

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**POTANSİYEL ANESTETİK AJAN OLARAK KAKULE
(*ELETTARIA CARDOMUM*) VE ZENCEFİL (*ZİNGİBER OFFICINALE*)
ESANSİYEL YAĞLARININ LEPİSTES (*POECILIA RETICULATA*) TÜRÜNDE
ANESTEZİK ETKİLERİ**

Mesut DİNCAL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Volkan KIZAK**

TUNCELİ – 2021

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**POTANSİYEL ANESTETİK AJAN OLARAK KAKULE
(*ELETTARIA CARDOMUM*) VE ZENCEFİL (*ZİNGİBER OFFİCİNALE*)
ESANSİYEL YAĞLARININ LEPİSTES (*POECİLİA RETİCULATA*) TÜRÜNDE
ANESTEZİK ETKİLERİ**

Mesut DİNCAL
(182106102)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Volkan KIZAK

TUNCELİ – 2021

...../...../2021

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

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

İmza
Mesut DİNCAL

Danışman
Prof.Dr. Volkan KIZAK

TEŞEKKÜRLER

Yüksek lisans öğrenimin boyunca beni yönlendiren, bilgilendiren, her türlü desteğini gördüğüm ve tecrübelerinden istifade ettiğim tez danışmanım Prof. Dr. Volkan KIZAK'a, tez çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Erkan CAN'a teşekkür ederim.

Mesut DİNCAL
TUNCELİ – 2021



İÇİNDEKİLER

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	I
TEŞEKKÜRLER.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ŞEKİLLER LİSTESİ	IV
TABLolar LİSTESİ	V
RESİMLER LİSTESİ	VI
SEMBOLLER LİSTESİ	VII
KISALTMALAR LİSTESİ	VIII
ÖZET	IX
ABSTRACT	X
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Lepistes (<i>Poecilia reticulata</i>) Balıklarının Genel Özellikleri ve Biyolojisi	3
1.1.1. Lepistes balığının (<i>P. reticulata</i>) morfolojisi	4
1.1.2. Lepistes balığının (<i>P. reticulata</i>) ekolojik özellikleri ve beslenmesi	5
1.1.3. Lepistes balığının (<i>P. reticulata</i>) üremesi	5
1.2. Anestezi	6
1.2.1. Balıklarda anestezi safhaları	6
1.2.2. İdeal bir anestezikte aranacak özellikler ve anestezik seçimi.....	7
1.2.3. Anestezide kullanılan anestezik ilaçlar	8
1.2.3.1. 2- Fenoksietanol (2-PE).....	8
1.2.4. Anestezide kullanılan doğal anestezikler	9
1.2.4.1. Kakule (<i>Elettaria cardamomum</i>)	11
1.2.4.2. Zencefil (<i>Zingiber officinale</i>)	12
2. MATERYAL ve YÖNTEM	13
2.1. Materyal.....	13
2.1.1. Deneme yeri ve akvaryumları.....	13
2.1.2. Balık türü ve su kalitesi	14
2.1.3. Anestetik maddeler	14
2.1.4. Kullanılan araç ve gereçler	16
2.1.4.1. Hassas terazi	16
2.1.4.2. Hava motoru ve termometre	16
2.1.4.3. Yem	17
2.1.4.4. Akvaryum	17
2.2. Yöntem	17
2.2.1. Anestetik maddelerin hazırlanması	17
2.2.2. Deneme dizaynı	18
2.2.3. İstatistiksel analizler	20
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	21
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	34
5.KAYNAKLAR.....	35

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1.	Farklı konsantrasyonlardaki EcEO ile anestezi edilen <i>P. reticulata</i> türünde anestezi A_I safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği	23
Şekil 3.2.	Farklı konsantrasyonlardaki EcEO ile anestezi edilen <i>P. reticulata</i> türünde anestezi A_D safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği	23
Şekil 3.3.	Farklı konsantrasyonlardaki EcEO ile anestezi edilen <i>P. reticulata</i> türünde anestezi R_I safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği	24
Şekil 3.4.	Farklı konsantrasyonlardaki EcEO ile anestezi edilen <i>P. reticulata</i> türünde anestezi R_F safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği	24
Şekil 3.5.	Farklı konsantrasyonlardaki ZoEO ile anestezi edilen <i>P. reticulata</i> türünde anestezi A_I safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği	25
Şekil 3.6.	Farklı konsantrasyonlardaki ZoEO ile anestezi edilen <i>P. reticulata</i> türünde anestezi A_D safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği	25
Şekil 3.7.	Farklı konsantrasyonlardaki ZoEO ile anestezi edilen <i>P. reticulata</i> türünde anestezi R_I safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği	26
Şekil 3.8.	Farklı konsantrasyonlardaki ZoEO ile anestezi edilen <i>P. reticulata</i> türünde anestezi R_F safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği	26
Şekil 3.9.	Farklı konsantrasyonlardaki 2-PE ile anestezi edilen <i>P. reticulata</i> türünde anestezi A_I safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği	27
Şekil 3.10.	Farklı konsantrasyonlardaki 2-PE ile anestezi edilen <i>P. reticulata</i> türünde anestezi A_D safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği	27
Şekil 3.11.	Farklı konsantrasyonlardaki 2-PE ile anestezi edilen <i>P. reticulata</i> türünde anestezi R_I safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği	28
Şekil 3.12.	Farklı konsantrasyonlardaki 2-PE ile anestezi edilen <i>P. reticulata</i> türünde anestezi R_F safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği	28
Şekil 3.13.	Farklı konsantrasyonlardaki EcEO ile anestezi edilen <i>P. reticulata</i> türünde derin anestezi (A_D) ve tam iyileşme (R_F) zamanları arasındaki korelasyon-regresyon ilişkisi	29
Şekil 3.14.	Farklı konsantrasyonlardaki ZoEO ile anestezi edilen <i>P. reticulata</i> türünde derin anestezi (A_D) ve tam iyileşme (R_F) zamanları arasındaki korelasyon-regresyon ilişkisi	29
Şekil 3.15.	Farklı konsantrasyonlardaki 2-PE ile anestezi edilen <i>P. reticulata</i> türünde derin anestezi (A_D) ve tam iyileşme (R_F) zamanları arasındaki korelasyon-regresyon ilişkisi	30

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. Balıkta anestezi safhaları	7
Tablo 1.2. Farklı balık türleri üzerinde anestezi denemeleri yapılmış bitkisel esansiyel yağlar ve konsantrasyonları.....	10
Tablo 2.1. Kakule (<i>Elettaria cardamomum</i>) ve Zencefil (<i>Zingiber officinale</i>) esansiyel yağlarının (EcEO ve ZoEO) ana bileşenleri ve fiziksel karakteristikleri.....	15
Tablo 2.2. Anestezi safhaları ve balığın gösterdiği davranış özellikleri	19
Tablo 3.1. <i>P.reticulata</i> tütünde farklı konsantrasyonlardaki EcEO, ZoEO ve 2-PE'e ait...	22



RESİMLER LİSTESİ

Resim 1.1. Lepistes Erkek Balığı.....	4
Resim 1.2. Kakule bitkisi.....	11
Resim 1.3. Zencefil bitkisi.....	12
Resim 2.1. Deneme akvaryumu	13
Resim 2.2. Deneyde kullanılan anestezi yağlar	14
Resim 2.3. Hassas terazi	16
Resim 2.4. Hava motoru	16
Resim 2.5. Akvaryum	17
Resim 2.6. EcEO uygulanan balıklar	19
Resim 2.7. ZoEO uygulanan balıklar.....	19



SEMBOLLER LİSTESİ

A	: Bayılma aşaması
FDA	: Dünya Gıda ve İlaç Örgütü
I	: Anesteziye giriş aşaması
MS-222	: Tricaine methanesulfonate
p	: Güven aralığı
R	: Anesteziden çıkış aşaması
r	: Eğim çizgisi güvenilirlik kat sayısı
R²	: Eğim çizgisi güvenilirlik kat sayısı
°C	: Santigrat derece
%	: Yüzde
±	: Artı eksi



KISALTMALAR LİSTESİ

Cm	: Santimetre
dk	: Dakika
gr	: Gram
l	: Litre
m	: Metre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
ort	: Ortalama
pH	: Asitlik bazlık derecesi
ppm	: Milyonda bir (Parts per million)
sh	: Standart hata
sn	: Saniye
sp.	: Tür (Species)
spp.	: Alt tür (Subspecies)
vb	: Ve benzeri
µl	: Mikrolitre

ÖZET

Son yıllarda bitkisel esansiyel yağlar, balıklarda kullanılan kimyasal özellikteki anestetik ajanlara alternatif doğal anestetik maddeler olarak karşımıza çıkmaktadır. Birçok farklı bitkisel esansiyel yağın çeşitli balık türlerinde anestezi etkisi üzerine çalışmalar devam etmektedir. Bu çalışmada dünyada akvaryum balıkları arasında en yaygın ve en popüler türlerden biri olan Lepistes balığı (*Poecilia reticulata*) üzerinde; analjezik etkideki kakule (*Elettaria cardamomum*) ve zencefil (*Zingiber officinale*) esansiyel yağları farklı konsantrasyonlarda denenmiştir. Kontrol grubu olarak 2-fenoksietanol (2-PE) uygulanmıştır. Çalışmada kakule esansiyel yağı (EcEO) ve zencefil esansiyel yağı (ZoEO) 800,1000, 1200, 1400, 1600 µl/lt olarak, 2-PE ise 600, 700, 800, 900, 1000 µl/lt olarak farklı konsantrasyonlarda anestezi etkileri incelenmiştir. EcEO için en etkili konsantrasyon 1600 µl/lt (A_D ; $R_F \rightarrow 745 \pm 14,3$ sn ; $512 \pm 10,3$ sn), ZoEO için 1600 µl/lt (A_D ; $R_F \rightarrow 360 \pm 3,4$ sn ; $450 \pm 7,2$ sn) ve 2-PE için 1000 µl/lt (A_D ; $R_F \rightarrow 94 \pm 1,4$ sn ; $196 \pm 1,3$ sn) olarak belirlenmiştir ($p < 0,05$). Elde edilen bulgular, EcEO ve ZoEO'nun kısmen etkili anestetik maddeler olduğunu gösterse de, her iki bitkisel esansiyel yağın ideal anestetik madde kriterlerini sağlamaktan uzak olduğu tespit edilmiştir. Uygulayanlarda koku ve gözlem açısından zorluklar içermeleri yanında anestezi ve iyileşme süreleri bakımından istenen sürelerin oldukça dışında oldukları görülmüştür. Bununla birlikte, özellikle EcEO ile balık transferi çalışmalarının yapılabilmesi ve bu yönde fizyolojik stres çalışmalarına ihtiyaç olduğu ön görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Anestezi, lepistes (*Poecilia reticulata*), kakule (*Elettaria cardamomum*), zencefil (*Zingiber officinale*) , 2-fenoksietanol

ABSTRACT

Anesthetic efficacies of green cardamom (*Elettaria cardamomum*) and ginger root (*Zingiber officinale*) essential oils as potential anesthetic agents in the guppy (*Poecilia reticulata*)

In recent years, herbal essential oils have emerged as natural anesthetics as an alternative to chemical anesthetic agents applied in fish. Studies on the anesthetic effect of many different essential oils in various fish species are in progress. In this study, cardamom (*Elettaria cardamomum*) and ginger (*Zingiber officinale*) essential oils having analgesic effect were tested at different concentrations on guppy fish (*Poecilia reticulata*) which is one of the most common and popular aquarium fish species in the world. 2-phenoxyethanol (2-PE) was applied as control group. In the study, at different concentration levels, the anesthetic effects of cardamom essential oil (EcEO), ginger essential oil (ZoEO) were investigated at the level of 800, 1000, 1200, 1400, 1600 µl/l and 2-PE was investigated at the levels of 600, 700, 800, 900, 1000 µl/l. The most effective level of concentration is determined as 1600 µl/l (AD ; RF→745 ± 14.3 sec ; 512 ± 10.3 sec) for EcEO, as 1600 µl/l (AD ; RF→360 ± 3.4 sec ; 450 ± 7,2 sec) for ZoEO and as 1000 µl/l (AD ; RF→94 ± 1.4 sec ; 196 ± 1.3 sec) for 2-PE (p<0.05). Although the findings show that EcEO and ZoEO are partially effective anesthetics, it has been determined that both essential oils are far from meeting up with the ideal criteria of anesthetic substance. It has been observed that the practitioners had difficulties in terms of smell and observation, and they didn't meet up with desired time period in terms of anesthesia and recovery. In addition, it is anticipated that studies of fish transfer can be carried out particularly with EcEO and in this regard, it's suggested that studies of physiological stress are needed.

Keywords: Anesthesia, guppy (*Poecilia reticulata*), cardamom (*Elettaria cardamomum*), ginger (*Zingiber officinale*), 2-phenoxyethanol.

1. GİRİŞ

Balıklarda anestezi; yumurta veya sperm sağımı, üremeyi uyarma amaçlı hormonal enjeksiyon, morfometrik ölçüm, markalama, boylama, aşılama ve taşıma gibi su ürünleri sektöründe ve bilimsel araştırmalarda operasyonel faaliyetlerde uygulanmaktadır. Bu gibi faaliyetlerin rahat yapılabilmesi için balığın sakinleştirilmesi veya bayıltılması gerekmektedir (Fernández-Parra ve ark., 2017). İdeal bir anestetik madde, balık üzerine yapılan bütün müdahalelerden kaynaklı stres oluşumunu asgari düzeyde tutabilmeli, optimal konsantrasyonlarda hızlı anestezi (bayılma) ve hızlı ayılma (iyileşme) sağlamalı, kullanımı pratik ve zararsız olmalıdır. Bunun yanında, maliyeti düşük, kolay bulunabilir bir anestetik madde olmalıdır (Kızak ve ark., 2013).

Anestezi, vücudun tamamında ya da bir kısmında duyarlılık kaybına neden olan, sinirsel fonksiyonların farmakolojik olarak baskılanması işlemidir. Anestetik maddeler; kardiyovasküler, kas gevşemesi, somatik ve hormonal hareketlerin baskılanması gibi bir takım etkiler meydana getirirler (Kanyılmaz ve ark., 2007). Anestezi işlemi, normal beyin işlevlerini yapay olarak bozarak duyuşal uyarılara karşı tepkisiz bilinç kaybı meydana getirmesidir (Zahl ve ark., 2009). Bu uygulama sonucu, balıklar üzerinde üretim ve araştırma ile ilgili bütün operasyonel faaliyetler balıklara zarar vermeksizin yapılabilir. Anestezik maddeler, strese bağılı balık hasarını azaltabilir ve ayrıca strese fizyolojik tepkiyi azaltabilir (Weber ve ark., 2009; Pawar ve ark., 2011). Kullanımın balık üzerindeki olumsuz etkisini en aza indirmek için, anestezi ideal bir seçenektir ve bu noktada stresin olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için gerçekleştirilir (Kızak ve ark., 2018).

Doğal olan ve olmayan birçok anestetik madde balıklarda anestezi amacıyla kullanılmaktadır. Akuakültür uygulamalarında MS-222, fenoksietanol (2-PE) ve benzokain gibi doğal olmayan kimyasal özellikte anestetik maddeler yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Doğal olan bitkisel anestetik maddeler içerisinde yer alan karanfil yağı ise son yıllarda akuakültür alanında kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır (Kızak ve ark., 2018). İnsanlık tarihi boyunca bitkisel esansiyel yağlar sağlık, kozmetik, gıda ve tarım uygulamalarında yoğun olarak kullanılmagelmiştir. Son yıllarda dünya çapında birbirinden farklı bitkisel esansiyel yağların su ürünlerinde anestetik madde olarak etkinliğinin araştırıldığı görölmektedir (Cunha ve ark., 2010; Silva ve ark., 2013; Roohi ve Imanpoor, 2015; Pedrazzani ve Neto, 2016; Santos ve ark., 2017; Bodur ve ark., 2018; Correia ve ark., 2018; Can ve ark., 2018; Kızak ve ark., 2018; Can ve ark., 2019; Kızak ve ark., 2020).

Akuakültürde ve bilimsel araştırmalarda çoğunlukla kullanılan anestetik maddeler kimyasal ajanlar olup bunların insan sağlığı yönünden birtakım olumsuz yönleri rapor edilmiştir. 2-PE maddesinin insanlarda nörofizyolojik sendroma sebep olabileceği bildirilmiştir (Fernández-Parra ve ark., 2017). Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından su ürünlerinde anestetik madde olarak kullanımına izin verilen MS-222 maddesinde dahi anesteziden sonraki 21 günlük süre içerisinde balıkların tüketilmemesi tavsiye edilmektedir. Özellikle son yıllarda bitkisel esansiyel yağlar, kimyasal özellikteki anestetik maddelere alternatif doğal anestetik maddeler olarak karşımıza çıkmaktadır. Buna ilaveten, balık sağlığı ve refahının ön plana çıkmasına sebep Avrupa Birliği'nin "Directive 2010/63/EU" kararları kimyasal olmayan anestetik ajanlar üzerine yapılan araştırmaların artmasına sebep olmuştur (Kızak ve ark., 2018). Bu kapsamda, birçok farklı bitkisel esansiyel yağın çeşitli balık türlerinde anestetik etkisi üzerine çalışmalar devam etmektedir.

Su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılan anestezi maddelerinin kullanılmasında, az konsantrasyonda yüksek etki gücüne sahip olması, kolay temin edilebilmesi, kanser yapıcı özellikte olmaması ve en önemlisi de balık doku ve organlarında birikip insan tüketimi bakımından bir probleme neden olmaması çok önemlidir (Serezli ve ark., 2005). Kimyasal anestezi maddelerinde en önemli sorun ise uygulamada toksik etkiye sahip olmalarıdır. Bu yüzden anestezi maddelerinin kullanılmasında birden fazla kriter kullanılmaktadır. Kullanılan anestezi maddesi balıklara toksik etki yapmamalı, kullanıcıya ve çevreye dost olmalı, balık dokusunda birikmemeli ve insan tüketimi açısından zararlı olmamalıdır. (Ross ve Ross, 1999; Mylonas ve ark., 2005; Kanyılmaz ve ark., 2007).

Bazı kimyasal anestezi ajanların balık ve insanlar üzerinde bazı yan etkileri vardır (Velisek ve ark., 2007; Zahl ve ark., 2012). Son yıllarda, su ürünleri yetiştiriciliğinde doğal anestezi olarak kullanılan bitkisel uçucu yağlar, balık refahı, çevre ve insan sağlığı açısından sentetik anestezi ajanlardan daha faydalı görünmektedir. Esansiyel yağlar, bitki tohum ve dokularından damıtma yoluyla elde edilen, bitkinin kendi yapısına özgü kuvvetli kokulu olan, çok sayıda bileşenden oluşan uçucu yağlardır (Karakaya, 2003; Özgüven ve ark., 2005).

Organik gıda tüketiminin giderek yaygınlaştığı günümüzde potansiyel anestezi özellikleri gösteren esansiyel bitkisel yağların araştırılması, akuakültür sektörüne kimyasal olmayan alternatif anestetik maddelerin kazandırılması bakımından önem arz etmektedir. Bu nedenle bu tez konusunun amacı, bir akvaryum balığı türü olan lepidosteus balıklarında

daha önce denenmemiş iki farklı bitkisel esansiyel yağın anestezik etkilerinin incelenmesi ve türe özgü optimal konsantrasyonlarının belirlenmesidir. Potansiyel anestetik ajan olarak analjezik etkideki tohumdan mamul kakule (*Elettaria cardamomum*) ve kökten mamul zencefil (*Zingiber officinale*) esansiyel yağlarının lepestes (*Poecilia reticulata*) türü üzerinde anestezik etkileri çalışılmıştır. Literatüre göre kakule, su ürünlerinde anestezik çalışmalarda daha önce hiç denenmemiştir. İki farklı bitkisel esansiyel yağın indüksiyon potansiyelleri test edilerek, kimyasal bir anestezik ajan olan 2-PE ile karşılaştırılmalı olarak etkileri incelenmiştir.

1.1. Lepistes (*Poecilia reticulata*) Balıklarının Genel Özellikleri ve Biyolojisi

Dünyadaki akvaryum balıkları arasında en yaygın ve en popüler türlerden biri canlı doğuran balıklar grubundan olan lepestes balıklarıdır. Lepistes balıklarının orjinleri Trinidad ve Venezuela nehirleri olmasına karşın, daha sonradan sivrisineklerle mücadele amacıyla Afrika kıtasına, Hindistan'a ve Kuzey Amerika'ya götürülmüştür. Günümüzde aşağı yukarı bütün ülkelerde en yaygın süs balığı türlerinden biridir. Üremesi, beslenmesi ve bakılması oldukça kolaydır. Bentopelajik bir tür olup tropik akarsular, acı sular ve denizlerin üst pelajik bölgelerinde geniş tuzluluklara toleranslı olduklarından dağılabilmektedirler. Doğal ortamlarında daha çok küçük böcekler, zooplanktonlar, algler ve detrituslarla beslenirler (Türkmen ve Alpbaz, 2001).

Lepisteslerin sistematigi aşağıda verilmiştir (Tamaru ve ark.,2001).

Regnum : *Animale*

Subregnum : *Metazoa*

Phylum : *Chordata*

Subfilum : *Vertebrata*

Classis : *Actinopterygii*

Ordo : *Cyprinodontiformes*

Subordo : *Cyprinodontoidea*

Superfamily : *Poecilioidea*

Family : *Poeciliidae*

Subfamily : *Poeciliinae*

Genus : *Poecilia*

Species : *Poecilia reticulata* (Peters, 1859)

1.1.1. Lepistes balığının (*P. reticulata*) morfolojisi

Ağızlarındaki dişleri nedeniyle dişli sazancıklar olarak da bilinen lepistes balıkları Cyprinodontoidae alt takımına dahildirler. Ağızları üst ya da ön konumlu olup, baş genellikle kütleştir. Lepistesler eşey farkı gösterirler ve canlı olarak doğum yaparlar. Sırt ve anal yüzgeçlerinde sert ışınlı yoktur. Sırt yüzgeçlerinde yumuşak ışınlı sayısı 7-8, anal yüzgeçlerinde yumuşak ışınlı sayısı 8-9 adetten oluşmaktadır. Erkek lepistesler dişli lepisteslere göre biraz daha uzun ve ince yapıya sahiptirler. Erkeklerde vücut yanlardan basıktır. Erkek lepistesler dişli lepisteslere göre doğada çok farklı ve daha güzel renklidir. Dişli lepisteslerin ön kısmı yuvarlak ve tombuldurlar. Erkek lepisteslerin maksimum boyları 2,5-3 cm aralığındadır. Dişli lepisteslerin boyu ise 5-6 cm kadardır. Erkekler doğada çok değişik ve güzel, parlak renklere sahiptir, ayrıca erkek lepistesler gonopodium denilen üreme organına sahiptir. (Alpbaz, 1993).



Resim 1.1. Lepistes Erkek Balığı (URL-1,2021)

1.1.2. Lepistes balığının (*P. reticulata*) ekolojik özellikleri ve beslenmesi

Lepistes balıklarının esas kökeni Amerika'ya dayanır. Fakat Güney Amerika, Venezuela, Barbados, Trinidad, Kuzey Brezilya ve Guyana sahillerinde de yaşarlar. Sivrisineklerle mücadele için kullanılan lepistesler dünyanın farklı bölgelerine götürüldükleri için çok geniş bir dağılım göstermişlerdir. Yavaş akan sularda yaşamayı seven lepistesler, sivrisinek larvaları, su yosunları ve çeşitli bitkisel besinlerle beslenirler. (Hekimoğlu, 1997; Şahin, 1999).

1.1.3. Lepistes balığının (*P. reticulata*) üremesi

Canlı doğuranlar grubunun en doğurgan türü Lepistes balıklarıdır. Lepistes balıklarında memelilerden farklı olarak yalancı doğum gözlenmektedir. Lepistes balıklarında, yumurta yumurtlama sırasında çatlar ve balık doğurmuş gibi gözlenir, buna ovovivipar üreme denilmektedir. Ovovivipar üreme, yumurtaların dişi balığın karnında iken erkek balık tarafından döllenmesidir. Döllenmiş yumurta gelişimini yumurta kanalı içinde sürdürür. Yavru balık anne karnından dışarı çıkmadan önce vitellüs kesesini absorbe eder ve dışarı çıktığında yüzmeye hazır hale gelmiş olması gerekir. Anne karnında bu duruma gelen yavru lepistesler mini denemelerin ardından yüzmeye başlarlar. (Karaçuha, 2006). Lepisteslerde eşey ayrımını gonopodiumlar sağlar ve bu yüzden kolaydır. Erkekler renklerinin dikkat çekiciliği ve gonopodium denilen üreme organı ile dişilerden rahatlıkla ayırt edilebilir. Gonopodium denilen organ bir çeşit çiftleşme oranıdır ve erkek bireylerde anal yüzgecin farklılaşarak geriye doğru uzaması ve ince uzun bir hortum şeklini alması ile oluşur. Bu organ sayesinde erkek dişiye rahatlıkla dölleyebilir. Yumurtanın döllenmesi ve gelişmesi anne karnında olur. Memelilerde plasenta aracılığıyla yavrunun beslenmesi lepisteslerde yoktur (Karaçuha, 2006). Embriyo yumurtadan çıkana kadar yumurta sarısıyla beslenir, lepistes balıklarının gelişiminde dişinin etkisi yoktur. Dişinin görevi sadece yumurtaları korumak için ortam sağlamaktır. (Sakurai ve ark., 1992; Alpbaz, 1993; Houde, 1997; Alpbaz, 2000).

1.2. Anestezi

Canlıdaki bilincin azaltılması, metabolizma hızının düşürülmesi, refleks tepkilerinin yavaşlatılarak durdurulması ile canlıya yapılacak müdahalenin kolaylaştırılmasını sağlayan işleme anestezi denir (Çetinkaya, 1991). Anesteziye maruz kalan canlıda, konsantrasyona bağlı olarak önce sakinleşme (sedasyon), sonra denge ve hareket kaybı daha sonra ise refleks kaybı gözlemlenir. Balıklarda anestezi; balık biyolojisi, balık endokrinolojisi, kültür balıkçılığı, balık hastalıklarının tedavisinde ve birçok deneysel amaçlar için kullanılmaktadır. Buradaki anestezinin ana amacı balıkların hareketini azaltarak ya da durdurarak işlemleri balığa zarar vermeden ve daha kolay yapmaktır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde anestezik maddelerin temel kullanım alanları; balıkların hastalıklarını önlemek, tedavi etmek için aşılama, ilaç uygulamaları, balıklarda yumurta, sperm alımları, popülasyonlarının büyüklüklerini kontrol etmek için kullanılan markalama işlemleri, morfometrik ölçüm, tartım, fotoğraflarının çekimi, balıklarda biyopsi, kan alımı işlemleri, balıkların taşınması ve balıklarda ötenazi işlemleri olarak sıralayabiliriz. (Marsic-Lucic ve ark., 2005; Mylonas ve ark., 2005; Başaran ve ark., 2007).

1.2.1. Balıklarda anestezi safhaları

Anestezi uygulamalarındaki genel amaç, canlıya verilen anestetik maddenin dengeli ve düzenli bir şekilde canlının normal beyin fonksiyonlarının bozularak dış uyaranlardan gelen etkilere karşı tepkisiz bırakmaktır. Beyin fonksiyonlarının bilinç kaybı yaşaması ile birlikte vücut normal uyku halinden farklı olarak dış uyaranlara tepki vermeyecek düzeye gelmesidir. Suda hayatlarını idame ettiren canlılar genel olarak solunum yoluyla anestetik madde almaları sağlanır. Vücutlarına gerekli oksijenin sağlanması için solungaç kullanan canlılara anestetik maddeler bu yolla verilerek kana karışımın sağlanması gerçekleştirilir. (Zahl ve ark., 2009).

Summerfelt ve Smith (1990)'e göre balıklarda denge ve yüzme aktivitesi esas alınarak farklı anestezi düzeyi belirlenmiştir. Bunlar;

Tablo 1.1. Balıkta anestezi safhaları (Summerfelt ve Smith,1990)

Hafif sedasyon: Harici, görsel ve dokunmayla ilgi aktivitenin hafif kaybı vardır. Operkulum hareket oranı azalmış ve denge normaldir.

Derin sedasyon: Güçlü bastırmalar hariç dışsal uyarılara tam reaktivite kaybı vardır. Operkulum hareketinde hafif düşüş varken, denge normaldir.

Kısmi denge kaybı: Kas tonunda kısmi kayıp varken, yüzme düzensizdir. Operkulum hareketinde artış vardır. Sadece güçlü dokunma ve sallama uyarılarına karşı reaktiftir.

Tam denge kaybı: Denge ve kas tonunun tam kaybı söz konusudur. Yavaş fakat düzenli operkulum hareketi ile omurilik refleksinin kaybı söz konusudur.

Refleks kaybı: Tam refleks kaybı gözlenir. Operkulumlarda hareket düzensiz olup, kalp atışı çok yavaştır ve bütün reflekslerde kayıp izlenir.

Medula yıkım, asfeksi safhası: Solunum hareketi ve bunu takiben birkaç dakika sonra kalp durur. Balık ölür.

Summerfelt ve Smith (1990)'e göre anestezi sonrası balığın tekrar eski haline gelme aşamaları iyileşme olarak beş aşamada değerlendirilmiştir. Bunlar;

R1: Solungaç kapağı hareketinin yeniden görülmesi,

R2: Denge ve yüzmenin kısmen düzelmesi,

R3: Tam denge düzelmesi,

R4: Yüzme hareketinden ve dışsal uyarılara tepki vermeden sakınma, davranışsal duyarsızlık görülmesi,

R5: Tam davranış iyileşmesi ve normal yüzme davranışı izlenmesidir.

1.2.2. İdeal bir anesteziye aranacak özellikler ve anestezi seçimi

Balıklar için seçilen anestezi; toksisitesi, etkinliği, maliyeti ve kullanımındaki kısıtlamalar gibi özellikler göz önünde bulundurularak seçilmelidir. İdeal bir anesteziye aranan özellikler şu şekildedir (Making ve Mayer,1985; Küçük, 2010).

✓ Uygulama süresi 3 ile 15 dakika arasında olmalıdır. Yani 3 dakika içinde anestezi madde balığı etkilemeli ve bu şekilde 15 dakika balık bekletilebilmelidir.

✓ Kullanıldıktan sonra iyileşme süresi 5 dakika veya daha kısa olmalıdır. Balık iyileştirme tankına alındıktan 1-2 dakika içinde hareket etmeli ve 5 dakika içinde yüzmeye başlamalıdır.

- ✓ Balıklar için toksik olmamalı, geniş bir güvenliğe sahip olmalıdır.
- ✓ Normal kullanımlarda vücutla temasta kullanıcıya zarar vermemelidir.
- ✓ Balık fizyolojisi ve davranışında kalıcı etki bırakmamalıdır.
- ✓ Çok çabuk metabolize olabilmeli, kalıntı bırakmamalı, herhangi bir atılım süresi olmamalıdır. Ancak insan tüketimine sunulacak balıklarda en az 21 gün bekletilme şartı uygulanmalıdır.
- ✓ Tekrarlanan kullanımlarda kümülatif etki yapmamalı. Tekrarlanan uygulamalarda balık aynı ortamda, aynı dozda ve aynı sürede anestezi olmalıdır.
- ✓ Kullanılacak anestezik pahalı olmamalıdır.

1.2.3. Anestezide kullanılan anestezik ilaçlar

Balıklarda anestezi amacıyla 1939'da ilk kullanılan madde eter olmuştur. 1940 yılında üretan fizyolojik denemelerde kullanılmıştır. Üretanın karsinojenik olduğu belirlendikten sonra kullanımı terk edilmeye başlanmıştır. 1950'li yıllarda anestezinin balıklar üzerindeki etkileri üzerine araştırmaların artması sonucunda üretan, eter ve kloroform gibi kimyasallar kullanımdan kaldırılmıştır. 1986 yılında MS-222 FDA tarafından besin olarak tüketilen balıklarda kullanımı onaylanmıştır. Su ürünleri yetiştiriciliği çalışmalarında en yaygın olarak kullanılan anestezikler; Tricaine Methanesulfonate (MS-222), 2-Phenoxyethanol, Benzocaine, Quinaldine, Metomidate, Karanfil Yağı ve Sedanol'dür (Ross ve Ross, 1999; Mylonas ve ark., 2005; Küçük, 2010).

1.2.3.1. 2- Fenoksietanol (2-PE)

2-fenoksietanol (2-PE), yağlı ve saydam bir görünümü olan bir sıvıdır. Kimyasal koruyucu özelliğine sahip olan madde suda çok az çözünürken; etanolde çok iyi çözünür. Antibakteriyel ve antifungal bir sıvı olduğundan cerrahi işlemlerde kullanılmaktadır. Ucuz bir ürün olan 2-PE geniş bir güvenlik aralığına sahiptir. Hafif sedasyon ve derin anestezi geçişleri 100-600 ppm arasındaki konsantrasyonlar da sağlanır. Uzun süreli sedasyonlar için ise 100-200 ppm konsantrasyonların kullanılması önerilir (Coyle ve ark., 2004).

1.2.4. Anestezide kullanılan doğal anestezikler

Sentetik farmasötiklerin ve terapötiklerin kullanımı yerine canlılar için daha güvenli olduğu bilinen doğal bileşenlerin kullanımı tavsiye edilmektedir. Esansiyel yağlar adı da verilen uçucu yağlar, bitki tohum ve dokularından distilasyonla elde edilen, bitkiye özgü kuvvetli kokulu olan, çok sayıda bileşenden oluşan yağlardır (Evren ve Tekgüler, 2011). Esansiyel yağlar kolay ayrıştırılabilir, çevre dostu olmaları ve fitotoksik olmamaları sebebiyle son yıllarda artan bir talep vardır. Çeşitli balık türleri üzerinde anestezi amacıyla denemeleri yapılmış birçok esansiyel bitki yağı vardır ve bunlarla ilgili özet bilgi aşağıdaki tabloda verilmiştir (Can ve ark., 2019)



Tablo 1.2. Farklı balık türleri üzerinde anestezi denemeleri yapılmış bitkisel esansiyel yağlar ve konsantrasyonları

Balık Türü	Bitkisel Esansiyel Yağ	Konsantrasyon (µl/lt)	Kaynak
Sazan balığı	Biberiye	250-1000	Ghazilou ve Chenary (2011)
Gümüş yayın balığı	Limon mineçiçeği	100-800	Parodi ve ark. (2014)
Sazan balığı	Nane	3000-7000	Roohi ve Imanpoor (2015)
Palyaço balığı	Karanfil yağı	5-35	Pedrazzani ve Neto (2016)
Palyaço balığı	Kafur	200-600	Pedrazzani ve Neto (2016)
Kırmızı pacu balığı	Limon otu	400-1600	Barbas ve ark. (2017)
Ahli balığı	Papatya	100-1000	Can ve ark. (2017)
Sarı prenses balığı	Geranium	25-300	Can ve ark. (2018)
Japon balığı	Gül ağacı	50-300	Kızak ve ark. (2018)
Zebra Ciklit	Kişniş	50-300	Can ve ark. (2019)
Zebra Ciklit	Linaloe ağacı	50-300	Can ve ark. (2019)
Zebra Ciklit	Lavanta	50-300	Can ve ark. (2019)
Güney Amerikan Yayın Balığı	Karanfil fesleğen	100-200	Silva ve ark. (2020)
Güney Amerikan Yayın Balığı	Zencefil	100-200	Silva ve ark. (2020)
Mavi yunus ciklit	Defne yaprağı	300-800	Kızak ve ark. (2020)

1.2.4.1. Kakule (*Elettaria cardamomum*)



Resim 1.2. Kakule bitkisi (URL-2,2021)

Güney Asya kökenli olan *Elettaria cardamomum*, Hindistan, Çin, Guatemala, Tanzanya, Sri Lanka, El Salvador ve Papua Yeni Gine’de yetiştirilmektedir. Yetiştirilme koşulları optimum olarak yıllık yağış miktarının 1500-4000 mm, sıcaklık aralığının 10-35°C’ de ve 600-1200 metre yüksekliktir. Meyveleri üç köşeli, 7-15 mm uzunlukta, 6-8 mm genişlikte ve yeşil sarı renkli kapsüllerdir (Amin, 2001). Bu bitki ülkemizde kakule adı ile bilinir ve Zingiberaceae ailesindendir. Çok yıllık, çalimsı, 2-4 m boylu, büyük yapraklı, beyaz çiçekli, rizomlu bir bitkidir. Uçucu yağ 1,8-sineol (% 25-45), α -terpinil asetat (% 28-34), α -terpineol, jeranil asetat, nerolidol, linalool, linalil asetat, nerol, borneol, metil heptenon, neril asetat ve monoterpenlerden oluşmaktadır. Kakulenin kas tutulmaları ve baş ağrısı üzerinde etkili olduğu bazı alternatif tedavi sitelerinde ileri sürülmektedir (Karaca ve ark., 2005). Kakule yağı içerisinde bulunan linalool yatıştırıcı, linalil asetat ise uyuşturucu etkiye sahiptir (Tisserand ve Balacs, 1999).

1.2.4.2. Zencefil (*Zingiber officinale*)



Resim 1. 3.Zencefil bitkisi (URL-3,2021)

Zencefil (*Zingiber officinale* Roscoe) Zingiberaceae familyasından, 100 cm'ye kadar yükselebilen kamış görünümünde, çok yıllık otsu bir bitkidir. Genellikle tropikal bölgelerde 1500m'ye kadar yayılış göstermekle beraber, sub-tropikal bölgelerde de yetiştirmeye uygundur (Kaplan, 2005). Zencefil iki geniş kategorili yani uçucu ve uçucu olmayan kategoriler halinde gruplandırılmıştır. Uçucu maddeler, zencefilin farklı aromasını ve tadını sağlayan seskiterpen ve monoterpenoid hidrokarbonları içermektedir. Zencefilin kimyasal yapısı uçucu yağ ve diğer bileşiklerden oluşmaktadır (Singh ve ark., 2005). Ülkemizde doğal olarak yetişmeyen zencefilin epstein-Barr virüs aktivitesini durdurması dolayısı ile kanser önleyici özelliği vardır. Zencefilin aktif maddelerinden, 6-gingerol ve 6-paradol bileşimlerinin promyelocytic lösemi kanserini durdurma etkisi vardır (Kaplan, 2005). Su ürünleri yetiştiriciliğinde zencefil uçucu yağının kullanımı, bakteriyel zorluklara maruz kalan balıkların sağlığını ve fizyolojik durumunu iyileştirmek için yemlere eklenmesine odaklanmıştır (Brum ve ark., 2017). Farelerin kullanıldığı çalışmalarda, zencefil yağının analjezik etkilere neden olduğu bildirilmiştir (Jeena ve ark., 2013).

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Deneme yeri ve akvaryumları

Bu deneme, Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Uygulama ve Araştırma Merkezi laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Deneme aşamasında öncelikle 1 lt hacminde 4 adet cam kap, 2 adet 5 lt hacminde cam fanus ve 120×50×50 cm ölçülerinde bir adet cam akvaryum kullanılmıştır.



Resim 2.1. Deneme akvaryumu

2.1.2. Balık türü ve su kalitesi

Çalışma, ortalama canlı ağırlıkları $0.96 \pm 0,11$ gr olan erkek lepistes balıkları (*Poecilia reticulata*) üzerinde yürütülmüştür. Balıklar özel bir firmadan satın alınıp denemenin gerçekleştirileceği akvaryuma transfer edilmiştir. $120 \times 50 \times 50$ ebatlardaki cam akvaryumlara adaptasyon sağlanarak stoklanmışlardır. Lepistesler %44,9 ham protein içeriğine sahip yemlerle günlük olarak *ad libitum* olarak yemlenmişlerdir. Denemelere başlamadan 24 saat öncesinden yemleme kesilmiştir. Su parametreleri sırasıyla; $23,4 \pm 0,1^\circ\text{C}$, pH $7,84 \pm 0,09$ ve çözülmüş oksijen içeriği $6,3 \pm 0,62$ mg/lt olarak ölçülmüştür.

2.1.3. Anestetik maddeler

Analjezik etkideki kakule (*E. cardamomum*) esansiyel yağı (EcEO) ve zencefil (*Z. officinale*) esansiyel yağı (ZoEO) potansiyel bitkisel anestetik madde olarak bu çalışmada denemeleri yapılmıştır. Bu iki esansiyel yağ ve bileşim özellikleri özel bir firmadan (Nu-Ka Defne Essencia) temin edilmiştir (Resim 2.2). EcEO ve ZoEO'nun ana bileşenlerin oranları ve fiziksel karakteristikleri Tablo 2.1'de verilmiştir. 2-fenoksietanol (2-PE) (Sigma-Aldrich) kimyasal anestetik madde ve kontrol grubu olarak tatbik edilmiştir.



Resim 2.2. Çalışmada kullanılan analjezik özellikteki kakule (*E. cardamomum*) esansiyel yağı (EcEO) ve zencefil (*Z. officinale*) esansiyel yağı (ZoEO)

Tablo 2.1. Kakule (*Elettaria cardamomum*) ve Zencefil (*Zingiber officinale*) esansiyel yağlarının (EcEO ve ZoEO) ana bileşenleri ve fiziksel karakteristikleri (Kaynak: Nu-Ka Defne Essencia)

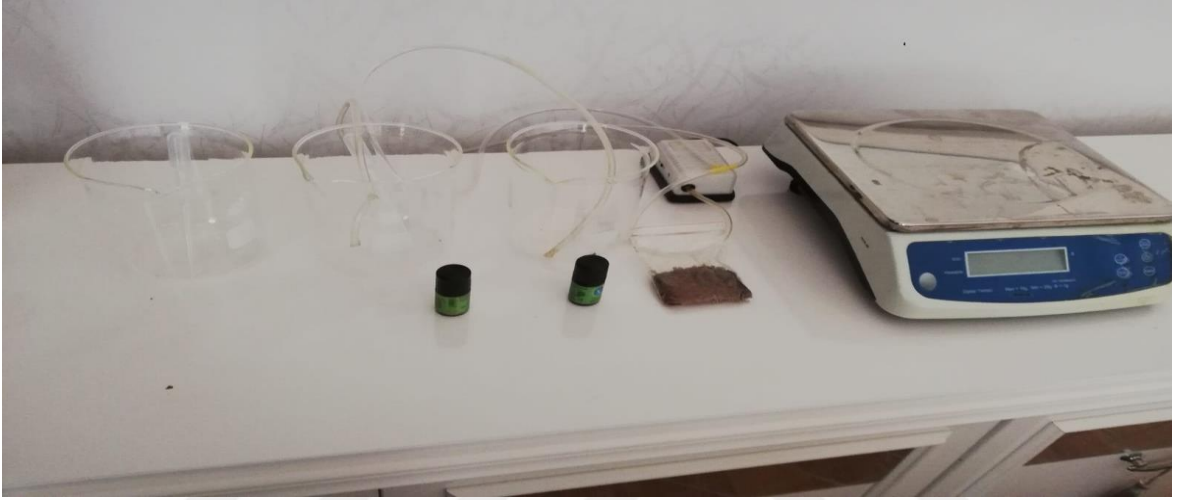
BİLEŞEN	BİLEŞENLERİN YÜZDESİ (%)	
	<i>E. cardamomum</i>	<i>Z. officinale</i>
ACETATE DE TERPENYLE	37,92	-
1,8-CINEOLE	34,26	-
ACETATE DE LINALYLE	5,10	-
SABINENE	3,71	-
LINALOL	3,22	-
LIMONENE	2,80	-
α -PINENE	1,92	1,69
α -TERPINEOL	1,80	-
β -MYRCENE	1,68	-
TERPINENE-4-OL	0,91	-
NEROLIDOL	0,75	-
CAMPHENE	-	5,05
β -PHELLANDRENE	-	7,01
β -ELEMENE	-	0,75
NERAL	-	0,19
GERMACRENE	-	3,26
α -ZINGIBERENE	-	32,53
GERANIAL	-	6,27
α -FARNESENE	-	5,41
α -CURCUMENE	-	18,72
GERANIOL	-	0,18
Diğer	5,82	18,79
TOTAL	99,89	99,85
GÖRÜNÜŞ	Renksiz	Açık sarı
/KOKU	/ karakteristik	/ karakteristik
SUDAKİ ÇÖZÜNÜRLÜK	Çözülmez	Çözülmez
YOĞUNLUK (20°C) (G×CM⁻³)	0,931	0,883
PARLAMA NOKTASI (°C)	59,5	67,6

Esansiyel yağların içerikleri kütle spektrometrisi ile birleştirilen gaz kromatografisiyle tanımlanmıştır.

2.1.4. Kullanılan araç ve gereçler

2.1.4.1. Hassas terazi

Deneme aşamasında kullanılan balıkların ağırlıklarını ölçmek amacıyla 0,1 gr hassasiyetli ACS-30 marka terazi kullanılmıştır.



Resim 2.3. Hassas terazi

2.1.4.2. Hava motoru ve termometre

Deneme aşamasında kullanılan fanusların ve akvaryum içerisindeki suyun normal şartlarda tutulmasını sağlamak amacıyla çoklu hava motoru kullanılmıştır. Su sıcaklığının kontrol edilmesi amacıyla bir adet termometre kullanılmıştır.



Resim 2.4. Hava motoru

2.1.4.3. Yem

Balıklar denemeler başlamadan 24 saat öncesine kadar Prodac Pro Guppy marka balık yemleri ile sağlanmıştır.

2.1.4.4. Akvaryum

Yapılan çalışmada kullanılan balıkların deneme süresi boyunca 120×50×50 cm ebatındaki akvaryumlar kullanılarak canlılıklarının devam edilmesi sağlanmıştır.



Resim 2.5. Akvaryum

2.2. Yöntem

2.2.1. Anestetik maddelerin hazırlanması

Analjezik etkideki EcEO ve ZoEO 15 ml plastik tüp içinde etanol (%94) ile 1:10 oranında bir araya getirilerek karışım haline getirilmiştir (Can ve ark., 2018). Bu karışım daha sonra 1:10 oranında uygulama suyu ile yine şiddetli bir şekilde karıştırılarak 1 lt hacmindeki anestezi çalışma suyuna aktarılmıştır. Kontrol grubu olarak kullanılan 2-PE ise doğrudan deneme suyuna katılıp karışım sağlanmıştır.

2.2.2. Deneme dizaynı

İlk olarak, ön denemeler doğrultusunda *P. reticulata* türünde EcEO, ZoEO ve 2-PE için minimum anestetik konsantrasyonlar belirlenmiştir. Daha sonra balıklar her bir anestetik madde için 5 farklı konsantrasyona tabi tutularak optimal anestezi ve iyileşme süreleri tespit edilmeye çalışılmıştır. EcEO ve ZoEO anestetik maddelerinde 800, 1000, 1200, 1400, 1600 µl/lt konsantrasyonlar denenirken, 2-PE için 600, 700, 800, 900, 1000 µl/lt konsantrasyonlar denenmiştir.

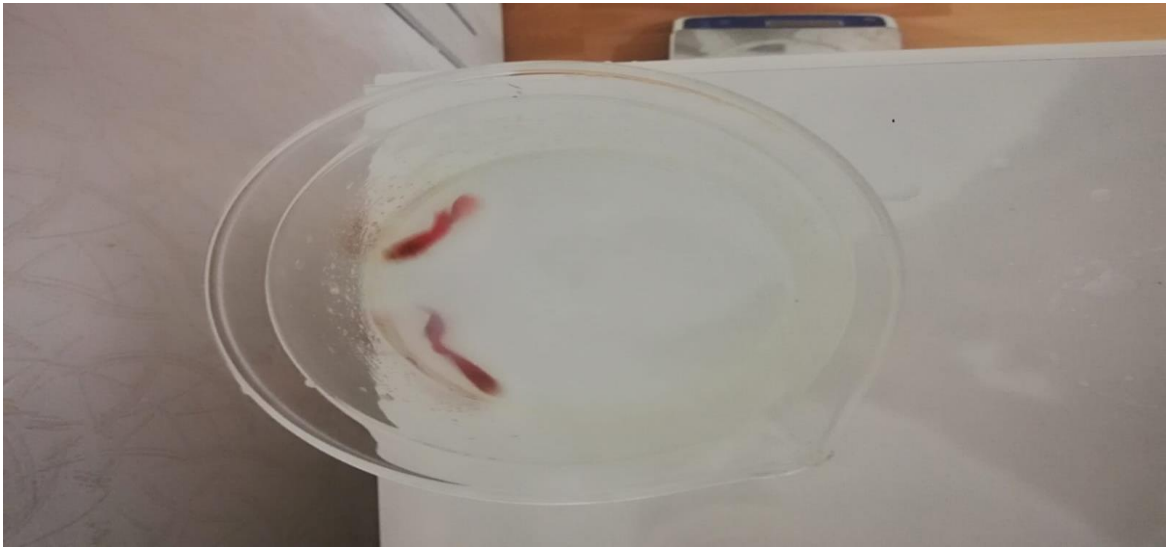
Anestezi (A) ve iyileşme (R) safhalarının tespiti Tablo 2.1’de gösterilmiştir. Anestezi (**A_I** : İlk İndüksiyon, **A_D** : Derin Anestezi) ve İyileşme (**R_I** : İlk İyileşme, **R_F** : Tam İyileşme) safhalarının tespiti balık davranışları dikkate alınarak saniye (sn) cinsinden tespit edilerek kaydedilmiştir. Her bir konsantrasyon için 7 adet balık teker teker denenmiştir. Böylece her bir balık bir tekerrür olmuş olup toplamda her bir konsantrasyon için 7 tekrarlı uygulama gerçekleştirilmiştir. Optimal konsantrasyonun tespitinde şu kriterler dikkate alınmıştır (Kızak ve ark., 2018); Derin anestezi (**A_D**) 3 dk içinde gerçekleşmeli ve Tam İyileşme (**R_F**) 5 dk’yı aşmamalıdır. Anestezi ve iyileşme safhalarının belirlenmesinde iki kişi tarafından gözlem yapılmış olup sürelerin ölçülmesinde kronometre kullanılmıştır. Denemede anestezi için 1 lt hacimli şeffaf kaplar kullanılmıştır. Kepçe yardımıyla alınan balık anestezi kabına aktarıldıktan sonra denge kaybı, operküler hareket ve kuyruğa dış müdahaleye verdiği tepki yönünden gözlemlenmiştir. Anestezi kabında derin anestezi safhasına (**A_D**) ulaşan balık, kepçe yardımıyla alınıp ağırlık ölçümleri yapıldıktan sonra iyileşmenin gerçekleşeceği anestetik 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. Bunlardan hariç olarak, etanolün anestezik olarak bir etkisinin olup olmadığını anlamak için 7 balık üzerinde 16 ml/lt konsantrasyonda etanol maksimum 3 dk boyunca tatbik edilmiştir (Can ve ark., 2017).

Tablo 2.2. Anestezi safhaları ve balığın gösterdiği davranış özellikleri (A: Anestezi, R: İyileşme) (Kızak ve ark. 2018)

<u>Safhalar</u>	<u>Balıktaki Davranış Özellikleri</u>
A_I (İlk İndüksiyon)	Tam denge kaybı, yavaş fakat düzenli operküler hareket.
A_D (Derin Anestezi)	Refleks olmaz, solungaç kapakları yavaş ve düzensiz hareket eder, kuvvetli dış müdahalelere tepki vermez.
R_I (İlk İyileşme)	Tam denge, düzensiz yüzme.
R_F (Tam İyileşme)	Normal davranış ve yüzme hareketleri gerçekleşir.



Resim 2.6. EcEO uygulanan balıklar



Resim 2.7. ZoEO uygulanan balıklar

2.2.3. İstatistiksel analizler

Yapılan tüm denemeler sonucunda kayıt altına alınan veriler Excel ve SPSS istatistik programında analiz edilip sonuca varılmıştır. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. Verilerin normalliği ve homojenliği, ANOVA varsayımlarına uyacak şekilde kontrol edilmiştir. Ortalamalar arasında anlamlı farklılıkların varlığı tek yönlü ANOVA'yı izleyen Duncan testi ile analiz edilmiştir ($p<0,05$). Verilerin analizi SPSS 20.0 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İndüksiyon ve iyileşme zamanları arasındaki ilişki regresyon-korelasyon grafikleri ile gösterilmiştir.



3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada akvaryum suyunun ortalama su sıcaklığı $23,4 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$, pH $7,84 \pm 0,09$ ve çözülmüş oksijen içeriği $6,3 \pm 0,62$ mg/l olarak ölçülmüştür. Araştırma öncesi lepestes balıklarının refleks ve yüzme hareketlerinin normal olduğu gözlenerek araştırmaya başlanmıştır.

Analjezik etkideki EcEO ve ZoEO ile lepestes balıkları üzerinde yapılan anestezi çalışmasında, bu esansiyel yağların anestezik özellikler gösterdikleri ve bir konsantrasyon hariç (800 µl/l EcEO) bütün konsantrasyonlarında indüksiyon sağlandığı görülmüştür. Anestezi safhaları incelendiğinde, balığın davranışlarında denge kaybı meydana gelmiştir, fakat operkulumlarda hareket düzenli olmuştur. Derin anestezide bütün reflekslerde kayıp izlenmiştir. Bu safhadaki balıkta solungaç kapakları düzensiz ve yavaş hareket etmiştir. Bu safhaya ulaşan deneme balıkları, anestezikli sudan çıkarılarak aynı su şartlarını sağlayan iyileştirme akvaryumuna alınmıştır. İyileştirme zamanı da balıkların iyileştirme akvaryumuna alındığından anesteziden kurtulduğu ve tamamen normal davranış gösterdiği ana kadar olan zamanı kapsamaktadır.

Mortalitenin olmamasının yanında balıklar üzerinde herhangi bir yan etki de (öksürme, solunum hareketini kesme, stress bantları oluşumu vb.) gözlemlenmemiştir. Ancak gözlem yapanlar açısından bir takım zorluklarla karşılaşmıştır. ZoEO suya tatbik edildiğinde suyu bulanıklaştırmış ve balık davranışlarını gözlemlemeyi güç hale getirmiştir. Bir diğer olumsuz etki de, hem EcEO hem de ZoEO'da konsantrasyon artışına bağlı olarak karakteristik kokularının keskinleşmesi ve gözlem yapanlarda hafif geniz yanmasıdır. 2-PE'ün bütün konsantrasyonlarında balıklar üzerinde herhangi bir ölüm ve yan etkisi görülmemiştir. Gözlem yapan açısından 2-PE'ün herhangi yan etkisi olmamıştır. Bütün anestetik maddeler için indüksiyon ve iyileşme süreleri Tablo 3.1'de yer almaktadır ($p < 0,05$).

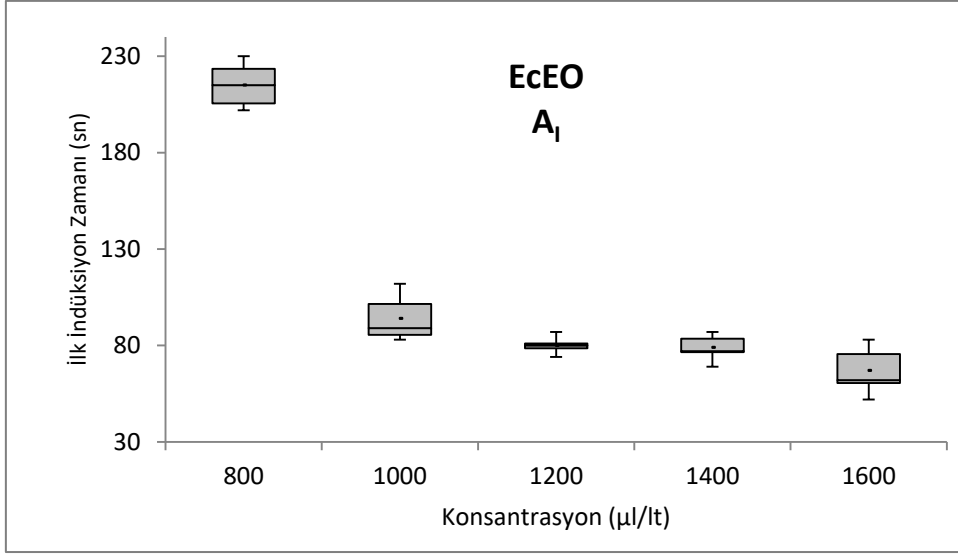
Anestezi için EcEO'da en etkili konsantrasyon 1600 µl/l ($A_D ; R_F \rightarrow 745 \pm 14,3$ sn ; $512 \pm 10,3$ sn) (Şekil 3.2 ve Şekil 3.4.), ZoEO'da en etkili konsantrasyon 1600 µl/l ($A_D ; R_F \rightarrow 360 \pm 3,4$ sn ; $450 \pm 7,2$ sn) (Şekil 3.6 ve Şekil 3.8) ve 2-PE'de en etkili konsantrasyon 1000 µl/l ($A_D ; R_F \rightarrow 94 \pm 1,4$ sn ; $196 \pm 1,3$ sn) (Şekil 3.10 ve Şekil 3.12) olarak belirlenmiştir. Anestetik maddeler arasında aynı safhalar bakımından önemli istatistikî farklar vardır ($p < 0,05$) (Tablo 3.11).

EcEO, ZoEO ve 2-PE’de konsantrasyon arttıkça A_D safhasında sürelerin kısaldığı görülmüştür (Şekil 3.2, Şekil 3.6, Şekil 3.10). İndüksiyon safhasındaki bu duruma karşın R_F safhası anestetik maddelere göre farklılıklar göstermektedir (Şekil 3.4, Şekil 3.8, Şekil 3.12). Konsantrasyon artışına bağlı olarak, EcEO’da R_F süreleri kısılırken, 2-PE’de R_F süreleri uzamıştır. ZoEO’da ise R_F süreleri kararsız bir durum sergilemiştir (Tablo 3.1 ve Tablo 3.2).

Tablo 3.1. *P. reticulata* türünde farklı konsantrasyonlardaki EcEO, ZoEO ve 2-PE’e ait indüksiyon (A_I and A_D) ve iyileşme (R_I and R_F) zamanları

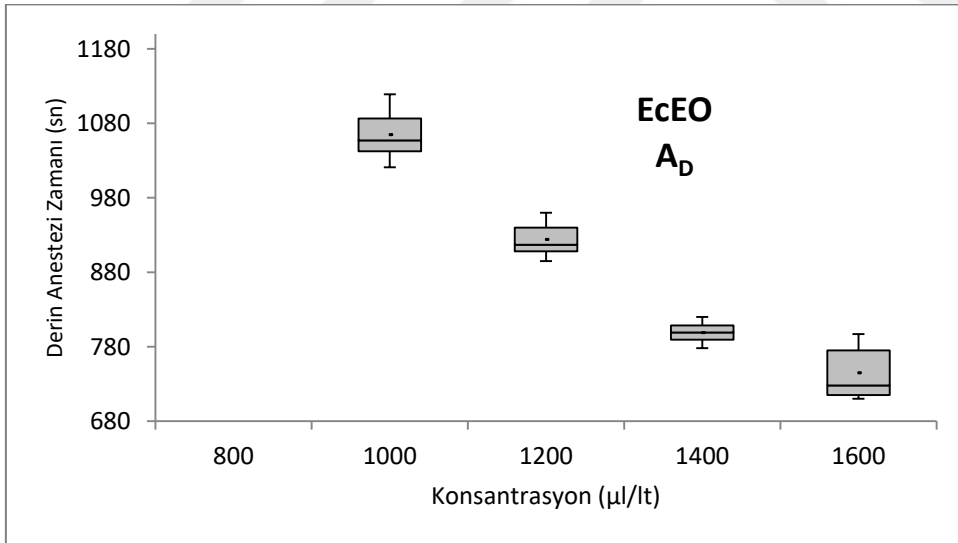
EcEO				
<u>Konsantrasyon</u> (μ l/l)	<u>İndüksiyon Zamanı (sn)</u>		<u>İyileşme Zamanı (sn)</u>	
	A_I	A_D	R_I	R_F
800	215 $\pm$ 4,3	-	-	-
1000	94 $\pm$ 4,5	1065 $\pm$ 13,0	175 $\pm$ 16,5 ^b	792 $\pm$ 6,8
1200	80 $\pm$ 1,4 ^c	924 $\pm$ 9,9	231 $\pm$ 13,4 ^{cd}	627 $\pm$ 9,4
1400	79 $\pm$ 2,2 ^c	799 $\pm$ 5,7	228 $\pm$ 22,3 ^{cd}	522 $\pm$ 7,8 ^c
1600	67 $\pm$ 4,2 ^b	745 $\pm$ 14,3 ^b	280 $\pm$ 10,2	512 $\pm$ 10,3 ^c
ZoEO				
<u>Konsantrasyon</u> (μ l/l)	<u>İndüksiyon Zamanı (sn)</u>		<u>İyileşme Zamanı (sn)</u>	
	A_I	A_D	R_I	R_F
800	199 $\pm$ 8,4	726 $\pm$ 5,6 ^b	188 $\pm$ 7,8 ^b	368 $\pm$ 2,7
1000	156 $\pm$ 3,9	533 $\pm$ 1,9	249 $\pm$ 4,6 ^d	375 $\pm$ 3,6
1200	67 $\pm$ 3,9 ^b	438 $\pm$ 2,5	243 $\pm$ 1,6 ^d	487 $\pm$ 2,6 ^b
1400	65 $\pm$ 2,8 ^b	366 $\pm$ 2,0 ^a	270 $\pm$ 1,6	490 $\pm$ 2,6 ^b
1600	79 $\pm$ 4,0 ^c	360 $\pm$ 3,4 ^a	233 $\pm$ 2,4 ^c	450 $\pm$ 7,2
2-PE				
<u>Konsantrasyon</u> (μ l/l)	<u>İndüksiyon Zamanı (sn)</u>		<u>İyileşme Zamanı (sn)</u>	
	A_I	A_D	R_I	R_F
600	81 $\pm$ 4,8 ^c	184 $\pm$ 1,5	58 $\pm$ 1,2	123 $\pm$ 1,2
700	49 $\pm$ 1,5 ^a	173 $\pm$ 1,2	65 $\pm$ 1,9	130 $\pm$ 2,4
800	43 $\pm$ 0,6	133 $\pm$ 1,2	98 $\pm$ 1,4	186 $\pm$ 2,1 ^a
900	47 $\pm$ 1,0 ^a	127 $\pm$ 1,7	123 $\pm$ 1,1 ^a	187 $\pm$ 2,3 ^a
1000	39 $\pm$ 0,8	94 $\pm$ 1,4	124 $\pm$ 1,7 ^a	196 $\pm$ 1,3

*Aynı sütun içinde aynı üst simgelere sahip değerler (ortalama $\pm$ sh) arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli değildir (p>0,05).



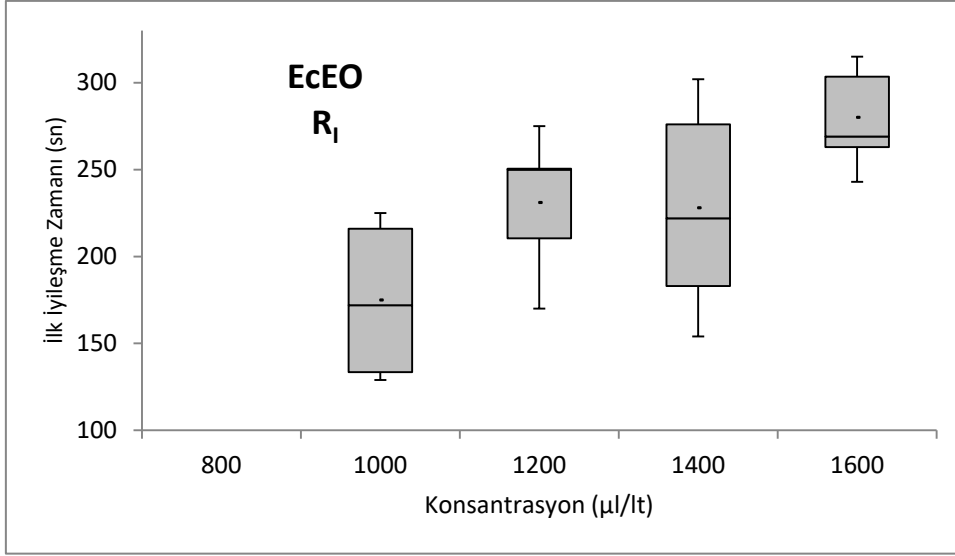
Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlardaki EcEO ile anestezi edilen *P. reticulata* türünde anestezi A₁ safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği

EcEO konsantrasyonu arttıkça A₁ safhasında süreler kısalmaktadır (Şekil 3.1, Tablo 3.1) ($p < 0,05$).



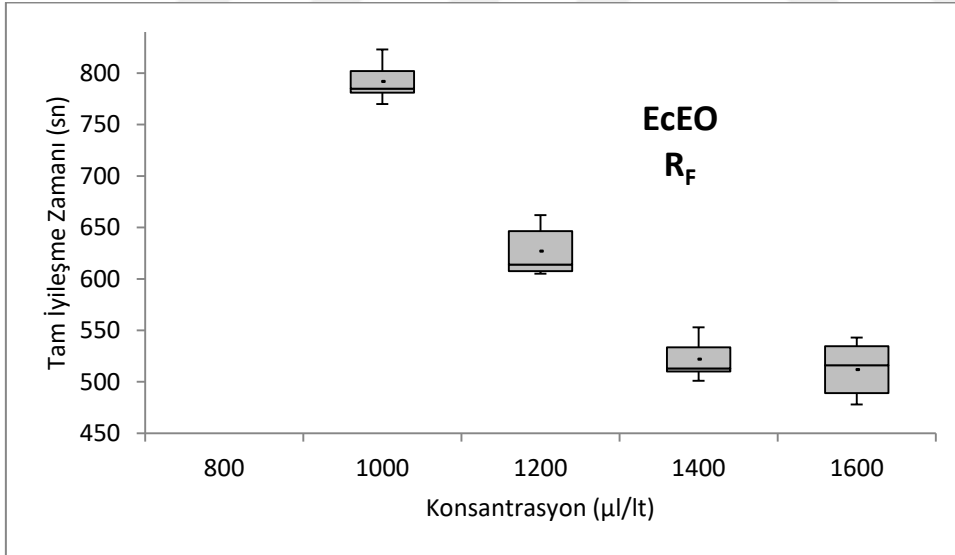
Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlardaki EcEO ile anestezi edilen *P. reticulata* türünde anestezi A_D safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği

EcEO konsantrasyonu arttıkça A_D safhasında süreler kısalmaktadır (Şekil 3.2, Tablo 3.1) ($p < 0,05$).



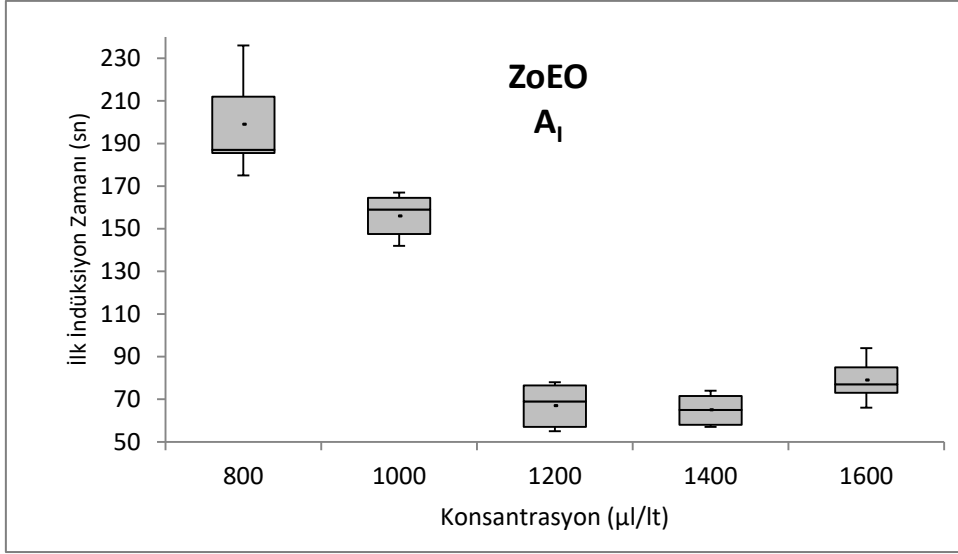
Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlardaki EcEO ile anestezi edilen *P. reticulata* türünde anestezi R_I safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği

EcEO konsantrasyonu arttıkça R_I safhasında süreler uzamaktadır (Şekil 3.3, Tablo 3.1) ($p<0,05$).



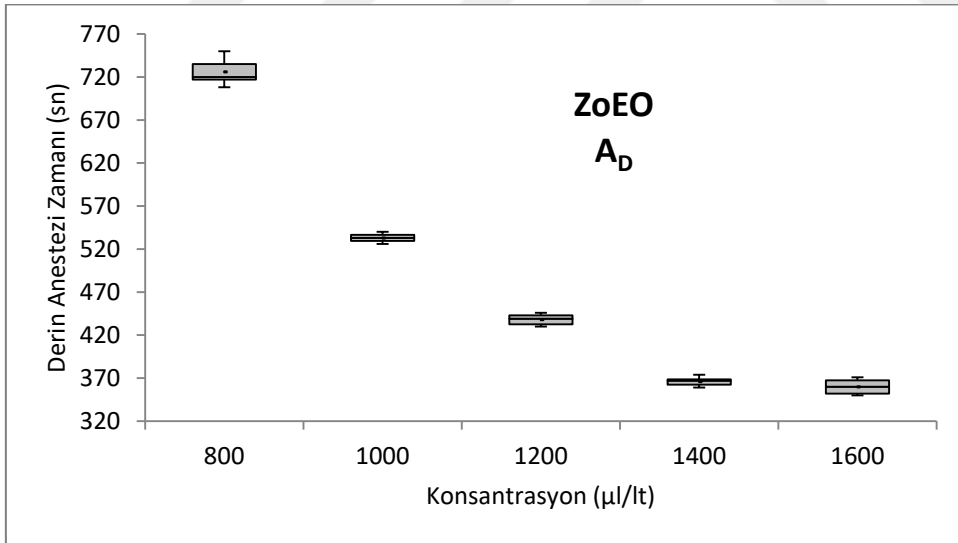
Şekil 3.4. Farklı konsantrasyonlardaki EcEO ile anestezi edilen *P. reticulata* türünde anestezi R_F safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği

EcEO konsantrasyonu arttıkça R_F safhasında süreler azalmaktadır (Şekil 3.4, Tablo 3.1.) ($p<0,05$).



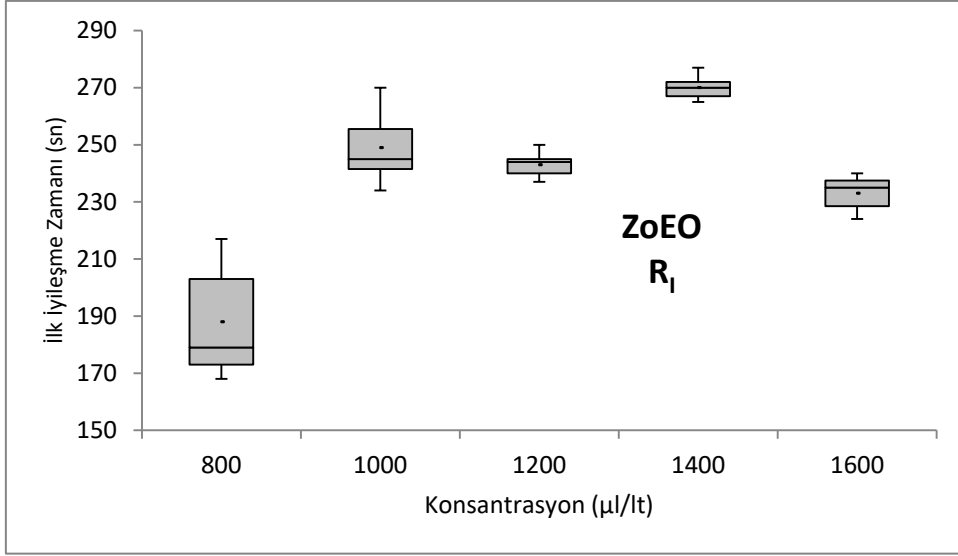
Şekil 3.5. Farklı konsantrasyonlardaki ZoEO ile anestezi edilen *P. reticulata* türünde anestezi A_I safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği

ZoEO konsantrasyonu arttıkça A_I safhasında süreler ilk başta azalma eğilimi gösterirken daha sonra artış sergilemiştir (Şekil 3.5, Tablo 3.1) ($p < 0,05$).



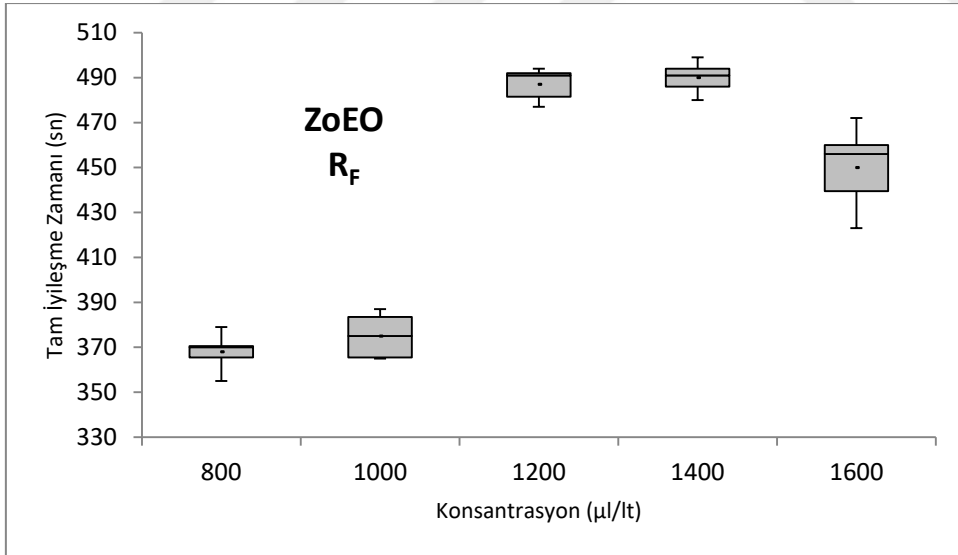
Şekil 3.6. Farklı konsantrasyonlardaki ZoEO ile anestezi edilen *P. reticulata* türünde anestezi A_D safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği

ZoEO konsantrasyonu arttıkça A_D safhasında süreler ilk başta azalma eğilimi gösterirken daha sonra stabil duruma gelmiştir (Şekil 3.6, Tablo 3.1) ($p < 0,05$)



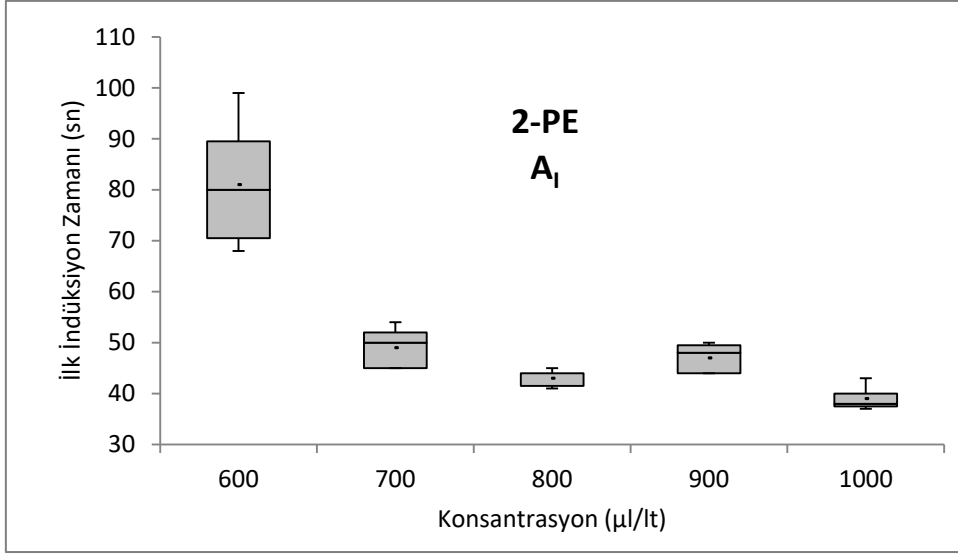
Şekil 3.7. Farklı konsantrasyonlardaki ZoEO ile anestezi edilen *P. reticulata* türünde anestezi R_I safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği

ZoEO konsantrasyonu arttıkça R_I safhasında süreler ilk başta artış eğilimi gösterirken daha sonra kararsız duruma gelmiştir (Şekil 3.7, Tablo 3.1) ($p < 0,05$).



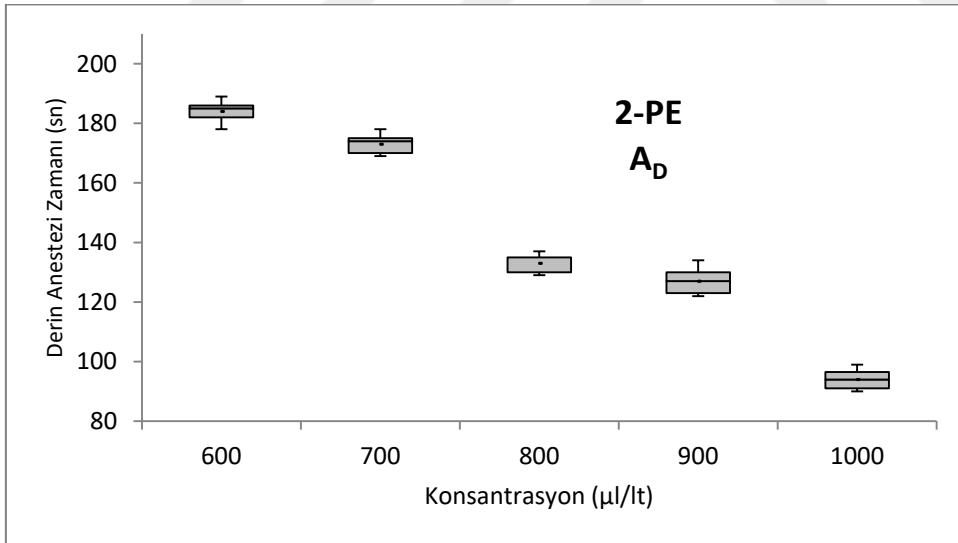
Şekil 3.8. Farklı konsantrasyonlardaki ZoEO ile anestezi edilen *P. reticulata* türünde anestezi R_F safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği

ZoEO konsantrasyonu arttıkça R_F safhasında süreler başlangıçta minimum artış gösterirken, sonrasında ani bir artış eğilimi sergilemiş ve akabinde kararsız hale geçmiştir (Şekil 3.8, Tablo 3.1) ($p < 0,05$).



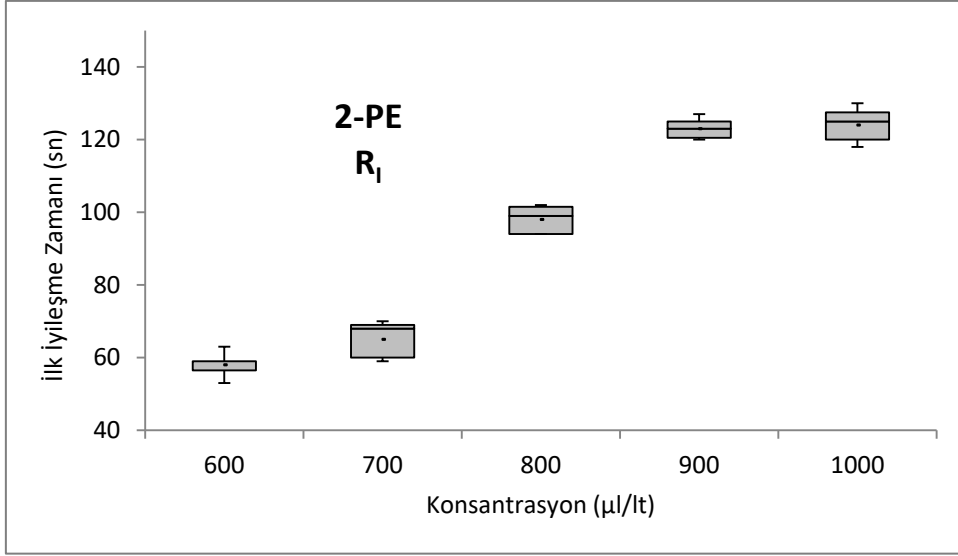
Şekil 3.9. Farklı konsantrasyonlardaki 2-PE ile anestezi edilen *P. reticulata* türünde anestezi A_I safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği

2-PE konsantrasyonu arttıkça A_I safhasında süreler kısalmaktadır (Şekil 3.9, Tablo 3.1) ($p < 0,05$).



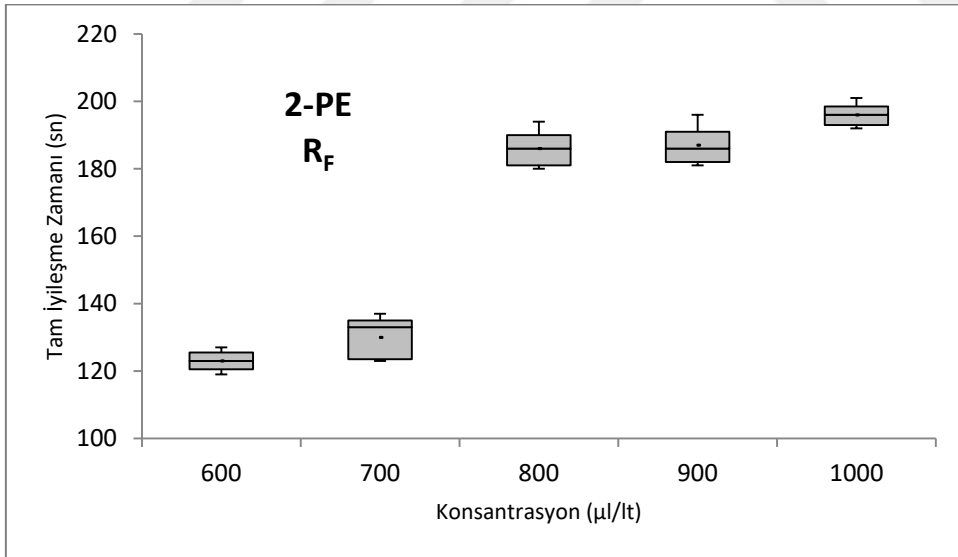
Şekil 3.10. Farklı konsantrasyonlardaki 2-PE ile anestezi edilen *P. reticulata* türünde anestezi A_D safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği

2-PE konsantrasyonu arttıkça A_D safhasında süreler kısalmaktadır (Şekil 3.10, Tablo 3.1) ($p < 0,05$).



Şekil 3.11. Farklı konsantrasyonlardaki 2-PE ile anestezi edilen *P. reticulata* türünde anestezi R_I safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği

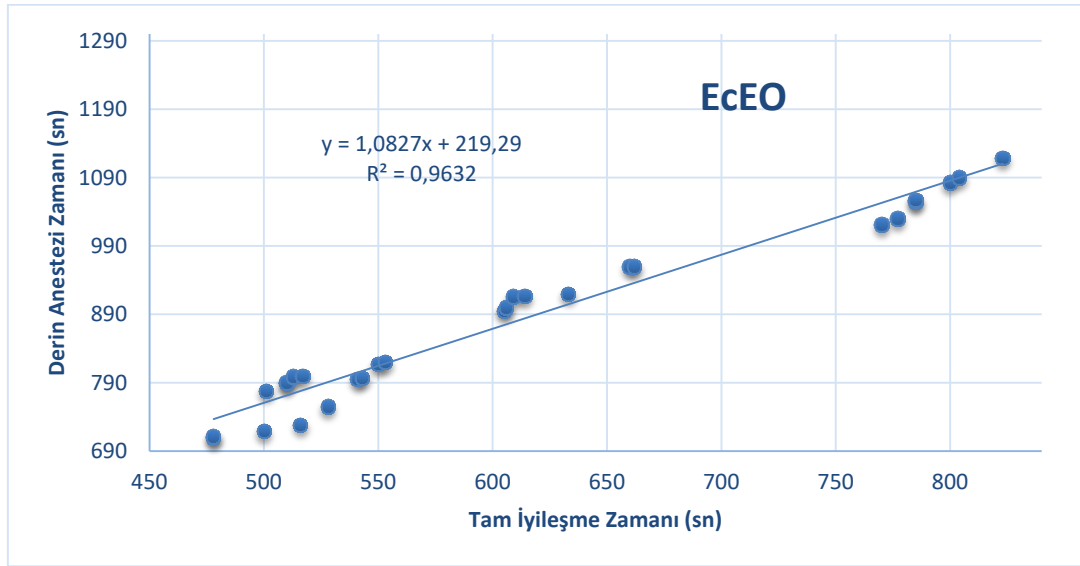
2-PE konsantrasyonu arttıkça R_I safhasında süreler uzamaktadır (Şekil 3.11, Tablo 3.1) ($p<0,05$).



Şekil 3.12. Farklı konsantrasyonlardaki 2-PE ile anestezi edilen *P. reticulata* türünde anestezi R_F safhası zamanlarına ait Box Plot grafiği

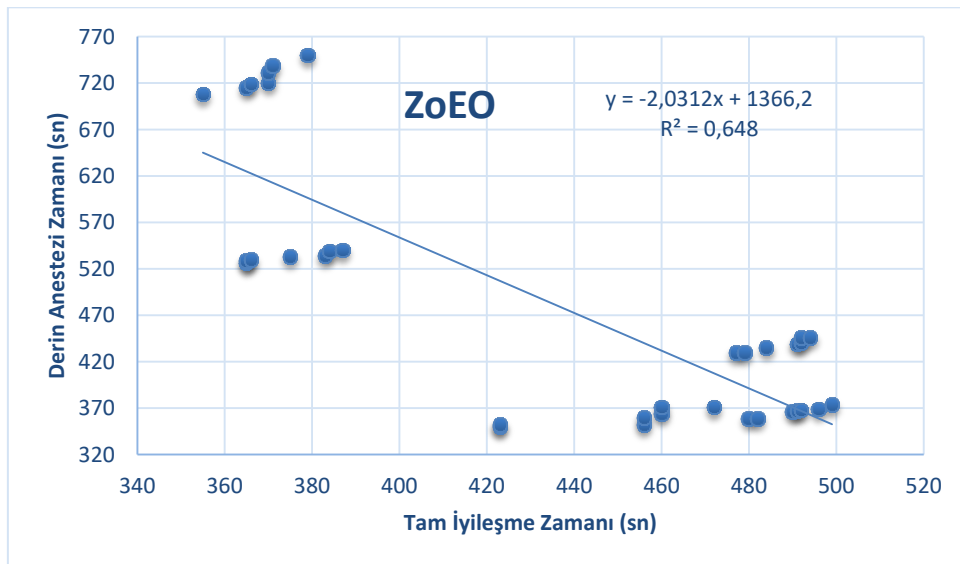
2-PE konsantrasyonu arttıkça R_F safhasında süreler uzamaktadır (Şekil 3.12, Tablo 3.1) ($p<0,05$).

Analjezik etkiindeki EcEO ve ZoEO ile anestetik ajan özellikteki 2-PE maddelerinde indüksiyon ve iyileşme süreleri önemli derecede konsantrasyona bağlıdır ($p<0,05$).



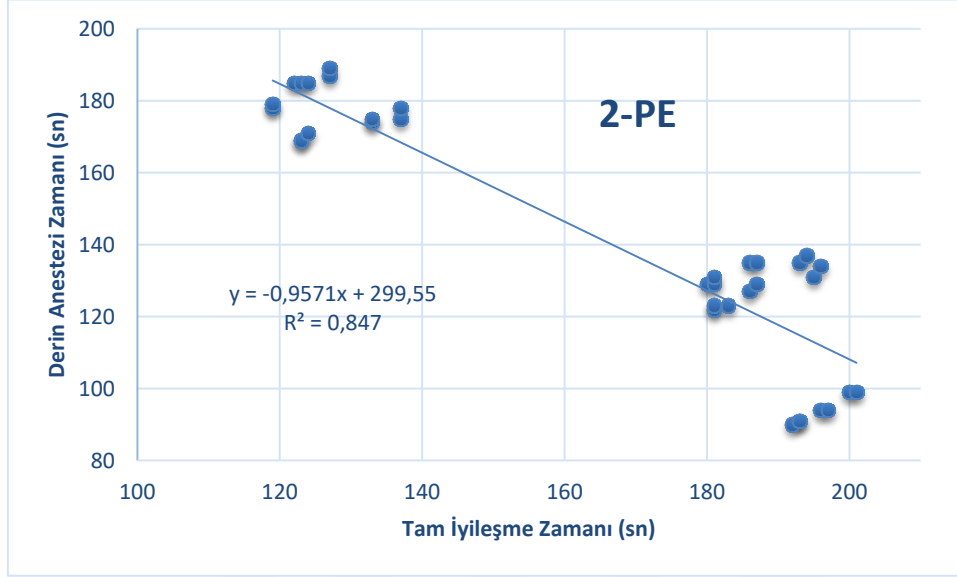
Şekil 3.13. Farklı konsantrasyonlardaki EcEO ile anestezi edilen *P. reticulata* türünde derin anestezi (A_D) ve tam iyileşme (R_F) zamanları arasındaki korelasyon-regresyon ilişkisi

EcEO ile anestezide A_D ve R_F süreleri arasında kuvvetli pozitif bir ilişki kaydedilmiştir ($R^2 = 0,9632$) (Şekil 3.13).



Şekil 3.14. Farklı konsantrasyonlardaki ZoEO ile anestezi edilen *P. reticulata* türünde derin anestezi (A_D) ve tam iyileşme (R_F) zamanları arasındaki korelasyon-regresyon ilişkisi

ZoEO ile anestezide A_D ve R_F süreleri arasında kuvvetli negatif bir ilişki kaydedilmiştir ($R^2 = 0,648$) (Şekil 3.14).



Şekil 3.15. Farklı konsantrasyonlardaki 2-PE ile anestezi edilen *P. reticulata* türünde derin anestezi (A_D) ve tam iyileşme (R_F) zamanları arasındaki korelasyon-regresyon ilişkisi

2-PE ile anestezide A_D ve R_F süreleri arasında kuvvetli negatif bir ilişki kaydedilmiştir ($R^2 = 0,847$) (Şekil 3.15).

Lepistes balıklarının maksimum 3 dk 16 ml/lt etanole maruz bırakmanın anestezik etkiye neden olmadığı, herhangi bir anormal davranışa ve mortaliteye yol açmadığı gözlemlenmiştir. EcEO, ZoEO ve 2-PE uygulamalarında, R_F safhasından yaklaşık 2-3 saat sonra balıklar yem almaya başlamıştır. 24 saat sonrasında da herhangi gibi olumsuz durum kaydedilmemiştir.

Bu tez çalışmasında, lepistes (*P. reticulata*) türü balıklar farklı konsantrasyonlarda analjezik etkideki kakule (*E. cardamomum*) esansiyel yağı (EcEO) ve zencefil (*Z. officinale*) esansiyel yağı (ZoEO) ile kimyasal anestetik ajan 2-PE maddelerine maruz bırakılmıştır. Literatürde ZoEO ile balıklar üzerinde anestezi denemesi yapılmış bir çalışma bulunurken (Silva ve ark., 2020), EcEO ile yapılmış bir bilimsel araştırma mevcut değildir. Tez çalışmasındaki bulgular, EcEO ve ZoEO'nun kısmen etkili anestetik maddeler olduğunu gösterse de, her iki bitkisel esansiyel yağ ideal anestetik madde kriterlerini sağlamaktan uzak görünmektedir.

EcEO'nun ana bileşenleri içerisinde 1,8-Cineole bileşeni %34,26'lık bir oranla yer almaktadır (Tablo 2.1). 1,8-Cineole maddesinin balıklar üzerinde anestezi etkilerinin olduğu, sazan ve gökkuşuğu alabalığında derin anesteziyi sağladığı bildirilmektedir (Mazandarani ve Hoseini, 2017; Mirghaed ve ark., 2018; Kızak ve ark., 2020). EcEO'nun lepistes balıkları üzerinde anestezi etki göstermesinde baş aktörün 1,8-Cineole bileşeni olduğu anlaşılmaktadır. Bunun dışında, % 3,22'lik oranıyla linalol bileşeninin de anestezi etkiye neden olduğu söylenebilir. Kızak ve ark. (2018), japon balıkları üzerinde gül ağacı (*Aniba rosaeodora*) ve kafur (*Cinnamomum camphora*) esansiyel yağlarının anestezi etkilerinin olduğunu ve her iki bitkisel esansiyel yağın baskın olarak linalol bileşenini içerdiğini bildirmektedir. Son yıllarda yapılan birkaç araştırmada linalol maddesinin anestezi etkileri ortaya konmuştur (Kızak ve ark., 2018).

ZoEO'nun içeriğinde α -Zingiberene (% 32,53), α -Curcumene (% 18,72), β -Phellandrene (% 7,01), Geranial (% 6,27), α -Farnesene (% 5,41), Camphene (%5,05) ve Germacrene (% 3,26) ana bileşenleri yer almaktadır (Tablo 2.1). Silva ve ark. (2020) yaptıkları çalışmada, zencefil (*Z. officinale*) esansiyel yağında en yüksek oranda bulunan bileşiğin α -Zingiberene olduğunu, fakat tek başına anestezi nitelikte olduğuna dair bir bulgularının olmadığını bildirmektedir. Bununla birlikte, diğer bileşenlerin de anestezide rol oynayabileceğini iddia etmektedir. Nitekim, bazı bileşenlerin anestezi özellikleri hakkında araştırmalar mevcuttur. Gümüş yayın balığında anestezi etkiye sahip olan *Lippia alba* esansiyel yağında yüksek oranda geranial (% 30,02) bileşeni bulunmaktadır (Becker ve ark., 2018). Germacrene yönünden zengin esansiyel yağların farelerde antinosiseptik etkileri olduğu gözlemlenmiştir (Mishra ve ark., 2010). Mevcut çalışmadaki bulgulara ve literatüre göre, ZoEO içeriğinde yer alan birkaç bileşenin birleşik olarak lepistes balıkları üzerinde anestezi etkiye sebep olduğu söylenebilir.

Balıkların anestezi edilmesi, elle yapılan müdahalelerde meydana gelebilecek stres ve yaralanmaları önler yada en aza indirger. Anestezi prosedürde indüksiyon ve iyileşme zamanlarının ideal süreler içinde olması elzemdir. Derin Anestezi 3 dk'dan az bir süre içinde gerçekleşmeli, tam iyileşme (ayılma) ise 5 dk'dan daha uzun sürmemelidir (Ross ve Ross, 2008). Verilen bu aralıklar balıklara yapılacak müdahaleler için yeterli sürelerdir (Weber ve ark., 2009). Süre bakımından bu kriterler göz önünde bulundurulduğunda, EcEO ve ZoEO'nun lepistes balıkları için etkili birer anestetik madde olduğunu söylemek zordur. EcEO için en etkili konsantrasyon 1600 μ l/lt (A_D ; $R_F \rightarrow 745 \pm 14,3$ sn ; $512 \pm 10,3$ sn) (Şekil 3.2 ve Şekil 3.4), ZoEO için 1600 μ l/lt (A_D ; $R_F \rightarrow 360 \pm 3,4$ sn ; $450 \pm 7,2$ sn)

(Şekil 3.6 ve Şekil 3.8) ve 2-PE için 1000 µl/lit (A_D ; $R_F \rightarrow 94 \pm 1,4$ sn ; $196 \pm 1,3$ sn) (Şekil 3.10 ve Şekil 3.12) olarak belirlenmiştir. Buradaki sonuçlara göre, balıklarda anestezi için süre kriterlerine göre sadece 2-PE kimyasal ajanının ideal bir anestetik madde olduğu ortaya çıkmaktadır. EcEO ve ZoEO'nun hem derin anestezi hem de tam iyileşme süreleri ideal sınırların oldukça dışındadır. Güney Amerika yayın balığı (*Pseudoplatystoma reticulatum*) üzerinde yapılan bir çalışmada, zencefil esansiyel yağının yüksek indüksiyon sürelerine sebep olması nedeniyle ideal anestezi bakımından istenen zaman kriterlerini sağlayamadığı bildirilmektedir (Silva ve ark., 2020).

EcEO, ZoEO ve 2-PE maddelerinde konsantrasyon ve indüksiyon süresi arasında önemli derecede negatif bir ilişki olduğu görülmektedir. Bu durum, esansiyel yağlarla yapılan birçok çalışmada karşılaşılan bir olgudur (Cunha ve ark., 2010; Kızak ve ark., 2018; Can ve ark., 2019; Kızak ve ark., 2020; Silva ve ark., 2020). Denenen her üç anestetik maddede konsantrasyon artışına bağlı olarak A_D süreleri kısalmış olsa da, R_F sürelerinin farklılık gösterdiği kaydedilmiştir (Tablo 3.1) ($p < 0,05$). R_F süreleri konsantrasyon artışı sonucu 2-PE'de uzarken (Şekil 3.12), EcEO'da kısalmıştır (Şekil 3.4). ZoEO'da ise konsantrasyon artışıyla ilk başta süreler uzarken, 1200 µl/lit sonrasında kararsız bir şekilde aşağı eğilim göstermiştir (Şekil 3.8). Bu bulguya benzer bir durum Silva ve ark. (2020) tarafından bildirilen araştırmayla benzerlik arz etmektedir. İlgili çalışmada, zencefil esansiyel yağının yüksek konsantrasyonlarında R_F süreleri ilk başta artarken, son yüksek konsantrasyonda R_F süresinde azalma yönünde bir sonuca ulaşmışlardır.

Genel olarak anesteziyen iyileşme durumuna geçme, anesteziğin konsantrasyonuna bağlıdır (Weyl ve ark., 1996). EcEO anestetik maddesinde A_D ve R_F süreleri arasında kuvvetli pozitif bir ilişki kaydedilirken ($R^2 = 0,9632$) (Şekil 3.13), ZoEO ve 2-PE'de A_D ve R_F süreleri arasında kuvvetli negatif bir ilişki kaydedilmiştir ($R^2 = 0,847$; $R^2 = 0,648$) (Şekil 3.14 ve Şekil 3.15). *L. alba* esansiyel yağında artan anestetik konsantrasyonların hem indüksiyon hem de iyileşme sürelerinde azalmaya neden olduğu (Sena ve ark., 2016), *C. flexuosus* esansiyel yağı anestetik maruziyetinde ise iyileşme süresinde azalma olduğu bildirilmektedir (Limma-Netto ve ark., 2016). İndüksiyon ve iyileşme süreleri arasında negatif ilişki birkaç çalışmada kaydedilmiştir (Weyl ve ark., 1996; Can ve ark., 2018; Kızak ve ark., 2018; Kızak ve ark., 2020).

Bitkisel esansiyel yağlar ve bunların etken maddeleri ile yapılan anestezi çalışmalarında, balıklarda anormal yüzme davranışları, kas kasılması, öksürme, solunum

kesme, lateral bölgede siyah bant oluşumları gibi bir takım yan etkilerden bahsedilmektedir (Mazandarani ve ark., 2017; Mirghaed ve ark., 2018; Kızak ve ark., 2020). Deri renginde ve desenlerde, siyah ve hafif gölgelenme şeklindeki bant oluşumları ile meydana gelen değişimler balıklarda stresi işaret etmektedir (Van der Salm ve ark., 2006; Rezende ve ark., 2017). Mevcut çalışmada lepistes balıkları üzerinde EcEO, ZoEO ve 2-PE anestetik maddelerinin herhangi bir yan etkisi gözlemlenmemiştir. Buna rağmen, EcEO ve ZoEO'nun karakteristik kokuları konsantrasyon artışına bağlı olarak artmakta ve uygulayan için bir süre sonra hafif şiddette rahatsız edici boyuta ulaşabilmektedir. ZoEO etanol ile beraber suya karıştırıldığında suyu bulanıklaştırmakta, bu da gözlem yapmayı zorlaştırmaktadır.



4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması sonucunda, akvaryum dünyasında önemli bir balık türü olan lepidistes balıkları üzerinde kakule ve zencefil bitkilerinden elde edilen esansiyel yağların ve 2-PE'ün anestezik etkileri araştırılmış, optimal konsantrasyonları belirlenmeye çalışılmıştır.

Genel olarak ideal bir anestetik maddeden beklenenler şunlardır;

- Ucuz olması
- Kolay bulunması
- Pratik uygulanması
- Uygulayana ve balığa zararlı olmaması
- Uygulama konsantrasyonlarının ekonomik olması
- İdeal sürelerde anestezi etmesi ve iyileşme süresinin kısa olması

Elde edilen bulgular, EcEO ve ZoEO'nın kısmen etkili anestetik maddeler olduğunu gösterse de, her iki bitkisel esansiyel yağ ideal anestetik madde kriterlerini sağlamaktan uzak görünmektedir. Uygulayanlarda koku ve gözlem açısından zorluklar içermeleri yanında anestezi ve iyileşme süreleri bakımından istenen sürelerin oldukça dışındadırlar. Üstelik anesteziyi sağlayabilmek için yüksek konsantrasyonlarda esansiyel yağ kullanılması uygulamanın ekonomik olmasını engellemektedir. Uzun anestezi ve iyileşme süreleri nedeniyle, analjezik özelliklere sahip EcEO ve ZoEO'ları anestetik madde bağlamında potansiyel bitkisel esansiyel yağlar olarak değerlendirilme olasılıkları azdır. Bununla birlikte, özellikle EcEO ile balık transferi çalışmalarının yapılabileceği ön görülmektedir ve bu yönde fizyolojik stres çalışmalarına ihtiyaç olduğu göz ardı edilmemelidir.

5.KAYNAKLAR

- Alpbaz, A.,** 1993. Akvaryum tekniği ve balıkları. ege üniversitesi, *Su Ürünleri Fakültesi*, İzmir, 403 s.
- Alpbaz, A.,** 2000. Akvaryum balıkları ansiklopedisi. Alp Yayıncılık, 556s.
- Alpbaz, A.,** 2001. Akvaryum balıkları ansiklopedisi. Alp Yayıncılık, Bornova, 214s.
- Amin, G. H.,** 2001. Cumin. In K.V. Peter (Eds.), *Handbook of Herbs and Spices*; (Vol. 1, pp. 164-167). Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited.
- Barbas, L. A. L., M. Hamoy, V. J. de Mello, R. P. M. Barbosa, H. S. T. de Lima, M. F. Torres, L. A. S. do Nascimento, J. K. do Rosário da Silva, E. H. de Aguiar Andrade, M. R. F. Gomes.,** 2017. Essential oil of citronella modulates electrophysiological responses in Tambaqui *Colossoma macropomum*: a new anaesthetic for use in fish. *Aquaculture* , 479:60–68.
- Başaran, F., Şen, H., Karabulut, Ş.,** 2007. Effects of 2- Phenoxyethanol on survival of normal juveniles and malformed juveniles having lordosis or nonfunctional swimbladders of European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L., 1758). *Aquaculture Research*, 38: 933 – 939.
- Becker, A. J., Fogliarini, C.O., Souza, C.F., Becker, A.G., Mourão, R.H.V., Silva, L.V.F., Baldisserotto, B.,** 2018. Ventilatory frequency and anesthetic efficacy in silver catfish, *Rhamdia quelen*: a comparative approach between different essential oils. *Revista Brasileira de Zootecnia* ,47. DOI: [10.1590/rbz4720170185](https://doi.org/10.1590/rbz4720170185)
- Brum A., S.A. Pereira, M.S. Owatari, E.C. Chagas, F.C.M. Chaves, J.L.P. Mouriño, M.L. Martins.,** 2017. Effect of dietary essential oils of clove basil and ginger on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following challenge with *Streptococcus agalactiae*. *Aquaculture*, 468 (2017), pp. 235-243, [10.1016/j.aquaculture.2016.10.020](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.10.020)
- Bodur T., Afonso J. M., Montero D., Navarro A.,** 2018. Assessment of effective dose of new herbal anesthetics in two marine aquaculture species: *dicentrarchus labrax* and *Argyrosomus regius*. *Aquaculture* 482 78–82.
- 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., Başusta, S., Karataş, B.,** 2018a. Anesthetic efficiency of 2-phenoxyethanol on broodstock of *Salmo munzuricus*, a new trout species originating from Munzur stream. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24 (2): 233-237.

- Can, E., Kızak, V., Özçiçek, E., Can S.S.,** 2018b. Anesthetic potential of geranium (*Pelargonium graveolens*) oil for two cichlid species, *Sciaenochromis fryeri* and *Labidochromis caeruleus*. *Aquaculture* 491: 59–64.
- 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.
- Correia A.M., Pedrazzani A.S., Mendonça R.C., Massucatto A., Ozorio R.A. and M.Y. Tsuzuki,** 2018. Basil, tea tree and clove essential oils as analgesics and anaesthetics in *Amphiprion clarkii* (Bennett, 1830). *Braz. J. Biol.*, 78(3):1-7. doi.org/10.1590/1519- 6984.166695
- Coyle, S. D., Durborow, R. M., & Tidwell, J. H.,** 2004. Anesthetics in aquaculture. Southern Regional Aquaculture Center .*SRAC Publicaton* No: 3900, 6 pp.
- Çetinkaya, O.,** 1991. Akşehir Gölü su kalitesi, plankton ve bentik faunası üzerine bir araştırma. *Göller Bölgesi Tatlı Su Kaynaklarının Korunması ve Çevre Sorunları Sempoiumu*, s. 413-429.
- Cunha, M.A., Barros, F.M.C., Oliveira Garcia, L., Lima Veeck, A.P., Heinzmann, B.M., Loro, V.L., and Baldisserotto, B.,** 2010. Essential oil of *Lippia alba*: A new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*, 306 (1–4) (15 August): 403–406.
- Evren, M., Tekgüler, B.,** 2011. Uçucu yağların antimikrobiyel özellikleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 9 (3): 28-40.
- FDA.,** 2002. Guidance for industry status of clove oil and eugenol for anesthesia of fish. *Rockville: Center for Veterinary Medicine*. Technical paper.
- Fernández-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. DOI: 10.1053/j.jepm.2017.08.003
- Ghazilou, A., Chenary, F.,** 2011. Evaluation of rosemary oil anesthesia in carp. *Journal of Veterinary Research* 15:112–118.
- Hekimoğlu, M.A.,** 1997. Türkiye’de pazarlanan lepistes varyeteleri (*poecilia reticulata*) üzerine araştırmalar, *E.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Bölümü*, Doktora Tezi, İzmir, 154 s.
- Houde, A. E.,** 1997. Sex, color and mate choice in guppies. New Jersey: Princeton University Pres.
- Hoseini, S.M., Taheri Mirghaed, A. and Yousefi, M.,** 2018. Application of herbal anaesthetics in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 1–15.

- Imanpoor MR, Bagheri T, Hedayeti SAA.,** 2010. The anesthetic effects of clove essence in persian sturgeon (acipen serpersicus). *World J Fishand Marine Sci*, 2 (1): 29-36.
- Jeena, K., V.B. Liju, R. Kuttan.,** 2013. Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive activities of essential oil from ginger. *Indian J. Physiol. Pharmacol.*, 57 (1) (2013), pp. 51-62.
- Kanyılmaz, M., Sevgili, H., Erçen, Z., Yılayaz, A.,** 2007. Karanfil yağının balık anesteziği olarak kullanımı. *Akdeniz Su Ürünleri Araştırma, Üretim ve Eğitim Enstitüsü, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Türkiye.*
- Kaplan, H.,** 2005. Zencefilin (*Zingiber Officinale Roscoe*) bitkisel özellikleri ve yetiştiriciliği. *Derim*, 22(2), 1-9.
- Karaca, M., Tütüncü, M., Him, M., Akkan, H.A., Özbek, H.,** 2005. Kakule (*Elettaria Cardamom L.*) uçucu yağ ekstresinin antienflamatuvar aktivitesinin sıçanlar üzerinde araştırılması. *YYÜ Vet. Fak. Derg.*, 16 (2): 27-30.
- Karaçuha, A.,** 2006. Lepistes balıklarının (*poecilia reticulata peters, 1859*) akvaryum balık yemi ve bazı canlı yemlerle beslenmesinin balığın büyüme ve üreme parametreleri üzerine etkileri, *Doktora Tezi*, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Karakaya, E.,** 2003. *Chenopodium botrys* türü üzerinde fitokimyasal araştırmalar. *Yüksek Lisans Tezi*, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla, 127s.
- Kızak V., Guner Y., Kayım M., Can, E.,** 2013. The effects of clove oil on adult males and females of rainbow trouts (*Oncorhynchus mykiss*) and brown trouts (*Salmo trutta fario*). *J Food Agri Environ*, 11:1542-1545.
- Kızak, V., Can, E., Danabaş, D., Seyhaneyıldız Can, S.,** 2018. Evaluation of anesthetic potential of rosewood (*Aniba rosaeodora*) oil as a new anesthetic agent for goldfish (*Carassius auratus*), *Aquaculture*, 493: 296-301.
- Kızak, V., Can, E., Can, Ş. S.,** 2020. Potential anesthetic properties of Bay Leaf (*Laurus nobilis*) essential oil compared with 2-Phenoxyethanol on Blue Dolphin Cichlid, *Cyrtocara moorii*. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*.
- Koçak, V.,** 2018. Farklı konsantrasyonlardaki 2-Fenoksietanol ve karanfil yağının sarı prenses (*Labidochromis caeruleus*) ve ahli (*Sciaenochromis fryeri*) yavru bireyleri üzerine olan anestetik etkileri. *Yüksek Lisans Tezi*, Munzur Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Tunceli.
- Koçak, V., Can, E.,** 2019. 2-fenoksietanol ve karanfil esansiyel yağının sarı prenses (*labidochromis caeruleus*) ve ahli (*sciaenochromis fryeri*) balıkları üzerine anestetik etkileri. *Research Journal of Biology Sciences*, 12(2), 13-21.

- Küçük, S.**, 2010. Efficacy of tricaine on poecilia latipinna at different temperatures and concentrations. *African Journal of Biotechnology*, 9(5): 755-759.
- Küçükosman , N.**, 2019. Karanfil (*eugenia caryophyllata*), nane (*menta piperita*) ve lavanta (*lavandula angustifolia*) bitkilerinden elde edilen esansiyel yağların japon balıklarında (*carassius auratus linnaeus*, 1758) anestezi etkilerinin araştırılması ve uygun dozun belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*. Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balık Teknolojisi Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Ordu.
- Silva, L. A., Martins, M. A., Santo, F. E., Oliveira, F. C., Chaves, F. C. M., Chagas, E. C., ... & de Campos, C. M.** 2020. Essential oils of ocimum gratissimum and zingiber officinale as anesthetics for the south american catfish pseudoplatystoma reticulatum. *Aquaculture*, 528, 735595.
- Limma-Netto, J.D., Sena,A.C., Copatti, C.E.**, 2016. Essential oils of ocimum basilicum and cymbopogon flexuosus in the seda-tion, anesthesia and recovery of tambacu (piaractus mesopotamicus male x colossoma macropomum female). Boletim do Instituto de Pesca, 42(3): 727-733. <http://dx.doi.org/10.20950/1678-2305.2016v42n3p727>.
- Marking, L. L., & Mayer, P. P.**, 1985. Are better anesthetics needed in fisheries. *Fisheries*, 10, 2–5.
- Marsic-Lucic, J., Mladineo, I., & Tudor, M.**, 2005. Comparative effectiveness of 2-phenoxyethanol and propiscin as anesthetics for juvenile sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquaculture International*, 13: 543–553.
- Mazandarani, M., Hoseini,S.M.,Ghomhani, M.D.**,2017. Effects of linalool on physiological responses of Cyprinus carpio (Linnaeus,1758) and water physico chemical parameters during transportation: *Aquac. Res.* 48, 5775-5781.
- Mishra, D., Bisht, G., Mazumdar, P.M., Sah, S.P.**, 2010. Chemical composition and analgesic activity of Senecio rufinervis essential oil. *Pharm. Biol.* 48 (11), 1297–1301. <https://doi.org/10.3109/13880209.2010.491083>
- 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 gillhead sea bream (*Sparus auratus*) at different temperature. *Aquaculture*, 246: 467-481. doi: 10.1016/j.aquaculture.2005.02.046
- Parodi, T. V.; Cunha, M. A.; Becker, A. G.; Zeppenfeld, C. C.; Martins, D. I.; Koakoski, G.; Barcellos, L. G.; Heinzmann, B. M. and Baldisserotto, B.**, 2014. Anesthetic activity of the essential oil of Aloysia triphylla and effectiveness in reducing stress during transport of albino and gray strains of silver catfish, Rhamdia quelen. *Fish Physiology and Biochemistry*, 40:323-334. <https://doi.org/10.1007/s10695-013-9845-z>

- Pawar, H. B., Sanaye, S. V., Sreepada, R. A., Harish, V., Suryavanshi, U., Ansari, T., & Ansari, Z. A.,** 2011. Comparison of efficacy of four anaesthetic agents in the Yellow Seahorse, *Hippocampus kuda* (Bleeker, 1852). *Aquaculture*, 311: 155-161. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2010.12.007.
- Pedrazzani, A. S., A. O. Neto.,** 2016. The anesthetic effect of camphor (*Cinnamomum camphora*), clove (*Syzygium aromaticum*) and mint (*Mentha arvensis*) essential oils on clown anemonefish, *Amphiprion ocellaris* (Cuvier 1830). *Aquaculture Research*, 47:769–776.
- Resende, R., Resende, M., Silva, F.,** 2017. Assessing the expected response to genomic selection of individuals and families in *Eucalyptus* breeding with an additive-dominant model. *Heredity* **119**, 245–255
- Roohi, Z., M. R. Imanpoor.,** 2015. The efficacy of the oils of spearmint and methyl salicylate as new anesthetics and their effect on glucose levels in Common Carp (*Cyprinus carpio* L 1758) juveniles. *Aquaculture*, 437:327–332.
- Ross, L. G., Ross, B.,** 2009. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. *John Wiley & Sons*.
- Özgüven M., Sekin S., Gürbüz B., Şekeroğlu N., Ayanoğlu F. ve Ekren S.,** 2005. Tütün, tıbbi ve aromatik bitkiler üretimi ve ticareti. *Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi*, 1, s.481-501.
- Sakurai, A., Sakamoto, Y. and Mori, F.,** 1992. Aquarium fish of the world. Chronicle Books, San Francisco, U.S.A.
- Santos A.C., Junior G.B., Zago D.C., Zeppenfeld C.C., Silva D.T., Heinzmann B.M., Baldisserotto B. and M.A. Cunha,** 2017. Anesthesia and anesthetic action mechanism of essential oils of *Aloysia triphylla* and *Cymbopogon flexuosus* in silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Vet Anaesth Analg*, 44:106-113. DOI: 10.1111/vaa.12386
- 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. DOI:10.1016/j.aquaculture.2016.09.033
- Serezli, R., Okumuş, İ., Akhan, S.,** 2005. Akuakültürde anestezinin kullanımı. www.akuademi.net/USG/USG2005/Y/y14pd. Aralık, 2020.
- Silva, L. Augusto, Martins, M. Aranha, Santo, F. Espírito, Oliveira, F. Cristina, Chaves, F. Célio Maia, Chagas, E. Campos, Martins, M. Laterça, & de Campos, C. Meldau.,** 2020. Essential oils of *Ocimum gratissimum* and *Zingiber officinale* as anesthetics for the South American catfish *Pseudoplatystoma reticulatum*. *Aquaculture*, 528, . doi: [10.1016/j.aquaculture.2020.735595](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735595)

- Singh, G., Maurya, S., Catalan, C., deLampasona, M.P.,** 2005. Studies on essential oils, part 42: chemical, antifungal, antioxidant and sprout suppressant studies on ginger essential oil and its oleoresin. *Flavour Fragr. J.* 20, 1–6. <https://doi.org/10.1002/ffj.1373>.
- Summerfelt, R.C., Smith, L. S.,** 1990. Anesthesia, surgery, and related techniquesin methods for fish biology, (Ed: Schreck, C.B. ve Moyle, P. B.). *American Fisheries Society Bethesda, USA*, 213-263.
- Şahin, Y.** 1999. A'dan Z'ye Akvaryum. İnkılap Kitabevi, 320 s, İstanbul.
- Tamaru, C., Carlstrom-Trick, C., Fitzgerald, W. J.,** 1996. Clove oil, minyak cengkeh, a natural fish anesthetic. *Proc. PACON*, 95: 365–371.
- Tisserand, R ve Balacs, T.,** 1999. Essential oil safety. *A Guide for Health Care Profesionals*, Harcourt, Glasgow.
- Türkmen, G., Alpbaz A.,** 2001. Türkiye'ye ithal edilen akvaryum balıkları ve sonuçları üzerine araştırmalar. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 18(3-4): 483-493.
- URL-1,** 2020. <https://blog.juenpetmarket.com/lepistes-baligi-hakkinda/> Aralık, 2020.
- URL-2,** 2020. <https://www.hurriyet.com.tr/kelebek/saglik/kakule-nedir-kakulenin-faydalari-neler-41040279> Aralık, 2020.
- URL-3,** 2020. <https://www.medicalpark.com.tr/zencefilin-faydalari/hg-1701> Aralık, 2020.
- Yanar, M., Kumlu, M.,** 2001. The anaesthetics effects of quinaldine sulphate and/or diazepam, on sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juvenile. *Turkish Journal Veterinary Animal Sciences*, 25(2): 185-189.
- Yanar, M., Genç, E.,** 2004. Farklı sıcaklıklarda kinaldin sülfatın diazepam ile birlikte kullanılmasının *Oreochromis niloticus* L. 1758 (Cichlidae) üzerindeki anestezi etkileri. *Turkish Journal Veterinary Animal Sciences*, 28: 1001-1005.
- Velisek J., Wlasow T., Gomulka P., Svobodova Z. and L. Novotny,** 2007. Effects of 2-phenoxyethanol anaesthesia on sheatfish (*Silurus glanis* L.). *Vet Med - Czech*, 52:103-110. DOI:10.17221/2011-VETMED
- Yıldırım, M., Genç, E., Yıldırım, Y.B.,** 2009. Fish surgery and anaesthesia practices. XV. *Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu*; Rize, Türkiye.
- 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. 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. *Aquac Res*, 27:757-764. doi.org/10.1046/j.1365-2109.1996.t01-1-00791.x
- Zahl, I. H., Kissling, A., Samuelsen, B. O., Hansen, K. M., 2009.** Anaesthesia of atlantic cod (*Gadus morhua*) Effect of Pre-Anaesthetic sedation and importance body weight, temperature and stress. *Aquaculture*, 295, 52-59.



