

Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Juvenillerinin Anestezisinde Karanfil (*Eugenia caryophyllus*), Okaliptüs (*Eucalyptus citriodora*) ve Melisa (*Melisa officinalis*) Esansiyel Yağlarının Etkin Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Çiğdem Coşansel¹, Erkan Can^{2*}

¹İzmir Katip Çelebi Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, İzmir, Türkiye

²Munzur Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tunceli, Türkiye

cigdemcosansel@hotmail.com^{id}, *ecanengineer@gmail.com^{id}

Makale gönderme tarihi: 26.01.2022, Makale kabul tarihi: 26.05.2022

Öz

Su ürünleri yetiştiriciliğinde 2-fenoksietanol, MS-222 ve benzokain gibi sentetik anestetikler yaygın olarak kullanılmaktadır. Amerika ve İngiltere'de yemeklik balıklarda kullanılmasına yasal olarak izin verilen tek anestetik madde MS-222'dir. İlaç ve Gıda Örgütü (FDA) tarafından MS-222'nin balık vücudundan atılma süresi su sıcaklığına göre farklılık göstermekle birlikte ortalama 21 gün olarak belirtilmiştir. Bu da balıkların pazarlanmasında gecikme yaşanmasına neden olmaktadır. Yapılan araştırmalarda karanfil (*Eugenia caryophyllus*) esansiyel yağının (KEY) anestetik etkileri üzerine birçok çalışma gerçekleştirildiği görülmektedir. Bununla birlikte, son yıllarda okaliptüs (*Eucalyptus citriodora*) esansiyel yağı (OEY) ve melisa (*Melisa officinalis*) esansiyel yağının (MEY) anestetik etkileri hakkında birkaç çalışmanın olduğu görülmüştür. Bu çalışmada, KEY (Kontrol); 25, 37,5, 50 µl L⁻¹, OEY; 300, 350, 400 µl L⁻¹ ve MEY; 200, 300, 400 µl L⁻¹ olarak üçer farklı konsantrasyonda kullanılmış olup gökkuşığı alabalığı juvenil bireylerinde uygun anestetik konsantrasyonlar tespit edilmiştir. Karanfil esansiyel yağının 37,5 µl L⁻¹, okaliptüs esansiyel yağının 400 µl L⁻¹, melisa esansiyel yağının 400 µl L⁻¹ konsantrasyonları ile kullanımı gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) için minimum etkili konsantrasyonlar olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Anestetik madde, gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), karanfil yağı, melisa yağı, okaliptüs yağı, sürdürülebilir akuakültür

Determination of Effective Concentrations of Clove (*Eugenia caryophyllus*), Eucalyptus (*Eucalyptus citriodora*) and Melissa (*Melissa officinalis*) Essential Oils in Anesthesia of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Juveniles

Abstract

Synthetic anesthetics such as 2-phenoxyethanol, MS-222 and benzocaine are widely used in aquaculture. MS-222 is the only anesthetic agent legally permitted for use in edible fish in the United States and England. The time of expulsion of MS-222 from the fish body by the Drug and Food Organization (FDA) is 21 days however it depends on the water temperature. This causes a delay in marketing of fish. In studies conducted, it is seen that many studies have been carried out on the anesthetic effects of clove (*Eugenia caryophyllus*) essential oil (CEO). However, there have been few studies on the anesthetic effect of eucalyptus (*Eucalyptus citriodora*) essential oil (EEO) and balm (*Melisa officinalis*) essential oil (BEO) in recent studies. CEO (control) in the study; 25, 37.5, 50 µl L⁻¹, EEO; 300, 350, 400 µl L⁻¹ and BEO; 200, 300, 400 µl L⁻¹ were used in three different concentrations and appropriate anesthetic concentrations were determined in rainbow trout juvenile individuals. The minimum effective concentrations of CEO, EEO, and BEO were specified as 37.5 µl L⁻¹, 400 µl L⁻¹, and 400 µl L⁻¹, respectively, for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*).

Keywords: Anesthetic, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), clove essential oil, balm essential oil, eucalyptus essential oil, sustainable aquaculture

GİRİŞ

Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Salmonidae familyasına ait bir türdür. Alabalık türleri içerisinde yetiştiriciliği en geniş kapsamlı olanı Kuzey Amerika orijinli Gökkuşluğu alası olmuştur (Steffens 1981; Yamaner ve ark., 2022). Gökkuşluğu alabalığı ülkemizde de balık yetiştiriciliğinde en çok üretilen tatlı su balığı türü durumundadır.

Anestezi, sinirsel fonksiyonların baskılanmasına bağlı vücudun belli bir bölümünde veya tamamında his kaybı olarak tanımlanabilir. Akuakültürde 1940'ların başlangıcında kullanımı artan anestetik maddeler, bugün balık yetiştiriciliğinin hemen hemen her safhasında çok geniş ölçüde kullanım alanı bulmaktadır (Coyle ve ark., 2004; Küçük ve ark., 2016). Sedatif ve anestetik maddeler, balıkların hareket kabiliyetini azaltılması, sakinleştirme ile balıkların daha rahat muamele edilmesi, transfer gibi işlemlerin yapılması, yakalanması, incelenmesi (sağım, ölçüm vb) ve aşılama gibi çok çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır (Yanar ve Genç 2004; Çetinkaya ve Şahin 2005; Hajek ve ark. 2006; Can ve ark., 2019). MS222, 2-fenoksi etanol, benzokain ve kinaldin günümüze kadar gelen süreçte en yaygın olarak kullanılan anestetikleri oluşturmaktadır. Son yıllarda karanfil esansiyel yağı gibi (ve eugenol gibi etken maddelerinin) bitkisel kökenli değişik yağların sentetik anestetiklere nazaran iyi bir seçenek olacağı öngörülmektedir (Aydın ve Barbas, 2020.) Bu esansiyel yağların gün geçtikçe kullanımları artarken diğer taraftan da potansiyel bitkisel anestetik madde arayışları sürmektedir (Kizak ve ark., 2018; Can ve ark., 2019; Hoseini et al., 2019; Rodrigues BrandNo ve ark., 2022).

Karanfil (*Syzygium aromaticum*, *Syzygium aromaticum*, *Eugenia caryophyllata*) Mersingiller familyasındadır. Karanfil esansiyel yağı (KEY) dünya çapında gıda katkısı, antifungal ve farklı alanlarda anestetik olarak kullanılmaktadır (Wagner ve ark., 2003; Güner, 2008; Koçak ve Can, 2019). KEY'in balık anestetigi olarak kullanımı ticari ölçekte yeni olmakla birlikte, potansiyel balık anestetigi olarak kullanımının önemine ve gerekliliğine son yıllarda sürdürülebilir akuakültür çalışmalarına artan ilgi ve gereksinim paralelinde balık refahının öncelikli konular

arasına girmesi ile birlikte önemli ölçüde yönelme ve yönlendirme olmuştur (Keene ve ark., 1998; Wagner ve ark., 2003; Cho ve Heath, 2000; Kizak ve ark., 2013).

Okalıptüs (*Eucalyptus sp.*) Mersingillerin bir alt grubudur. Yaklaşık 600'e yakın türü bilinmektedir. Okalıptüs esansiyel yağının (OEY) büyük kısmı Brezilya İspanya, Fas ve Portekiz gibi ülkeler tarafından sağlanırken, ülkemizde Akdeniz ve Ege bölgesinin kıyı kesimlerinde yetiştirilebilmektedir. Okalıptüs uçucu yağının (Çalışmada kullanılan materyalin etken maddesi -ana bileşeni- 1.8 sineol olarak bildirilmiştir) Avrupa levreğinde (*Dicentrarchus labrax*) 200- 300 µl L⁻¹; sarı ağız balıklarında (*Argyrosomus regius*) 150-300 µl L⁻¹ konsantrasyonlarda anestetik etki gösterdiği bildirilmiştir (Bodur ve ark., 2018).

Melisa bitkisi nane familyasına ait olup, asıllardır tıbbi aromatik bitki olarak yüksek oranda kullanım oranına sahip olmuştur. Antioksidan, antibakteriyel ve antiviral özelliklere sahip şifalı bir bitki olarak değerlendirilmekte olup ilk çağlardan beri arıları hastalıklardan koruyup oğul çıkarmalarını sağlamak amacı ile arı kovanlarının arka kısımlarına konumlandırıldığından oğul otu olarak da bilinmektedir (URL-1).

Yapılan son çalışmalar ile; balık anesteziinde karanfil yağında olduğu gibi okalıptüs ve melisa esansiyel yağının (MEY) da sedasyon ve anestezi için etkin bir şekilde kullanılabilceği bildirilmiştir. Bununla birlikte, okalıptüs ve melisa esansiyel yağları ile ilgili çok az sayıda çalışmanın olduğu bu nedenle daha fazla çalışma yapılarak özellikle türe ve balık büyüklüğüne özgü minimum etkin konsantrasyonların belirlenmesine gereksinim bulunmaktadır. Bu çalışmada özellikle melisa ve okalıptüs esansiyel yağ için juvenil alabalıklarda en etkili konsantrasyonların tespit edilmesi hedeflenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Balık, Karanfil Yağı, Okaliptüs Yağı, Melisa Yağı ve Etanol Temini

Çalışmada kullanılacak gökkuşağı alabalığı juvenili (270 adet ortalama ağırlık $1,6 \text{ g} \pm 0,08 \text{ g}$) üretim ve yetiştiricilik yapan özel bir şirketten; KEY (ana bileşeni (etken madde) eugenol olup % 80,84), OEY (ana bileşenleri, Citronellal % 73,2; Citronellol % 7,41 ve Isopulegol % 6,56), MEY (ana bileşenleri; Geranial % 30,81, Neral % 20,26, Caryophyllene % 13,62, Nerol % 4,15, Acetade de Geranyle % 2,85, Germacrened % 1,57) adlı anestetik ürünler (Nu-ka Defne Essencia) ve etanol (95%, Sigma) denemelerde kullanılmak üzere dağıtıcı özel firmadan temin edilmiştir. Esansiyel yağların içerikleri kütle spektrometrisi ile birleştirilen gaz kromatografisiyle gerçekleştirilmiş olup veriler ürün temin edilen firmadan alınmıştır (Analiz metodu: GC-MS, Analizi yapan firma: Sarl Pyrenessences Analysis, Belcaire, Fransa, Verinin temin edildiği firma: Nu-ka Defne Essencia).

Denemelerin Kurulması ve Yönetimi

Denemede kullanılan gökkuşağı alabalığı juvenilleri doyuncaya kadar besleme yöntemi ile yemlenmiş çalışmalar öncesi 1 gün aç bırakılmıştır. Aydınlatma olarak gün ışığından faydalanılmıştır. Denemenin gerçekleştirildiği suyun parametreleri; Oksijen: $10,4 \pm 0,11 \text{ mg L}^{-1}$, sıcaklık: $12,6 \pm 0,13 \text{ }^{\circ}\text{C}$ olarak gerçekleşmiştir. Çalışma süresince strese neden olabilecek bir faktör oluşmamıştır.

Çalışmada KEY (25, 37,5 ve $50 \text{ } \mu\text{l L}^{-1}$), okaliptüs yağı ($300, 350 \text{ ve } 400 \text{ } \mu\text{l L}^{-1}$), melisa yağı ($200, 300 \text{ ve } 400 \text{ } \mu\text{l L}^{-1}$) üçer farklı konsantrasyonda kullanılmıştır. Bu konsantrasyon miktarları literatürden faydalanılarak yapılan ön çalışmalarla

belirlenmiştir. Uygulama esnasında yağların suda çözünürlüğünün artırılması için etanol ile 1/10 oranında karıştırılmıştır. Bu karışım daha sonra 1/10 oranında uygulama suyu ile karıştırılıp ve son olarak sıcaklık vb. şartları deney ortamı için uygun hale getirilmiş uygulama suyuna aktarılmıştır. Her esansiyel yağ için üç ayrı konsantrasyon uygulaması yapılmıştır. Her konsantrasyon için de üç ayrı deneme yapıp not edilerek ve bu üç denemenin ortalaması alınarak elde edilen rakam sonuç kabul edilmiştir. Her denemede 10 adet juvenil kullanılmış ve her esansiyel yağ konsantrasyonunda 30 adet alabalık juvenili kullanılmıştır. Böylece toplamda 270 adet juvenil üzerinde çalışma gerçekleştirilmiştir. Yapılacak her denemede 10 juvenilin hepsi aynı anda anestezi uygulaması için beherdeki anestetik bitkisel yağın bulunduğu suyun içerisine kepçe yardımıyla aktarılmıştır. Bu juvenillerin %80'inde anestezinin gerçekleştiği gözlemlendiği an kayıt altına alınmıştır. Aynı zamanda bu juveniller temiz suyun bulunduğu beher içerisine yine kepçe yardımıyla alınıp juvenillerin %80'inde ayılma tespit edildiği an kayıt altına alınmıştır. Uygulama esnasında beherdeki uygulama suyu hava motoru yardımıyla hafif havalandırılmıştır (Kizak et al., 2018; Bodur ve ark. 2018).

Anestetik maddeler, deneme suyuna ilave edildikten sonra balıkların indüksiyon (A3, Kısmi Denge Kaybı ve A5, Reflekslerin Kaybolması) ve iyileşme (R1, Dengenin Kısmi Olarak Kazanımı ve R3, Yüzme) safhalarının tespiti balık davranışları dikkate alınarak izlenip kronometre ile her safha saniye olarak kaydedilmiştir. Anestezi safhaları irdelenirken Tablo 1.'de belirtilen kriterler uygulanmıştır;

Tablo 1. Anestezi safhaları (Keene ve ark. 1998'e göre düzenlenmiştir)

Anestezi Safhası	Kod	Balığın Davranışı
Kısmi Denge Kaybı	A3	Kuvvetli dış uyarılara karşı tepkisizdir, düzensiz yüzme görülür, solungaç hareketleri hızlanmıştır.
Reflekslerin Kaybolması	A5	Refleksleri kaybolur, solungaç kapakları yavaş ve düzensizdir.
Dengenin Kısmi Olarak Kazanımı	R1	Solungaç hareketleri artar, kısmi denge ve yüzme kabiliyeti görülür.
Yüzme	R3	Balık normal yüzmeye başlar.

İstatistiksel Analizler

Testten önce, verilerin normalliği ve homojenliği, ANOVA varsayımlarına uyacak şekilde kontrol edilmiştir. Bitkisel yağların konsantrasyonları arasında anlamlı farklılıkların

varlığı tek yönlü ANOVA'yı izleyen Duncan testi ile analiz edilmiştir. Verilerin analiz SPSS 20.0 kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR

Karanfil Esansiyel Yağı

Tablo 2. Farklı karanfil esansiyel yağı konsantrasyonları için tespit edilen anestezi süreleri

Konsantrasyon (μL^{-1})	A3 (saniye)	A5 (saniye)	R1 (saniye)	R5 (saniye)
25	203,3 \pm 20,82 ^c	305 \pm 22,91 ^b	43,3 \pm 5,78 ^b	90,0 \pm 10,00 ^b
37,5	121,6 \pm 20,21 ^b	185,6 \pm 20,65 ^a	55,0 \pm 5,00 ^a	93,3 \pm 15,28 ^b
50	68,3 \pm 7,64 ^a	145,0 \pm 27,84 ^a	53,3 \pm 5,77 ^a	68,3 \pm 7,64 ^a

Değişik konsantrasyonlar için (Tabloda kolonlar) bulunan farklılıklar farklı harflerle gösterilmiştir.

Çalışmada A3 safhası 68,3 ile 203,3 sn aralığında belirlenmiş olup konsantrasyon arttıkça A3 aşamasının kısaldığı gözlenmiştir. Tam bayılma (A5) safhası 37,5 μL^{-1} ile 50 μL^{-1} konsantrasyonlar için farklılık göstermemiş olup 25 μL^{-1} konsantrasyonda en uzun bayılma süresi tespit edilmiştir.

R1 safhası 43,3 ile 53,3sn arasında gerçekleşmiş olup tam ayılma (R5) en kısa süre 68,3 sn olarak bulunmuştur. 25 μL^{-1} ile 37.5 μL^{-1} konsantrasyonlar için ayılma süreleri önemli farklılık göstermemiştir. Tablo 2'de farklı konsantrasyonlarla KEY ile yapılan çalışmanın induksiyon ve iyileşme değerleri görülmektedir.

Okaliptüs Esansiyel Yağı

Tablo 3. Farklı okaliptüs esansiyel yağı konsantrasyonları için tespit edilen anestezi süreleri

Konsantrasyon (μL^{-1})	A3	A5	R1	R5
300	133,3 \pm 12,58 ^c	366,6 \pm 11,55 ^c	186,6 \pm 11,55 ^c	255, \pm 15,00 ^b
350	78,3 \pm 5,68 ^b	226,6 \pm 32,14 ^b	143,3 \pm 23,09 ^b	216,6 \pm 20,82 ^{ab}
400	55,0 \pm 5,00 ^a	110,0 \pm 10,00 ^a	73,3 \pm 5,78 ^a	186,6 \pm 11,55 ^a

Değişik konsantrasyonlar için (Tabloda kolonlar) bulunan farklılıklar farklı harflerle gösterilmiştir.

Çalışmada A3 safhası 55 sn ile 133,3 sn aralığında belirlenmiş olup konsantrasyon arttıkça A3 seviyesinin kısaldığı gözlenmiştir. Tam bayılma (A5) safhası da 110 sn ile 366,6 sn aralığında belirlenmiş olup konsantrasyon arttıkça A5 seviyesinin kısaldığı gözlenmiştir.

R1 safhası 73,3 sn ile 186,6 sn arasında gerçekleşmiştir. Tam ayılma (R5) safhası 186,6

sn ile 255 sn arasında gerçekleşmiş olup en kısa tam bayılma 186,6 sn olarak bulunmuştur. Tablo 3 de farklı OEY konsantrasyonları ile yapılan çalışmanın induksiyon ve iyileşme değerleri görülmektedir.

Melisa Esansiyel Yağı

Tablo 4. Farklı melisa esansiyel yağı konsantrasyonları için tespit edilen anestezi süreleri

Konsantrasyon (μL^{-1})	A3	A5	R1	R5
200	270,0 \pm 30,00 ^b	506,6 \pm 86,21 ^b	236,6 \pm 15,28 ^b	371,6 \pm 10,40 ^b
300	203,3 \pm 68,06 ^b	221,6 \pm 10,41 ^a	206,6 \pm 20,82 ^b	315,0 \pm 15,00 ^b
400	110,0 \pm 10,00 ^a	198,3 \pm 71,12 ^a	130,0 \pm 10,00 ^a	251,6 \pm 10,41 ^a

Değişik konsantrasyonlar için (Tabloda kolonlar) bulunan farklılıklar farklı harflerle gösterilmiştir.

Çalışmada A3 safhası 110 sn ile 270 sn aralığında belirlenmiş olup konsantrasyon arttıkça A3 seviyesinin kıaldığı gözlenmiştir. Tam bayılma (A5) safhası 300 μL^{-1} ile 400 μL^{-1} konsantrasyonlar için önemli farklılık göstermemiş olup en uzun bayılma 200 μL^{-1} konsantrasyonda en kısa bayılma 400 μL^{-1} konsantrasyonda tespit edilmiştir.

R1 safhası 130 sn ile 236,6 sn aralığında gerçekleşmiş olup tam ayılma (R5) en kısa süre 251,6 sn olarak bulunmuştur. Farklı MEY konsantrasyonları ile yapılan çalışmanın indüksiyon ve iyileşme değerleri Tablo 4'te verilmiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Balıklarda yapılan anestezi uygulamalarında ideal bayılma süresinin yaklaşık olarak 3 dk'dan (180 sn) daha az sürmesi, aynı zamanda 5 dk (300 sn) içerisinde de iyileşmenin görülmesi beklenmektedir (Marking ve Meyer, 1985). Metin ve ark. (2015) tarafından yapılan bir anestezi çalışmasında bazı tıbbi aromatik bitkilerin *Oncorhynchus mykiss* üzerindeki anesteziye giriş ile anestezi sonrası uyanma süreleri çalışılmış, anesteziye giriş sürelerinin karanfil uçucu yağında 0,5 ile 3 dakika arasında değiştiği saptanmıştır. Anesteziden çıkış süreleri ise karanfil esansiyel yağında 3 ile 30 dakika olarak tespit edilmiştir.

Anestetik madde olarak KEY son yıllarda yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır ve özellikle düşük sıcaklıklarda MS-222 ve benzokoin nazaran daha etkili olduğu (Stehly ve Gingerich, 1999) tespit edilmiştir. Balık etinden uzaklaşma sürecinin de kısa sürdüğü belirtilmiştir (Stehly ve Gingerich, 1999; Velisek ve ark., 2005). Sazan (*C. carpio*) üzerinde yapılan bir anestezi uygulamasında, 40 μL^{-1} konsantrasyonda KEY kullanarak etkili ve

güvenli bir biçimde indüksiyon elde ettikleri; indüksiyon sürecinin 3 dakikadan daha az bir sürede gerçekleştiğini; ayılmanın ise konsantrasyona bağlı olmadan 4 dakikada şekillendiği belirtilmiştir (Hajek ve ark., 2006). KEY diğer anestetiklere oranla (Melisa ve okaliptus) indüksiyon süresi kısa iyileşme süresi ise uzun bulunmuştur. Keene ve ark., (1998)' e göre bunun en büyük sebebi, solunum hızının düşüşü sonucu vücuttan atılmasının uzun sürmesi ve yüksek lipit çözünürlüğü olarak belirtilmiştir (Kanyılmaz ve ark., 2007).

Yapılan bu çalışmada anestezi uygulamalarında KEY denemelerinde indüksiyon süresi genellikle karanfil yağının artan konsantrasyonları ile önemli ölçüde azalmıştır. İyileşme süresi ise artan KEY konsantrasyonu ile farklılıklar göstermiştir. İndüksiyonun ilk safhası (A3) ile ikinci safhası (A5) 25 μL^{-1} konsantrasyonlarında ve indüksiyonun ikinci safhası (A5) 37,5 μL^{-1} konsantrasyonunda istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. 3 dakika içinde bayılma şartını (Marking ve Meyer, 1985) sağlayan konsantrasyonun 50 μL^{-1} olduğu tespit edilmiş olmasına rağmen maliyet etkinliği açısından 37,5 μL^{-1} üzeri konsantrasyonlarda anestezi çalışmaları yürütülebilir (Tablo 5).

Yapılan bazı anestezi uygulamaları ile karşılaştırıldığında; karanfil esansiyel yağının (30-33 μL^{-1}) gökkuşağı alabalığında (Anderson ve ark. 1997; Svoboda ve Kolarova 1999) ve levreklerde (*Dicentrarchus labrax*) (25 μL^{-1}) (Mylonas ve ark. 2005) belirlenen konsantrasyonları bizim çalışmamızdan daha düşük bulunmuştur. Bu fark kullanılan esansiyel yağının içerik özellikleri ve balık türünün aynı olmaması ile ilişkili olabileceği gibi sıcaklık ve tuzluluk gibi su parametrelerinden de kaynaklanabilmektedir (Can ve ark., 2018; 2019). Bununla birlikte karaca mersin

Research article/Araştırma makalesi
 DOI:10.29132/ijpas.1062760

balıklarında (*Acipenser gueldenstaedtii*) 0.22-0.90 gr L⁻¹ (Akbulut ve ark. 2011) konsantrasyonlarla yapılan çalışmada 0.22 gr L⁻¹ konsantrasyonunda etkili olduğu bildirilmiş olup bizim çalışmamızdaki bulgular ile nispeten benzerlik göstermiştir.

OEY denemelerinde; indüksiyon süresi genellikle okaliptüs yağının artan konsantrasyonları ile önemli ölçüde azalmıştır. İyileşme süresi ise artan okaliptüs yağı konsantrasyonu ile ters orantılı olarak önemli derecede azalmıştır. İndüksiyonun ikinci safhası (A5) 300 µl L⁻¹ ile 350 µl L⁻¹ konsantrasyonlarında istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. En ideal konsantrasyonun 400 µl L⁻¹ olduğu tespit edilmiştir. Önceki çalışmalar ile bizim çalışmamızın detaylı karşılaştırılması Tablo 6'da verilmiştir.

MEY denemelerinde de indüksiyon süresi melisa yağının artan konsantrasyon miktarı ile önemli ölçüde azalmıştır. İyileşme süresi ise artan melisa yağı konsantrasyonu ile ters orantılı olarak önemli derecede azalmıştır. İndüksiyonun

ikinci safhası (A5) bütün konsantrasyonlarda istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. İndüksiyonun ilk safhası (A3) ile iyileşmenin ikinci safhası (R5) 200 µl L⁻¹ ile 300 µl L⁻¹ konsantrasyonlarında istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. En ideal konsantrasyon 400 µl L⁻¹ olarak tespit edilmiştir (Tablo 7).

Bu çalışmada KEY, OEY ve MEY balıklara uygulandıktan sonra, ayılma işlemi sonucunda anestetik maddenin herhangi bir yan etki göstermediği ve anestezi uygulama sonrasında balıkların önceki durumlarına döndükleri gözlemlenmiştir. Balık anestezisi ile ilgili çalışmalarda anestezi safhalarının birbirinden kesin olarak ayrımı güç olmaktadır. Bu durum ise, çeşitli araştırmacıların değerlendirmeleri arasında karışıklıklara yol açmaktadır. Çalışmada anestezi safhaları irdelenirken, Keene ve ark., 1998'e göre (Tablo 1) verilen kriterlere göre incelenmiştir. Anestetik konsantrasyonlarının etkinliği balık türlerine göre farklılık gösterebilmektedir.

Tablo 5. Karanfil esansiyel yağının akuakültürde kullanılan türlere göre kullanım konsantrasyonları ve bu çalışma ile karşılaştırılması

Balık türü	Balık ağırlığı(gr)	Konsantrasyon aralığı (µl L ⁻¹)	Minimum etkili konsantrasyon	Ana bileşenleri	Kaynak
Clown anemonefish (<i>Amphiprion ocellaris</i>)	0,48±0.21	5-35	27	Öjenol (85,0%), beta caryophyllene (13,0%)	Pedrazzani ve Neto (2016)
Çipura (<i>Sparus aurata</i>)	41,9 ± 2,6	30 -55	30	Öjenol 85%, d = 1,0568 g l L ⁻¹	Mylonas ve ark. (2005)
Levrek (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	32,5 ± 1,2	30-55	30	Öjenol 85%, d = 1,0568 g L ⁻¹	Mylonas ve ark. (2005)
Gökkuşluğu alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	20,46± 0,73	40-60	40	-	Keene ve ark. (1998)
Kara levrek (<i>Centropristis triata</i>)	760± 81,7	10-20	15	-	King ve ark. (2005)
Kahverengi alabalık (<i>Salmo trutta fario</i>)	1858 ± 99	20-40	30	Öjenol >85%, d=1.04 g L ⁻¹ 25 °C (lit.)	Kızak ve ark. (2013)

Gökkuşığı alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	1,6 ± 0,08	25-50	50	Öjenol % 80,84	<i>Bu çalışma</i>
---	------------	-------	----	----------------	-------------------

Tablo 6. Okaliptüs esansiyel yağının akuakültürde kullanılan türlere göre kullanım konsantrasyonları ve bu çalışma ile karşılaştırılması

Balık türü	Balık ağırlığı(gr)	Konsantrasyon aralığı (µl L ⁻¹)	Minimum etkili konsantrasyon (MEK, µl L ⁻¹)	Ana bileşenleri	Kaynak
Levrek (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	90,91± 2,46	200-300	300	1,8-Cineole % 80,84, γ-Terpinene % 3,65	Bodur ve ark. (2018)
Sarı ağız (<i>Argyrosomus regius</i>)	127,43± 3,07	150-300	300	1,8-Cineole % 80,84, % 3,65 γ-Terpinene	Bodur ve ark. (2018)
Gökkuşığı alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	1,6 ± 0,08	300-400	400	Citronellal %73,2 Citronellol %7,41 ve Isopulegol % 6,56	<i>Bu çalışma</i>

Tablo 7. Melisa esansiyel yağının akuakültürde kullanılan türlere göre kullanım konsantrasyonları

Balık türü	Balık ağırlığı (gr)	Konsantrasyon aralığı (µl L ⁻¹)	Minimum etkili konsantrasyon (MEK, µl L ⁻¹)	Ana bileşenleri	Kaynak
Gökkuşığı alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	250,24 ± 4,88	25	25	-	Gülhan (2018)
Sazan (<i>Cyprinus carpio</i>)	6,04 ± 1,13	550- 650	650	-	Resen ve ark. (2020)
Gökkuşığı alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	1,6 ± 0,08	200-400	400	Geranial % 30,81, Neral % 20,26, Caryophyllene % 13,62, Nerol % 4,15	<i>Bu çalışma</i>

ÖNERİLER

Sonuç olarak gökkuşığı alabalığında karanfil yağı, okaliptüs yağı ve melisa ile yapılan bu çalışmada anestetik madde olarak kullanımlarının herhangi bir yan etkiye sebep olmadan güvenli, etkili olarak kullanılabilmesi görülmüştür. Kültür balıkçılığı sektöründe; canlı balık nakli, boylama, sayma, aşılama vb. operasyonların yanında her türlü bilimsel araştırma için balıkların morfolojik karakterlerin belirlenmesi vb. hareketlerinin zayıflatılması veya tamamen durdurulması gereken durumlarda tüm uygulamalarda kullanımı önerilebilir. Bunun yanında, farklı balık türlerinde kullanılabilecek en uygun

konsantrasyon miktarları yeni yapılacak çalışmalarla saptanabilir. Bulunabilirlik ve fiyat anestetiklerin kullanımını belirleyen en kritik etmenlerdendir. Bu nedenle kullanıcılar hangi maddeyi daha uygun maliyet ile temin edebilirler ise onu kullanabilirler. Bu nedenle son yıllarda kullanılabilirliği belirlenmiş olan (bu çalışmada kullanılanlar dahil) tüm bitkisel ve sentetik anestetiklerin daha detaylı araştırmalar yapılarak güvenilirliklerinin belirlenmesine ihtiyaç bulunmaktadır.

Gelecekteki anestezi çalışmalarında, histolojik testler, kan parametreleri, genotoksik etki-DNA hasarı gibi analizlere odaklanmalı ve anestezi uygulamalarında en uygun anestetik maddelerin belirlenmesine odaklanmalıdır.

Research article/Araştırma makalesi
 DOI:10.29132/ijpas.1062760

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar çalışma ile ilgili çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

ARAŞTIRMA VE YAYIN ETİĞİ BEYANI

Yazarlar bu çalışmanın araştırma ve yayın etiğine uygun olduğunu beyan eder.

KAYNAKLAR

- Akbulut, B. Çavdar, Y. Çakmak, E. Aksungur and N. (2011). Use of clove oil to anaesthetize larvae of Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*). Journal of Applied Ichthyology, 27(2), 618-621.
- Anderson, W.G. McKinley, R.S. and Colavecchia, M. (1997). The use of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. North American Journal of Fish Management, 17(2), 301-307.
- Aydın, B. and Barbas, L. A. L. (2020). Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review. Aquaculture, 520, 734999.
- Bodur, T. Afonso, J. M. Montero, D. and Navarro, A. (2018). Assessment of effective dose of new herbal anesthetics in two marine aquaculture species: *Dicentrarchus labrax* and *Argyrosomus regius*. Aquaculture, 482.
- Can, E. Kızak, V. Seyhaneyıldız Can, Ş. and Özçiçek, E. (2018). Anesthetic potential of geranium (*Pelargonium graveolens*) oil for two cichlid species: *Sciaenochromis fryeri* and *Labidochromis caeruleus*. Aquaculture 491, 59-64.
- Can, E. Kızak V. Can, Ş.S. and Özçiçek, E. (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.
- Cho, G.K. and Heath, D.D. (2000). Comparison of Tricain Methanesulphate (MS-222) and Clove Oil Anaesthesia Effects on the Physiology of Juvenile Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) (Walbaum). Aquaculture Research, 31, 537-546.
- Coyle, S. D., Durborow, R. M. and Tidwell, J. H. (2004). *Anesthetics in aquaculture* (Vol. 3900). Texas: Southern Regional Aquaculture Center.
- Çetinkaya, O. and Şahin, A. (2005). Balıklarda anestezi uygulamaları ve başlıca anestetikler. Editör: Karataş M. editör. Balık biyolojisinde araştırma yöntemleri. Ankara. Nobel Yayınları. 237-273 s.
- FDA, (2002). *Guidance for Industry*. Status of Clove oil and Eugenol for Anaesthesia of Fish. FDA Center for Veterinary Medicine, June. 11.
- Gülhan, M. F. (2018). Bazı sedatif ve anestetik aromatik bitki yağlarının gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*. L.) kan parametreleri üzerine etkileri. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 20 (1), 471-482.
- Güner, Y. (2008). Balıkları Bayıltmada Organik Bir Ürün: Karanfil. Ekoloji Dergisi, 19. sayı.
- Hajek, G.J. Klyszejko and, B. Dziaman, R. (2006). The anaesthetic effect of clove oil on common carp. *Cyprinus carpio*. Acta Ihtiologica Piscatori, 36(2), 93-97.
- Hoseini, S. M., Taheri Mirghaed, A. and Yousefi, M. (2019). Application of herbal anaesthetics in aquaculture. Reviews in Aquaculture, 11(3), 550-564.
- Kanyılmaz, M. Sevgili, H. Erçen Z. and Yılayaz, A. (2007). Karanfil Yağının Balık Anestetiği Olarak Kullanımı. Türk Sucul Yaşam Dergisi. 5-8, 671-680.
- Keene, J. L. Noakes, D.L.G. Moccia, R.D. and Soto, C.G. (1998). The Efficacy of Clove Oil as an Anaesthetic for Rainbow Trout. (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*). Aquaculture Research, 29, 89-101.
- King, W., Hooper V.B., Hillsgrove, S., Benton, C. and Berlinsky, D.I. (2005). The use of clove oil, metomidate, tricainemethane sulphonate and 2-phenoxyethanol for inducing anaesthesia and their effect on the cortisol stress response in black sea bass (*Centropristis striata*). Aquaculture Research. 36, 1442-1449.
- Kızak, V. Guner, Y. Kayim, M. and Can, E. (2013). The effects of clove oil on adult males and females of rainbow trouts (*Oncorhynchus mykiss*) and brown trouts (*Salmo trutta fario*). International Journal of Agriculture, Environment and Food Sciences, 11, 1542-1545.
- Kızak, V. Can, E. Danabaş, D. and Can, Ş. S. (2018). Evaluation of anesthetic potential of rosewood (*Aniba rosaeodora*) oil as a new anesthetic agent for goldfish (*Carassius auratus*). Aquaculture, 493, 296-301.
- Küçük, S., Öztürk, S. and Çoban, D. (2016). Su ürünlerinde kullanılan anestetikler. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 13(2), 79-85.
- Koçak, V. and Can, E. (2019). 2-Fenoksietanol ve Karanfil Esansiyel Yağının Sarı Prens (*Labidochromis caeruleus*) ve Ahli (*Sciaenochromis fryeri*) Balıkları Üzerine Anestetik Etkileri. Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi, 12(2), 13-21.

Research article/Araştırma makalesi
DOI:10.29132/ijpas.1062760

- Marking, L.L. and Meyer, F.P. (1985). Are better anaesthetic needed in fisheries. Fisheries. 10:25.
- Metin, S. Didinen, B.I. Kubilay, A. Pala, M. and Aker, I. (2015). Bazı tıbbi bitkilerin gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*, 1972) üzerinde anestezi etkilerinin belirlenmesi. Journal of Limnology and Fresh water Fisheries Research, 1(1), 37-42.
- Mylonas, CC. Cardinaletti, G. Sigelaki, I. and Polzonetti-Magni, A. (2005). Comperative efficacy of clove oil and 2- phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gillhead sea bream (*Sparus auratus*) at different temperature. Aquaculture. 246, 467-481. Journal of Aquaculture, 2005.02.046.
- Pedrazzani, A.S. and Neto, A.O. (2016). The anaesthetic effect of camphor (*Cinnamomumcamphora*), clove (*Syzygium aromaticum*) and mint (*Mentha arvensis*) essential oils on clown anemonefish. *Amphiprion ocellaris* (Cuvier 1830). Aquaculture Research. 47, 769–776.
- Resen, A. K. and Al-Niaem. K. S. and Al-Hasson, A.H. (2020). Assessment of lemon balm (*Melissa officinalis*) on common carp. *Cyprinus carpio*: Anesthesia. Life Science Archives, 6(1), 1749-1754.
- Steffens, W. (1981). *Moderne Fish wirtschaft*. Verlag J. Neumann-Neudamm. 375 s. Melsungen Berlin. Basel Wien.
- Stehly, GR. and Gingerich, WH. (1999). Evalutain of AQUI-STM (efficacy and minimum toxicconcentration) as a fish anaesthetic/sedative for public aquaculture in the United States. *Aquaculture Research*, 30 (5), 365-372.
- Svoboda, M. and Kolarova, J. (1999). A survey of anaesthetics used in the fish farming (in Czech). In Health protection of fish-proceeding of papers. Czech Republic. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology Vodnany. 49-72.
- URL-1. 2022. <https://www.memorial.com.tr/saglik-rehberi/melisa-cayinin-faydalari-nelerdir>, 13.05.2022
- Velisek, J. Svobodova and Z. Piackova, V. (2005). Effects of Clove Oil Anaesthesia on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Veterinaria Brno*. 2005, 74, 139-146.
- Wagner, G.N. Singer, T.D. and McKinley, S.R. (2003). The Ability of Clove Oil and MS-222 to Minimize Handling Stress in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*). *Aquaculture Research*, 34, 1139-1146.
- Yamaner, G., Tosun, D.D., Tinki, M. and, Tunc, G. (2022). Effect of duo-culture on the first feeding transition success and growth performance for black sea trout (*Salmo trutta labrax, pallas, 1811*) with rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss, walbaum, 1792*). *Sustainable Aquatic Research*, 1(1), 44-50.
- Yanar, M. and Genç, E. 2004. Anaesthetic effects of quinaldinesulphate together with theuse of diazepam on *Oreochromis niloticus* L. 1758 (*Cichlidae*) at different temperatures. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28(6), 1001-1005.