) verdiği için, en uygun stoklama olarak gözükmektedir. 120 adet/L grup daha yüksek bir stoklama olanağı sağlasa da, kayda değer bir ölüm oranına (%7-8) neden olduğu için kullanılması uygun görünmemektedir. Karanfil yağı ilavesi ise taşımada olumlu bir etki yaratmamıştır. Bunun olası nedenleri, daha önceki alt başlıklarda da değinildiği gibi, anesteziğin balığın solunum sayısını arttırması ve buna bağlı olarak suyun bulanıklaşmasından (dışkılamadan) dolayı su kalitesinin kötüleşmesidir. Sonuç olarak japon balıklarının oksijen gazı basılmış naylon torbalarda 15 s süreli taşınmasında maksimum stoklama yoğunluğu 80 veya 100 adet/L olmalıdır. Karanfil yağının ise taşımada balığın stoklama yoğunluğu üzerinde bir etkisi olmadığı için kullanılması gerekli değildir. Yanar vd. (2020) tarafından japon balıklarının 15 s süreli taşınmasında en uygun stoklama yoğunluğu 60 adet/L, biyomas olarak ise 232 g/L olarak rapor edilmiştir. Çalışmamızda ise uygun stoklama 80 ve 100 adet/L veya biyomas olarak 332 ve 416 g/L'dir. Dolayısıyla aynı türde ve aynı sürede yukarıda anılan çalışmada uygun stoklama 232 g/L olarak bildirilirken, çalışmamızda bu değer 332-416 g/L seviyesindedir. Aradaki bu farkın nedeni, olasılıkla sıcaklık koşullarının farklı olmasından kaynaklanmış olabilir. Çalışmamızda taşıma su sıcaklığı 22 °C'de, anılan çalışmada ise 24 °C'de tutulmuştur. Sonuç olarak, bu deneme koşullarına göre, karanfil yağı kullanmaksızın 3/4 oksijen gazı basılmış naylon torbalarda, balıkların 3 gün aç bırakılması durumunda 15 saat sürecek taşımada litreye 80-100 adet (veya 332-416 g) SM boy büyüklüğünde (4,16 g) japon balığı stoklamak, %98-99 yaşama oranıyla en uygun stoklama olarak gözükmektedir.

### FİNANS

Bu çalışma yüksek lisans tezinden üretilmiş ve FYL-2019-12032 no ile Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

### ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, bu çalışmayı etkileyebilecek finansal çıkarlar veya kişisel ilişkiler olmadığını beyan eder.

### YAZAR KATKILARI

Kurgu: MY; Metodoloji: MY; Deneyin gerçekleştirilmesi: KG, EE; Veri analizi: KG, EE; Makale yazımı: MY, KG, EE; Denetleme: MY. Tüm yazarlar nihai taslağı onaylamıştır.

### ETİK ONAY BEYANI

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nin (SABİDAM) 09.09.2020 tarihli, 6 nolu toplantısındaki onayı doğrultusunda yürütülmüştür.

### VERİ KULLANILABİLİRLİK BEYANI

Bu çalışmada kullanılan veriler makul talep üzerine ilgili yazardan temin edilebilir.

### KAYNAKLAR

Abdolazizi, S., Ghaderi, E., Naghdi, N., & Kamangar, B. (2011). Effects of clove oil as an anesthetic on some hematological parameters of *Carassius auratus*. *Aquaculture Research and Development*, 2 (1), 1-3. <http://dx.doi.org/10.4172/2155-9546.1000108>



- Akbulut, B., Çakmak, E., Aksungur, N., & Çavdar, Y. (2011). Effect of exposure duration on time to recovery from anaesthesia of clove oil in juvenile of russian sturgeon. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11(3), 463-467. [https://doi.org/10.4194/1303-2712-v11\\_3\\_17](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v11_3_17)
- Bennett, W. A., & Beitinger, T. L. (1997). Temperature tolerance of the sheepshead minnow, *Cyprinodon variegatus*. *Copeia*, (1), 77-87. <https://doi.org/1447842>
- Briozzo, J., Nuncez, L., Chirife, J., Herzage, L., & D'Aquino, M. (1989). Antimicrobial activity of clove oil dispersed in a concentrated sugar solution. *Journal of Applied Bacteriology*, 66, 69-75. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1989.tb02456.x>
- Bullerman, L. B., Lieu, F. Y., & Seier, S. A. (1977). Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. *Journal of Food Science*, 42(4), 1107-1116. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1977.tb12677.x>
- Chellapan, A., Rajagopalsamy, C. B. T., & Jasmine, G. I. (2013). Effect of clove oil and benzocaine on the respiratory metabolism of angel fish *Pterophyllum scalare*. *Indian Journal Science Technology*, 6(7), 4853-4861.
- Cooke, S. J., Suski, C. D., Ostrand, K. G., Tufts, B. L., & Wahl, D. H. (2004). Behavioral and physiological assessment of low concentrations and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture*, 239, 509-529. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.06.028>
- Dolezelova, P., Macova, S., Plhalova, L., Pistekova, V., & Svobodova, Z. (2011). The acute toxicity of clove oil to fish *Danio rerio* and *Poecilia reticulata*. *Acta Veterinaria Brno*, 80, 305-308. <https://doi.org/10.2754/avb201180030305>
- FAO, (2014). Ornamental fish. Food and agriculture organization of the United Nations. Fisheries and aquaculture department. [www.fao.org/fishery/topic/13611/en](http://www.fao.org/fishery/topic/13611/en) (accessed 18 December 2014)
- Fischer, I. U., Unruh, G. E., & Dengler, H. J. (1990). The metabolism of eugenol in man. *Xenobiotica*, 20, 209-222. <https://doi.org/10.3109/00498259009047156>
- Ghosh, A., Mahapatra, B. K., & Datta, N. C. (2003). Ornamental fish farming-successful small scale aqua business in India. *Aquaculture Asia*, 8(3), 14-16.
- Grush, J., Noakes, D. L. G., & Moccia, R. D. (2004). The Efficacy of clove oil as an anesthetic for the zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton). *Zebrafish*, 1(1), 46 - 53. <https://doi.org/10.1089/154585404774101671>
- Hajek, G. J., Klyszejko, B., & Dziaman, R. (2006). The anaesthetic effect of clove oil on common carp, *Cyprinus carpio* L. *Acta Ichthyologica Piscatoria*, 36(2), 93-97.
- Hamackova, J., Sedova J. M., Pjanova S. V., & Lepicova, A. (2002). The effect 2-phenoxyethanol, clove oil and propiscin anaesthetics on perch (*Perca fluviatilis*) in relation to water temperature. *Czech Journal of Animal Science*, 46(11), 469-473.
- Han, M. C., Sağlıyan, A., & Polat, E. (2016). Akvaryum balıklarında karanfil yağının anestezi etkisinin araştırılması, *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 5(1), 12-17.
- Hekimoğlu, M. A., & Ergun, M. (2012). Evaluation of clove oil as anaesthetic agent in fresh water angelfish, *Pterophyllum scalare*. *Pakistan Journal Zoology*, 44(5), 1297-1300.
- Hikasa, Y., Takase, K., Ogasawara, T., & Ogasawara, S. (1986). Anaesthesia and recovery with tricain methansulfonate, eugenol and thiopental sodium in carp, *Cyprinus carpio*. *The Japanese Journal of Veterinary Science*, 48(2), 341-351. <https://doi.org/10.1292/jvms1939.48.341>
- Kaiser, H., Brill, G., Cahill, J., Collett, P., Czypionka, K., Green, A., Orr, K., Patrick, P., Scheepers, R., Stonier, T., Whitehead, M. A., & Yearsley, R. (2006). Testing clove oil as an anaesthetic for long-distance transport of live fish: the case of the Lake Victoria cichlid *Haplochromis obliquidens*. *Journal of Applied Ichthyology*, 22, 510-514. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2006.00786.x>

- Kamacı, H. O., Süzer, C., Çoban, D., Özdilek, G., Saka, Ş., & Fırat, K. (2009). *Levrek (D. labrax) juvenillerinde tuzluluk değişimlerinin anestezi uygulamalarına olan etkileri: Karanfil yağı örneği*. 15. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, Rize, Türkiye.
- Keene, J. L., Noakes, D. L. G., Moccia, R. D., & Soto, C. G. (1998). The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Onchorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 29, 89-101. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1998.00927.x>
- Koçak, V., & Can, E. (2019). 2-Fenoksietanol ve karanfil esansiyel yağının sarı prenses (*Labidochromis caeruleus*) ve ahli (*Sciaenochromis fryeri*) balıkları üzerine anestetik etkileri. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 12 (2), 13-21.
- Kolarova, J., Svobodova, Z., Nepechalova, L., Velisek, J., & Piackova, V. (2006). Anaesthesia of fish in Czech Republic. *Bulletin VURH Vodnany*, 42, 105-108.
- Kramer, R. E. (1985). Antioxidants in clove. *Journal of American Oil Chemist Society*, 62, 111-113. <https://doi.org/10.1007/BF02541505>
- Küçükosman, N. (2019). *Karanfil (Eugenia caryophyllata), nane (Menta piperita) ve lavanta (Lavandula angustifolia) bitkilerinden elde edilen esansiyel yağların japon balıklarında (Carassius auratus, linnaeus, 1758) anestetik etkilerinin araştırılması ve uygun dozun belirlenmesi*. [Yüksek lisans tezi, Ordu üniversitesi Fen bilimleri enstitüsü].
- Marking, L. L., & Meyer, F. P. (1985). Are better anesthetics needed in fisheries? *Fisheries*, 10(6): 2-5. [https://doi.org/10.1577/1548-8446\(1985\)010<0002:ABANIF>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8446(1985)010<0002:ABANIF>2.0.CO;2)
- Maura, A., Pino, A., & Ricci, R. (1989). Negative evidence in vivo of DNA-damaging, mutagenic and chromosomal effects of eugenol. *Mutation Research Letters*, 227(2), 125-129. [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(89\)90008-0](https://doi.org/10.1016/0165-7992(89)90008-0)
- McFarland, W. N. (1959). A study of the effects of anaesthetics on the behaviour and physiology of fishes. Publication of the Institute of Marine Science, University of Texas at Austin, 6, 23-55.
- Moliner, A., & Gonzalez, J. (1995). Comparative effects of MS 222 and 2-phenoxyethanol on gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) during confinement. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 111, 405-414. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(95\)00037-8](https://doi.org/10.1016/0300-9629(95)00037-8)
- Munday, P. L., & Wilson, S. K. (1997). Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaesthetization of *Pomacentrus amboinensis*, a coral reef fish. *Journal of Biology*, 51, 931-938. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1997.tb01532.x>
- Mylonas, C. C., Cardinaletta, 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 aurata* at different temperatures. *Aquaculture*, 246(1-4), 467-481. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.02.046>
- Otay, T., Küçükgül, A., Pala, A., & Şeker, E. (2014). Sazan balıklarının anesteziinde karanfil kullanımı. *Bilim ve Gençlik Dergisi*, 2(1), 43-50.
- Öğretmen, F., & Gökçek, K. (2013). Comparative efficacy of three anesthetic agents on juvenile African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13, 51-56. [https://doi.org/10.4194/1303-2712-v13\\_1\\_07](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v13_1_07)
- Pattanasiri, T., & Taparhudee, W. (2017). Acute toxicity and anaesthetic effect of clove oil and eugenol on Siamese fighting fish, *Betta splendens*. *Aquaculture International*, 25, 163-175. <https://doi.org/10.1007/s10499-016-0020-2>
- Perdikaris, C., Nathanailides, C., Gouva, E., Gabriel, U. U., Bitchava, K., Athanasopoulou, F., Paschou, A., & Paschos, I. (2010). Size-relative effectiveness of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and goldfish (*Carassius auratus* Linnaeus, 1758). *Acta Veterinaria Brno*, 79, 481-490. <https://doi.org/10.2754/avb201079030481>

- Prince, A., & Powell, C. (2000). Clove oil as an anesthetic for invasive field procedures on adult rainbow trout. *North American Journal of Fisheries Management*, 20, 1029-1032. [https://doi.org/10.1577/1548-8675\(2000\)020<1029:COAAAF>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8675(2000)020<1029:COAAAF>2.0.CO;2)
- Raghavan, R., Dahanukar, N., Tlustý, M. F., Rhyne, A. L., Kumar, K. K., Molur, S., & Rosser, A. M. (2013). Uncovering an obscure trade: Threatened freshwater fishes and the aquarium pet markets. *Biological Conservation*, 164, 158-169. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2013.04.019>
- Ross, L. G., & Ross, B. R. (2008). *Anesthetic and sedative techniques for aquatic animals*. Blackwell, Oxford, 218 s.
- Siddiqui, Y. M. (1996). Effect of essential oils on the enveloped viruses: antiviral activity of oregano and clove oils on herpes simplex virus type I and Newcastle disease virus. *Medical Sciences Research*, 24, 185-186.
- Simoës, L. N., Lombardi, D. C., Gomide, A. T. M., & Gomes, L. C. (2011). Efficacy of clove oil as anesthetic in handling and transportation of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Actinopterygii: Cichlidae) juveniles. *Zoologica*, 28, 285-290. <https://doi.org/10.1590/S1984-46702011000300001>
- Soto, C. G., & Burhanuddin (1995). Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). *Aquaculture*, 136, 149-152. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)01051-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)01051-3)
- Stecchini, M. L., Sarais, I., & Giavedoni, P. (1993). Effects of essential oils on *Aeromonas hydrophila* in a culture medium and in cooked pork. *Journal of Food Protection*, 56(5), 406-409. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-56.5.406>
- Stoskopf, M. (1993). Anaesthesia. In Brown, L., (Eds.), *Aquaculture for Veterinarians* (pp. 161-167), Oxford: Pergamon Press.
- Summerfelt, R. C., & Smith L. S. (1990). Anesthesia, surgery and related techniques. In C.B. Schreck & P.B. Moyle (Eds.), *Methods for Fish Biology* (pp. 213-272), American Fisheries Society, Bethesda, MD, USA.
- Şahin, A., Kankaya, E., Yılmaz, O., Türel, İ., & Öner, A. C. (2019). Anesthetic activity of clove oil (Eugenol) on the Lake Van fish (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811). *Van Veterinary Journal*, 30(3), 175-176. <https://doi.org/10.36483/vanvetj.598527>
- Taylor, S. D. (1999). Clove Oil: An alternative anaesthetic for aquaculture. *North American Journal of Aquaculture*, 61, 150-155. [https://doi.org/10.1577/1548-8454\(1999\)061<0150:COAAAF>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8454(1999)061<0150:COAAAF>2.0.CO;2)
- Tlustý, M. F., Rhyne, A. L., Kaufman, L., Hutchins, M., Reid, G. M., Andrews, C., Boyle, P., Hemdal, J., Mcgilvray, F., & Dowd, S. (2012). Opportunities for public aquariums to increase the sustainability of the aquatic animal trade. *Zoo Biology*, 32, 1-12. <https://doi.org/10.1002/zoo.21019>
- Tort, L., Puigcever, M., Crespo, S., & Padros, F. (2002). Cortisol and haematological response in eel bream and trout subjected to the anaesthetics clove oil and 2-phenoxyethanol. *Aquaculture Research*, 33, 907-910. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2002.00741.x>
- Türkmen, G., & Çelik, İ. (2014). Türkiye'de yetiştiriciliği yapılan akvaryum balık türleri konusunda ön çalışma, Ulusal Akvaryum Balıkçılığı ve Sorunları Çalıştayı, 44-51 s. 30-31 Ekim 2015, Antalya.
- Velisek, J., Svobodova, Z., & Piackova, V. (2005a). Effect of clove oil anaesthesia on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Veterinaria Brno*, 74, 139-146.
- Velisek, J., Svobodova, Z., Piackova, V., Groch, L., & Nepejchalova, L. (2005b). Effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Veterinaria Brno*, 50(6), 269-275.
-

- Waterstrat, P. R. (1999). Induction and recovery from anesthesia in channel catfish *Ictalurus punctatus* fingerlings exposed to clove oil. *Journal of the World Aquaculture Society*, 30(2), 250-255. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1999.tb00872.x>
- Weber, R. A., Peleteiro, J. B., Garcia Martin, 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>
- Woody, C. A., Nelson, J., & Ramstad., K. (2002). Clove oil as anaesthetic for adult Sockeye salmon: field trials. *Journal of Fish Biology*, 60, 340-347. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2002.tb00284.x>
- Yanar, M., Öter, H. H., & Evliyaoğlu, E. (2020). Fenoksietanol ve açlık süresinin japon balığının (*Carassius auratus*) taşınmasında stok miktarına etkisi. *KSU Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(6), 1554-1560. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.658550>
- Yoshikawa, H., Ishida, Y., Ueno, S., & Mitsuda, H. (1988). Changes in depth of anesthesia of the carp anesthetized with a constant level of CO<sub>2</sub>. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54(3), 457-462. <https://doi.org/10.2331/suisan.54.457>
-