

T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANA BİLİM DALI



**JAPON BALIĞI (*Carassius auratus*) İÇİN UZUN SÜRELİ KAPALI
ORTAM TRANSFERLERİNE YÖNELİK OPTİMUM HAFİF
SEDASYON KONSANTRASYONLARININ DAVRANIŞ
VESTRES İNDİKATÖRLERİYLE BİRLİKTE BELİRLENMESİ**

ABDULHAMİD A. M. JABBR

DOKTORA TEZİ

DR. ÖĞR. ÜYESİ Ş. ŞENOL PARUĞ

OCAK - 2025
KASTAMONU

TEZ ONAYI

Abdulhamid A. M. JABBR tarafından hazırlanan “**JAPON BALIĞI (*Carassius auratus*) İÇİN UZUN SÜRELİ KAPALI ORTAM TRANSFERLERİNE YÖNELİK OPTİMUM HAFİF SEDASYON KONSANTRASYONLARININ DAVRANIŞ VE STRES İNDİKATÖRLERİYLE BİRLİKTE BELİRLENMESİ**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı **03.01.2025** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Su Ürünleri Yetiştiriciliği Ana Bilim Dalı Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Dr. Öğr. Üyesi Ş. Şenol PARUĞ Kastamonu Üniversitesi
2. Tez Danışmanı	Doç. Dr. Hüseyin Serkan EROL Kastamonu Üniversitesi
Jüri Üyesi	Prof. Dr. Ahmet Regaib OĞUZ Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Bayram KIZILKAYA Onsekiz Mart Üniversitesi
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Ekrem MUTLU Kastamonu Üniversitesi
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Osman Sabri KESBİÇ Kastamonu Üniversitesi

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Enstitü Müdürü Doç. Dr. Selçuk MEMİŞ

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.

Abdulhamid A. M. JABBR

ÖZET

DOKTORA TEZİ

JAPON BALIĞI (*Carassius auratus*) İÇİN UZUN SÜRELİ KAPALI ORTAM TRANSFERLERİNE YÖNELİK OPTİMUM HAFİF SEDASYON KONSANTRASYONLARININ DAVRANIŞ VESTRES İNDİKATÖRLERİYLE BİRLİKTE BELİRLENMESİ

ABDULHAMİD A. M. JABBR

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ YETİŞTİRİCİLİĞİ ANA BİLİM DALI
DANIŞMAN:DR. ÖĞR. ÜYESİ Ş. ŞENOL PARUĞ
2. DANIŞMAN:DOÇ. DR. HÜSEYİN SERKAN EROL

Bu çalışmada, Japon balığı (*Carassius auratus*) bireylerinde karanfil yağının anestezi ve sedatif etkileri detaylı bir şekilde değerlendirilmiştir. Deneylerde kullanılan balıkların ortalama ağırlığı 10,56 g olarak ölçülmüştür. Çalışmanın ilk aşamasında, balıkların 3 dakika içinde derin anesteziye ulaşmasını ve 5 dakika içinde tamamen ayılmasını sağlayan optimum konsantrasyonlar belirlenmiştir. Anestezi denemelerinde karanfil yağı, 30 µL/L, 45 µL/L, 60 µL/L ve 75 µL/L konsantrasyonlarında uygulanmış, elde edilen verilere göre en uygun anestezi konsantrasyonlarının 45 µL/L ve 60 µL/L olduğu tespit edilmiştir. Bu konsantrasyonlarda, balıkların bayılma ve ayılma süreleri dengeli bir seyir göstermiştir.

Anestezi deneylerinin tamamlanmasının ardından, karanfil yağının uzun süreli etkilerini değerlendirmek amacıyla 24 saat, 48 saat ve 72 saat süreli sedasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Bu süreçte, farklı konsantrasyonların balık davranışları, yaşama oranları, su kalitesi ve kortizol seviyeleri üzerindeki etkileri analiz edilmiştir. Sedasyon deneylerinde kullanılan konsantrasyonlar 3 µL/L, 4,5 µL/L, 6 µL/L ve 7,5 µL/L olarak belirlenmiş, bu konsantrasyonların etkinliği detaylı olarak incelenmiştir. Sedatif etkiler açısından en uygun konsantrasyonun 6 µL/L olduğu belirlenmiş, bu konsantrasyonda balıkların genel olarak sakin davranışlar sergilediği ve yaşama oranlarının yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Daha düşük konsantrasyonlarda sedasyonun yeterli olmadığı, daha yüksek konsantrasyonlarda ise uzun süreli maruziyetin olumsuz etkiler yaratabileceği görülmüştür.

Sedasyon sonrasında balıklardan alınan kan örneklerinde plazma kortizol seviyeleri analiz edilmiştir. En düşük kortizol seviyesinin 6 µL/L konsantrasyonunda elde edildiği belirlenmiştir. Kortizol değerleri açısından, 6 µL/L'nin altında kalan konsantrasyonlarda sedatif etkinin yeterince güçlü olmadığı, 7,5 µL/L konsantrasyonunda ise uzun süreli maruziyetin stres faktörlerini belirli ölçüde artırabileceği gözlemlenmiştir. Bu veriler, karanfil yağının Japon balıklarında sedatif olarak güvenli ve etkili bir ajan olabileceğini göstermektedir.

Deney sonuçları, özellikle sektörel uygulamalarda ve canlı balık transferlerinde stresin kontrol altına alınması açısından karanfil yağının önemli bir alternatif oluşturabileceğini ortaya koymaktadır. Anestezi olarak 45 µL/L ve 60 µL/L, sedatif olarak ise 6 µL/L konsantrasyonları, Japon balıklarının refahını artırmak ve çevresel stres faktörlerini en aza

indirmek açısından uygun seçenekler olarak değerlendirilmiştir. Bu bulgular, canlı balık taşımacılığı ve akuakültür uygulamalarında sedasyonun yaygınlaştırılmasının faydalı olabileceğini göstermektedir.

ANAHTAR KELİMELEER:Anestezik, Karanfil yağı, Japon balığı, 2-Phenoxyethanol, Carassius auratus, Sedasyon, Transfer

Ocak 2025, 106 Sayfa



ABSTRACT

PH.D THESIS

DETERMINATION OF OPTIMUM LIGHT SEDATION CONCENTRATIONS FOR LONG-TERM CLOSED ENVIRONMENT TRANSFERS IN GOLDFISH (*Carassius auratus*) ALONG WITH BEHAVIOR AND STRESS INDICATORS

ABDULHAMİD A. M. JABBR

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

DEPARTMENT OF AQUACULTURE

SUPERVISOR:ASSIST. PROF. DR. Ş. ŞENOL PARUĞ

CO-SUPERVISOR:ASSOC. PROF. DR. HÜSEYİN SERKAN EROL

In this study, the anesthetic and sedative effects of clove oil on goldfish (*Carassius auratus*) individuals were thoroughly evaluated. The average weight of the fish used in the experiments was measured as 10.56 g. In the first phase of the study, optimal concentrations were determined to induce deep anesthesia within 3 minutes and complete recovery within 5 minutes. Clove oil was applied at concentrations of 30 µL/L, 45 µL/L, 60 µL/L, and 75 µL/L in anesthesia trials. Based on the obtained data, the most suitable anesthetic concentrations were identified as 45 µL/L and 60 µL/L. At these concentrations, the induction and recovery times of the fish exhibited a balanced trend.

Following the anesthesia experiments, sedation trials lasting 24 hours, 48 hours, and 72 hours were conducted to assess the long-term effects of clove oil. During these trials, the impact of different concentrations on fish behavior, survival rates, water quality, and cortisol levels was analyzed. The concentrations used in the sedation trials were 3 µL/L, 4.5 µL/L, 6 µL/L, and 7.5 µL/L, and their effectiveness was examined in detail. The most optimal concentration for sedative effects was determined to be 6 µL/L, at which fish exhibited calm behavior and maintained high survival rates. It was observed that lower concentrations did not provide adequate sedation, whereas higher concentrations led to adverse effects with prolonged exposure.

Plasma cortisol levels were analyzed from blood samples collected after sedation. The lowest cortisol level was recorded at the 6 µL/L concentration. Regarding cortisol levels, it was noted that concentrations below 6 µL/L did not exhibit sufficiently strong sedative effects, while the 7.5 µL/L concentration resulted in a moderate increase in stress-related factors due to prolonged exposure. These findings suggest that clove oil could be a safe and effective sedative agent for goldfish.

The results of the study indicate that clove oil may serve as a valuable alternative in controlling stress, particularly in commercial applications and live fish transport. Anesthetic concentrations of 45 µL/L and 60 µL/L, along with a sedative concentration of 6 µL/L, were considered suitable options for enhancing the welfare of goldfish and minimizing

environmental stress factors. These findings suggest that the widespread adoption of sedation practices could be beneficial in live fish transportation and aquaculture applications.

KEYWORDS: Anesthetic, Clove Oil, Goldfish, 2-Phenoxyethanol, *Carassius auratus*, Sedation, Transfer

January 2025, 106 Page



TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının her aşamasında, değerli bilgi ve deneyimleriyle bana rehberlik eden, sũrecin her anında desteğini esirgemeyen ve çalıŐmalarımı titizlikle takip eden saygıdeğer danıŐmanım Dr. Őęr. Őyesi Ő. Şenol Paruğ'a en içten teŐekkũrlerimi sunarım. Deneysel sũrelerde ve laboratuvar çalışmalarında verdikleri kıymetli desteklerden dolayı Doç. Dr. Hũseyin Serkan Erol ve Doç. Dr. Osman Sabri Kesbiç hocalarıma Őũkranlarımı arz ederim. Tezime yapıcı geri bildirimleriyle katkı sağlayan Tez İzleme Komitesi Őyelerine iten teŐekkũr ederim. Deney ortamlarının ve laboratuvar olanaklarının sağlanması desteklerini esirgemeyen Kastamonu Őniversitesi'ne ve ilgili birim yũneticilerine teŐekkũrlerimi iletmek isterim. Son olarak, bu sũre boyunca manevi destekleriyle her zaman yanımda olan aileme minnettarlığımı ifade ederim.

ABDULHAMİD A. M. JABBR

Kastamonu, 2025

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ ONAYI	ii
TAAHHÜTNAME	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR TARAMASI	10
2.1 Balıklarda Stres, Anestezi ve Sedasyon Uygulamaları.....	10
2.1.1 Balıklarda Stres Mekanizması	10
2.1.2 Balıklarda Anesteziye Genel Bakış	11
2.1.3 Balık Anestezisindeki Yöntemler	13
2.1.4 Balık Anestezisinde Yaygın Olarak Kullanılan Ajanlar ve Etkileri.....	15
2.1.5 Balıkların Anestezi Sırasında Sergilediği Davranışlar	23
2.1.6 Balıklarda Sedasyon Uygulamaları	26
2.2 Japon Balığı	28
2.2.1 Genel Özellikleri.....	28
2.2.2 Tarihçesi ve Önemi	30
3. MATERYAL VE YÖNTEM	32
3.1 Materyal	32
3.1.1 Japon Balığı	32
3.1.2 Gözlem, Deney ve Analiz Ortamları	34
3.1.3 Anestezi Deneyleri Sırasında Kullanılan Malzemeler.....	37
3.1.4 Sedasyon Deneylerinde Kullanılan Malzemeler.....	38
3.1.5 Su Kalitesi Ölçümünde Kullanılan Cihazlar.....	39
3.1.6 Kan Örnekleri Elde Etmek ve Plazma Ayırmak için Kullanılan Cihazlar	40
3.1.7 ELISA Kit	41
3.1.8 Yazılımlar	43
3.2 Yöntem.....	44
3.2.1 Stok ve Yaşatma Mekanlarının Ön Hazırlıkları.....	44
3.2.2 Anestezi Uygulamaları	47
3.2.3 Sedasyon Uygulamaları	50
3.2.4 Su Kalite Analizleri	52
3.2.5 Moleküler Analizler için Plazma Elde Edilmesi.....	53
3.2.6 Kortizol Analizi	54
3.2.7 İstatistiksel Analizler	56
4. BULGULAR	59
4.1 Boy ve Ağırlık İlişkisi.....	59
4.2 Anestezi Bulguları	61
4.2.1 Bayılma ve Ayılma Süreleri.....	61

4.2.2	Bayılma ve Ayılma Sırasında Sergilenen Davranışlar.....	65
4.3	Sedasyon Deneyi Bulguları.....	67
4.3.1	Sedasyonun Sonlandırılma Aşamasında Gözlemlenen Balık Davranışları.....	67
4.3.2	Sedasyon Sonrası Su Parametreleri ve Yaşama Oranları	68
4.3.3	Kortizol Seviyeleri	75
5.	TARTIŞMA	79
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	87
	KAYNAKLAR	89
	EKLER.....	104
	EK A. Kastamonu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Kararı	105
	ÖZGEÇMİŞ.....	106



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1 Kapalı torbalar içinde transfer edilen Japon balıkları	33
Şekil 3.2 Akvaryumlara konulan balıklar	33
Şekil 3.3 Genel görünüm.....	34
Şekil 3.4 Kapalı devre sistem ünitesindeki bazı tankların su doldurulmadan önceki görüntüsü	35
Şekil 3.5 Hassas işlemler sırasında kullanılan mikropipet seti	36
Şekil 3.6 Laboratuvar ortamından genel görünüm.....	36
Şekil 3.7 Karanfil yağı	37
Şekil 3.8 Sedasyon uygulamasında torbalara konulan balıklar.....	39
Şekil 3.9 NH ₃ seviyesinin belirlenmesi için kullanılan spektrofotometre	40
Şekil 3.10 Kan plazmasının elde etmek için kullanılan santrifüj cihazı	41
Şekil 3.11 Kortizol analizi için kullanılan ELISA kit	42
Şekil 3.12 ELISA kit içeriği.....	42
Şekil 3.13 Mikroplaka okuyucu	43
Şekil 3.14 Akvaryum ünitesinde bulunan SUMP filtrelerden biri.....	45
Şekil 3.15 SUMP filtre süngerinden elde edilen su	46
Şekil 4.1 Boy-ağırlık ilişkisi	59
Şekil 4.2 Boy dağılım frekansı.....	60
Şekil 4.3 Ağırlık dağılım frekansı.....	60
Şekil 4.4 Farklı anestezi dozlarında sağlanan bayılma süreleri	62
Şekil 4.5 Farklı dozlardaki anestezi uygulamaları sonrasında elde edilen ayılma süreleri	63
Şekil 4.6 24 saatlik sedasyon uygulamaları sonrasında oluşan plazma kortizol miktarları	76
Şekil 4.7 48 saatlik sedasyon uygulamaları sonrasında oluşan plazma kortizol miktarları	77
Şekil 4.8 72 saatlik sedasyon uygulamaları sonrasında oluşan plazma kortizol miktarları	77
Şekil 4.9 24, 48 ve 72 saatlik sedasyon uygulamaları sonrasında oluşan plazma kortizol miktarları.....	78

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.1 Balıklarda anestezi amacıyla uygulanan yöntemler.....	14
Tablo 2.2 Yaygın kullanılan anestezikler ve uygulama dozları.....	22
Tablo 2.3 Balıklarda bayılma ve ayılma aşamalarında sergilenen genel davranışlar	24
Tablo 2.4 Balıkların anestezik maddeye karşı reaksiyonları	25
Tablo 4.1 Karanfil yağının japon balığı üzerinde oluşturduğu davranışsal etkileri.....	66
Tablo 4.2 NK grubunda 24 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri	69
Tablo 4.3 3 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 24 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri	69
Tablo 4.4 4,5 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 24 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri	69
Tablo 4.5 6 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 24 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri	70
Tablo 4.6 7,5 µL/L konsantrasyonda karanfil yağı ile 24 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri.....	70
Tablo 4.7 NK grubunda 48 saatlik sedasyon uygulaması sonrasında su parametreleri, DVS ve YO değerleri.....	71
Tablo 4.8 3 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 48 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri	71
Tablo 4.9 4,5 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 48 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri	72
Tablo 4.10 6 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 48 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri	72
Tablo 4.11 7,5 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 48 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri	72
Tablo 4.12 NK grubunda 72 saatlik sedasyon uygulaması sonrasında su parametreleri, DVS ve YO değerleri.....	73
Tablo 4.13 3 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 72 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri	73
Tablo 4.14 4,5 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 72 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri	74
Tablo 4.15 6 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 72 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri	74
Tablo 4.16 7,5 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 72 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri	74
Tablo 4.17 Sedasyon deneyleri sonrasında ölçülen plazma kortizol miktarlarının uygulama süresine bağlı olarak karşılaştırması.....	76
Tablo 4.18 Sedasyon deneyleri sonrasında ölçülen plazma kortizol miktarlarının toplu olarak karşılaştırması	78

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

°C	: Santigrat Derece
NH ₃	: Amonyak
O ₂	: Oksijen

Kısaltmalar

µL	: Mikrolitre
A1	: 1. ayılma süresi (saniye)
A2	: 2. ayılma süresi (saniye)
B1	: 1. bayılma süresi (saniye)
B2	: 2. bayılma süresi (saniye)
Bkz.	: Bakınız
cm	: Santimetre
dk.	: Dakika
DO	: Çözünmüş oksijen
DVS	: Dakikadaki ventilasyon sayısı
g	: Gram
HK	: Hayatta kalan birey sayısı
Kar. Y.	: Karanfil yağı
Kon	: Konsantrasyon
L	: Litre
mL	: Mililitre
N	: Grup başına örneklem sayısı
ng	: Nanogram
NK	: Negatif kontrol grubu
nm	: Nanometre
OA	: Ortalama ağırlık
Ort.	: Aritmetik ortalama
p	: Sigma değeri
PK	: Pozitif kontrol grubu
ppm	: Milyon birimde bir birim
sn	: Saniye
Std. s.	: Standart sapma
YO	: Yaşama oranı (%)

1. GİRİŞ

Gıda, insanlık tarihi boyunca toplumların refahını ve gelişimini etkileyen temel unsurlardan biri olmuş, gıda üretimindeki değişimler medeniyetlerin yükselişi ve zaman zaman krizler veya çöküşler yaşaması üzerinde belirleyici rol oynamıştır (Bellwood, 2013; Fraser ve Rimas, 2012; Rabie, 2013). İlk tarım toplumlarından sanayi devrimine kadar geçen süreçte, gıda üretim sistemlerindeki dönüşümler, sadece ekonomik ve sosyal yapıları değil, aynı zamanda ekolojik dengeyi de etkilemiştir. Günümüzde ise küresel ekonomik ve demografik değişimler, tarım ve hayvancılık sistemlerini yeniden şekillendirmekte, gıda üretiminin sürdürülebilirliği konusunda ciddi endişelere yol açmaktadır (Bekele ve Bekele, 2017; Dillard, 2019). Dünya nüfusunun hızla artması, besine olan ihtiyacı giderek artırmakta ve küresel gıda güvenliği daha kritik bir mesele haline gelmektedir. Bu nedenle, güvenilir ve sürdürülebilir gıda kaynaklarına duyulan ihtiyaç, her geçen gün artmaktadır. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'ne (FAO) göre, dünya nüfusunun 2050 yılına kadar 9,7 milyara ulaşması beklenmekte olup, bu durum gıda üretimi üzerinde ciddi bir baskı oluşturmaktadır (FAO, 2023). Özellikle hayvansal protein talebinin artması, geleneksel hayvancılık ve balıkçılık yöntemlerinin ekolojik ve ekonomik sürdürülebilirliğini sorgulanır hale getirmiştir. Bu çerçevede, akuakültür sektörü, su ürünleri temelli protein ihtiyacını karşılamak ve artan nüfusa güvenilir bir gıda kaynağı sağlamak açısından stratejik bir çözüm olarak öne çıkmaktadır (Eminçe Saygı, 2024; Fajardo vd., 2022).

Denizlerde ve iç sularda gerçekleştirilen geleneksel balıkçılık faaliyetleri, uzun yıllardır protein ihtiyacının karşılanması için temel bir kaynak olsa da, günümüzde aşırı avlanma, habitat tahribatları, iklim değişikliği ve kirlilik gibi faktörler, doğal balık stoklarını ciddi şekilde tehdit eder hale gelmeye başlamıştır (Arthington vd., 2016; Dulvy vd., 2021; FAO, 2022; Free vd., 2019; Jung ve Cha 2013; Yasmin ve Islam; 2017). FAO'nun 2020 yılı raporuna göre, 2017 yılı itibarıyla dünya genelindeki deniz balıkçılığı stoklarının %34,2'si aşırı avlanmış durumda olup, bu oran 1974 yılında yalnızca %10 seviyesinde olduğu vurgulanmıştır. Aynı raporda, biyolojik olarak sürdürülebilir seviyede olan balık stoklarının oranının 1974'te %90 iken, 2017'de

%65,8'e gerilediği belirtilmiştir. Bu durum, aşırı avlanmanın giderek arttığını ve deniz ekosistemleri ile küresel balıkçılık üretimi üzerinde ciddi bir baskı oluşturduğunu göstermektedir (FAO, 2020). Ticari açıdan değerli türlerin (rneđin ton balığı, morina, uskumru ve karides) popülasyonlarında kayda değer düşüşler yaşanırken, aşırı ve bilinçsiz veya yasadışı avlanma, sadece hedef türleri değil, denizel ve tatlısu ekosistemlerinin genel dengesini de bozarak zincirleme çevresel etkilere yol açmaktadır (Cinner vd., 2018; Juan-Jordá vd., 2011; Hilborn ve Hilborn, 2012; Mota vd., 2014). Bu durum, hem ekolojik hem de ekonomik açıdan ciddi sorunlar oluşturmakta, balıkçılığa bağımlı toplumların geçim kaynaklarını da tehdit etmektedir.

Doğal balık stoklarının azalması, avcılığa dayalı üretimi birçok bölgede sınırlandırırken, bir yandan da küresel gıda talebinin artması, alternatif ve sürdürülebilir üretim sistemlerine olan ihtiyaçı daha da elzem hâle getirmiştir. Özellikle kıyısız bölgelerde, azalan stoklar nedeniyle gelir kaynakları daralan toplumlar, ekonomik zorluklarla karşı karşıya kalmaktadır. Bu koşullar altında akuakültür sektörü, yalnızca insanların beslenme gereksinimlerini karşılamakla kalmayıp, aynı zamanda ekonomik kalkınmaya ve bölgesel istihdama da önemli katkılar sunmaktadır (De Silva ve Yuan, 2022; FAO, 2022; Nie ve Hallerman, 2021; Paruğ vd., 2024).

Küçük lçekli yerel işletmelerden ileri teknolojiye dayalı büyük ölçekli uluslararası ortaklıklara kadar geniş bir yelpazeye yayılan akuakültür faaliyetleri, küresel gıda üretim zincirinin vazgeçilmez bir bileşeni haline gelmektedir (FAO, 2022). Ayrıca, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde akuakültür, gıda güvenliğini sağlamada ve beslenme kalitesini artırmada stratejik bir öneme sahiptir. Bu kapsamda, Norveç, şili, Çin ve Mısır gibi ülkeler, akuakltre yaptıkları yatırımlarla küresel pazarda rekabet avantajı elde etmiş ve yerel ekonomilerini güçlendirmiştir (Ahmed ve Lorica, 2002; Bn vd., 2016; FAO, 2024; Paruğ, 2024; Pradeepkiran, 2019). Ayrıca, avcılığa dayalı üretim, doğadaki değişken çevresel faktörlere bağımlı olduğu için, üretim dalgalanmalarına açık haldeyken; gelişmiş akuakültür sistemlerinde, üreme, beslenme, su sıcaklığı, çözünmüş oksijen seviyesi, pH, çözünmüş haldeki azotlu bileşiklerin seviyeleri gibi kritik öneme sahip biyotik ve abiyotik faktörler, tam kontrollü şekilde ayarlanarak, istikrarlı ve güvenilir üretim süreçleri sunulmaktadır. Böylece, su ürünleri

arzında istikrar sağlanırken, besin zincirinin sürdürülebilirliği korunmakta ve balıkçılık sektöründeki ekonomik dalgalanmalar minimize edilebilmektedir (Boyd vd., 2020; Brune vd., 2003; Jiang ve Li, 2012).

Bununla birlikte, akuakültür sektörünün sürdürülebilir büyümesini sağlamak için uluslararası düzenlemeler ve sertifikasyon programları giderek daha önemli hale gelmektedir. Avrupa Birliği, ABD ve diğer büyük pazarlarda çevresel sürdürülebilirlik kriterleri belirleyen ASC (Aquaculture Stewardship Council) ve MSC (Marine Stewardship Council) gibi sertifikasyonlar, ticari üreticilerin uluslararası standartlara uygun hareket etmelerini teşvik etmektedir. Bu tür düzenlemeler, üretim süreçlerinde çevresel sürdürülebilirliği artırırken, aynı zamanda tüketicilerin bilinçli tercihler yapmasına olanak tanımaktadır (Haas vd., 2020; Olsen vd.; 2021; Vince ve Haward, 2019).

Akuakültürde sürdürülebilir üretimin sağlanmasında, yem kaynaklarının çeşitlendirilmesi ve biyogüvenlik önlemlerinin güçlendirilmesi de önemli bir yer tutmaktadır. Geleneksel olarak balık unu ve balık yağına dayalı yemler, deniz balıkçılığına olan talebi artırarak ekosistemler üzerinde baskı oluşturmaktadır. Bu nedenle, böcek bazlı proteinler (Chatha vd., 2024; Maiolo vd., 2020), mikroalgler ve tarımsal yan ürünlerden elde edilen alternatif yemler, hem ekolojik sürdürülebilirliği desteklemekte hem de yem tedarikinde dışa bağımlılığı azaltarak üretim maliyetlerini optimize etmektedir (Ning vd., 2024). Bununla birlikte, yüksek stok yoğunluğu nedeniyle hastalık yönetimi ve biyogüvenlik, akuakültür sistemlerinde kritik bir konu haline gelmiştir. Antibiyotik kullanımını azaltmak amacıyla probiyotik bazlı yemler, bağışıklık sistemini güçlendiren doğal bileşenler ve aşı uygulamaları giderek daha fazla tercih edilmektedir (Aich vd., 2018; Boyd vd., 2020; Soltani vd., 2017; Yıldırım vd., 2024). Bu yenilikler, modern akuakültür teknikleri ile birlikte çevresel etkinin azaltılmasına ve üretim verimliliğinin artırılmasına katkı sağlamakta olup, sürdürülebilir yetiştiricilik uygulamalarının temel unsurlarından biri haline gelmektedir.

Akuakültür sektörü, yalnızca sucul organizmaların yetiştirilmesine dayalı bir üretim alanı olmanın ötesinde, geniş bir endüstriyel kullanım ağına sahiptir. Özellikle

makroalg ve mikroalglerin üretimi, yenilenebilir enerji kaynakları, ilaç ve sağlık ürünleri, kişisel bakım sanayisi ve tarımsal verimliliği artıran uygulamalar gibi alanlarda değerlendirilmektedir. Bunun yanı sıra, gıda sanayisinde stabilizatör ve emülgatör olarak kullanımı yaygınlaşmakta, biyoplastik üretiminde çevre dostu hammaddeler olarak ön plana çıkmakta ve hayvan yemi sektöründe besleyici katkı maddesi olarak tercih edilmektedir (Chew vd., 2017; Filote vd., 2020; Ma ve Hu, 2024; Nagarajan vd., 2024; Sudhakar vd., 2019). Makroalg ve mikroalg bazlı üretimin artmasıyla, akuakültür yalnızca gıda ve akvaryum canlıları üretimiyle sınırlı kalmayıp, biyoteknoloji, enerji ve sanayi alanları için de önemli bir ekonomik faaliyet haline gelmektedir. Bu geniş kullanım alanları, akuakültürü hem gıda güvenliği hem de düşük karbon ayak izi ve sürdürülebilir kaynak kullanımı açısından kritik bir sektör hâline getirmektedir.

Akuakültürün sunduğu çevresel sürdürülebilirlik çözümleri, sektörü geleneksel hayvancılık faaliyetlerine kıyasla daha avantajlı bir konuma getirmektedir. Geleneksel hayvancılık, yüksek su ve arazi kullanımı, metan emisyonları ve çevresel etkileri nedeniyle uzun vadede sürdürülebilir bir çözüm sunmazken; akuakültür, kontrollü üretim süreçleri sayesinde doğal stoklar üzerindeki av baskısını azaltmakta, su kaynaklarının daha etkin kullanılmasını sağlamakta, karbon ayak izini düşürmekte ve gıda güvenliğini sağlamada stratejik bir rol üstlenmektedir. Bu çevresel sürdürülebilirlik avantajları, akuakültürü geleneksel hayvancılık faaliyetlerine kıyasla daha düşük çevresel maliyetli ve daha verimli bir model haline getirmektedir (Boyd vd., 2020; Henriksson vd., 2018; MacLeod vd., 2020; Nie ve Hallerman, 2021). Akuakültürde, özellikle enerji tüketimi ve karbon ayak izi, sürdürülebilirlik açısından giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Büyük ölçekli tesislerde güneş ve rüzgâr enerjisi gibi yenilenebilir enerji kaynaklarının kullanımı ve jeotermal su kaynaklarından istifade edilmesi, temiz ve düşük maliyetli enerji kullanımı ve karbon salınımını azaltmak için geliştirilen başlıca stratejiler arasındadır (Ferhatoğlu, 2010; Günerhan, 2009; Okumuş, 2020). Ayrıca, kapalı devre su yönetim sistemleri olan Recirculating Aquaculture Systems (RAS) ve su değişiminin minimuma indirildiği Biofloc Teknolojisi (BFT), suyun daha verimli kullanımını sağlayarak atık yönetimini optimize etmekte ve çevresel sürdürülebilirliğe katkıda bulunmaktadır. RAS, biyofiltrasyon, oksijen takviyesi ve kimyasal dengeleme süreçleri sayesinde su

kalitesini koruyarak tekrar kullanım imkânı sunmaktadır. Böylece, su tüketimini azaltırken atık yönetimini iyileştirmekte ve besin geri dönüşümünü desteklemektedir (Badiola vd., 2012; Gupta vd., 2024; Nie ve Hallerman, 2021). BFT ise, organik atıkları yararlı mikrobiyal biyokütleyle dönüştürerek su kalitesini artırmakta, su tüketimini azaltmakta ve çevresel yükü minimize etmektedir (Akange ve Kasan, 2024; Kumar vd., 2024).

Bunun yanı sıra, akuakültür sektörü biyoçeşitliliğin korunması ve ekosistemlerin sürdürülebilirliğinin desteklenmesi açısından da kritik bir role sahiptir. Gıda üretimi, sanayi ve akvaryum balığı ticareti gibi amaçlarla gerçekleştirilen su ürünleri avcılığı ve doğal ortamdan canlı toplama faaliyetleri, özellikle aşırı avlanma ve habitat tahribatı gibi etkenler nedeniyle, bazı türlerin doğal popülasyonlarını olumsuz yönde etkileyebilmekte ve ekosistem dengesinde değişimlere yol açabilmektedir. Buna karşın, kontrollü üretim sistemleri sayesinde akuakültür, doğadan doğrudan avlanmayı (akvaryumlar için olan türler de dahil) azaltarak hassas türlerin korunmasına katkıda bulunmaktadır. Örneğin, ticari olarak yüksek talep gören somon, levrek ve çipura gibi türlerin yetiştiriciliği, bu türlerin doğal popülasyonları üzerindeki av baskısını hafifletmekte ve sürdürülebilir balıkçılık yönetimini desteklemektedir. Ayrıca, genetik iyileştirme çalışmaları, fonksiyonel yem katkıları ve biyogüvenlik uygulamaları gibi yenilikçi yaklaşımlar, hastalık risklerini minimize ederek yetiştiricilik verimliliğini artırmaktadır (Christophe vd., 2025; MacLeod vd., 2020).

Bununla birlikte, sürdürülebilir ve verimli yetiştiricilik yalnızca gelişmiş su kalite takibi, yem optimizasyonu ve hastalık yönetimiyle sınırlı değildir. Yetiştiricilik süreçlerinde uygulanan operasyonel işlemler de doğrudan balık refahını ve dolayısıyla üretim performansını etkilemektedir. Özellikle yüksek stok yoğunluğu, taşıma, aşılama, biyometrik ölçüm, üreme materyali alımı ve boylama gibi işlemler, balıklarda stres oluşturmakta ve bu durum metabolik tepkilerin artmasına ve mortalite oranlarının yükselmesine neden olabilmektedir (Ghanawi vd., 2013; Harmon, 2009). Stres faktörleri yalnızca bireysel sağlık sorunlarına yol açmakla kalmayıp, üretim verimliliği üzerinde de olumsuz etkilere sahiptir. Bu nedenle, operasyonel süreçlerde balık refahını koruyarak kayıpları azaltmak amacıyla anestezi ve sedasyon tekniklerinin kullanımını giderek daha fazla önem kazanmaktadır.

Modern akuakültürde, anestezi ve sedasyon uygulamaları yalnızca stresin kontrol altına alınmasını değil, aynı zamanda fizyolojik süreçlerin stabilizasyonunu ve operasyonel güvenliği de sağlamaktadır. Özellikle aşılama, biyometrik analizler ve nakil gibi işlemler sırasında kullanılan anesteziikler, balıkların hareketlerini kontrol altına alarak fiziksel yaralanma riskini düşürmekte ve ayrıca biyolojik dengelerinin korunmasına yardımcı olmaktadır. Bu kapsamda, kuluçkahanelerde anaç balıklardan üreme materyali alınması, biyometrik ölçümler yapılması ve boylama ve deforme ayrımı gibi işlemler öncesinde anesteziik maddelere sıklıkla başvurulmaktadır (King vd., 2005; Mylonas vd., 2005; Paruğ, 2012). Akuakültürde anesteziik madde kullanımıyla gerçekleştirilen işlemler, uygulama amacına ve hedef türe bağlı olarak farklılık göstermektedir. Derin anestezi genellikle cerrahi müdahaleler için tercih edilirken; hafif sedasyon, nakil veya canlıya elle müdahalenin minimum düzeyde olduğu operasyonlarda kullanılmaktadır. Yaygın anesteziikler arasında Tricaine methanesulfonate (MS-222), 2-fenoksietanol, Benzocaine ve bitkisel kaynaklı karanfil yağı yer almaktadır (Paruğ, 2012; Ross ve Ross, 2008).

Son yıllarda, çevresel sürdürülebilirlik ve insan sağlığı üzerindeki etkileri nedeniyle biyolojik olarak parçalanabilir doğal anesteziik maddelere olan ilgi artmıştır (Bodur vd., 2018; Can vd., 2017; Can vd., 2018; Kızak vd., 2018; Şahin ve Kızak; 2023). Bu bağlamda, eugenol içeriğiyle öne çıkan karanfil yağı, etkin bir anesteziik olmasıyla, stres yönetiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Düşük dozlarda hafif sedasyon sağlayarak nakil sırasında balıkların stres seviyelerini azaltırken, yüksek dozlarda cerrahi müdahaleler için derin anestezi sağlamaktadır (Ballıkaya, 20016).

Anestezi uygulamalarında su sıcaklığı, çözünmüş oksijen miktarı ve balıkların fizyolojik durumu gibi faktörler büyük önem taşımaktadır. Örneğin, yüksek sıcaklıklarda metabolik hızın artması nedeniyle anestezi indüksiyonu hızlanırken, düşük sıcaklıklarda aynı dozun etkisi daha uzun sürebilmekte ve toksisite riski artabilmektedir (Paruğ, 2012). Bu nedenle, her uygulama öncesinde optimum konsantrasyonun ve uygulama süresinin belirlenmesi gerekmektedir (Zahl vd., 2012).

Nakil süreçlerinde sedasyon, akuakültürde stres yönetiminin önemli bir bileşeni haline gelmiştir. Balıkların farklı yetiştiricilik sistemleri arasında taşınması, metabolik

dengenin bozulmasına, oksijen tüketiminin artmasına ve bağışıklık sisteminin baskılanmasına neden olabilmektedir (Harmon, 2009). Özellikle uzun mesafeli taşımalar, su kalitesi değişimleri, sıcaklık dalgalanmaları ve fiziksel manipülasyonlar nedeniyle balıkların ciddi stres faktörlerine maruz kalmasına yol açmaktadır. Hafif sedasyon, metabolizmayı yavaşlatarak, oksijen tüketiminin ve karbondioksit ve azotlu bileşikler salınımının azalmasını sağlayarak, su kalitesini korumakta ve nakil sonrası adaptasyonu hızlandırmaktadır (Sandodden vd., 2001). Böylece, taşıma süreci boyunca balıkların daha stabil bir fizyolojik durumda kalmaları sağlanmakta ve mortalite oranları düşmektedir.

Transfer işlemleri, yavru balıkların kuluçkahaneden çıkıp pazar boyutuna kadar büyütülmek üzere farklı yetiştirme ortamlarına, taşınmasını içermektedir. Ayrıca, doğal ortamlarından yakalanan ve akvaryumlarda dekoratif amaçla kullanılan sucul canlılar da nakil işlemlerine maruz kalmaktadır. Nakil süreci, bu canlılar için önemli bir stres kaynağı olabilmektedir. Özellikle yaz aylarında artan su sıcaklıkları veya uzun mesafeli taşımalar, soğukkanlı canlı olmaları sebebiyle metabolik aktiviteleri hızlanan bu organizmaların fizyolojik dengelerini bozarak stres seviyelerini artırmakta ve mortalite oranlarında yükselişe neden olabilmektedir. Bu nedenle, nakil sırasında sedasyon uygulanması ve yaşama oranlarının artırılması, büyük önem taşımaktadır (Iversen ve Eliassen, 2009; Paruğ, 2012).

Küresel ölçekte değerlendirildiğinde, insan tüketimi için üretilen su canlılarının transferinin yanı sıra, tatlısu ve deniz akvaryumları için taşınan tropikal balıklar ve diğer sucul canlı türlerinin sağlıklı şekilde nakledilmesi de büyük bir öneme sahiptir. Ancak, sektörel uygulamalarda anestezi ajanları, çoğunlukla rutin akuakültür uygulamaları sırasında derin anestezinin sağlanması amacıyla kullanılmaktadır. Transfer işlemlerinde ise, çoğunlukla su sıcaklığının düşürülmesi ve canlıların 1-2 gün öncesinden aç bırakılması yöntemleriyle su kalitesi korunmaya çalışılmaktadır. Canlı balık transfer araçları ile gerçekleştirilen nakillerde çoğunlukla önemli sorunlar yaşanmamakla birlikte, özellikle, kapalı ortamlarda (torba veya taşıma kutuları gibi) gerçekleştirilen transferlerin süresi uzadıkça, su kalitesi bozulmakta ve canlıların bir kısmı, nakil sırasında ve sonraki günlerde ölebilmektedir.

Akuakültürün çok yönlü yapısında yalnızca gıda üretimi değil, aynı zamanda akvaryum balıkları gibi dekoratif türlerin yetiştiriciliği de önemli bir yer tutmaktadır. Kontrollü ortamlarda yapılan üretim, doğal habitatlardan aşırı toplama faaliyetlerini azaltarak sucul ekosistemlerin korunmasına doğrudan katkı sağlamaktadır. Bunun yanı sıra, akvaryum canlılarının doğal ortamlardan toplanması, ekosistemlerin dengelerini bozmakta ve bazı hassas türlerin yok olma riskini artırmaktadır (Domínguez ve Botella, 2014; Tlustý, 2002). Akuakültür teknikleriyle gerçekleştirilen sürdürülebilir üretim, bu baskıları azaltmanın yanı sıra doğal popülasyonların korunmasını ve biyolojik çeşitliliğin devamlılığını sağlamaktadır. Modern üretim yöntemleri sayesinde akvaryum balıkları yetiştiriciliği yalnızca çevresel sürdürülebilirliği desteklemekle kalmayıp, ekonomik olarak da yerel ve uluslararası pazarlarda önemli bir değer oluşturmaktadır.

Transfer süreçlerinde sedasyon uygulamalarının etkinliği giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Bununla birlikte, sektörde bu tür uygulamaların yaygın bir standarda sahip olmaması, balık refahını ve hayatta kalma oranlarını artırma potansiyelinin yeterince değerlendirilememesine neden olmaktadır. Özellikle doğadan toplanan canlıların taşınmasından kaynaklanan çevresel zararlar göz önünde bulundurulduğunda, kontrollü üretimle yetiştirilen süs balığı türlerinin tercih edilmesi, sürdürülebilirlik hedeflerini destekleyen önemli bir alternatif sunmaktadır.

Bu kapsamda, dünya genelinde son derece yüksek rağbet gören Japon balığı (*Carassius auratus*), akvaryum balıkları arasında hem ekonomik hem de bilimsel açıdan dikkat çeken bir örnek olarak öne çıkmaktadır. Bu türün geniş üretim potansiyeli ve dayanıklılığı, onu hem yetiştiricilik hem de taşımacılık süreçlerinde sedasyon ve anestezi tekniklerinin etkinliğini değerlendirmek için ideal bir model organizma haline getirmiştir. Ayrıca, Japon balığının biyokimyasal-metabolik esnekliği, hipoksi gibi çevresel stres faktörlerine karşı gösterdiği direnç ve kardiyovasküler sisteminin yüksek adaptasyon kapasitesi, onu yalnızca sedasyon ve taşımacılık araştırmaları için değil, aynı zamanda daha geniş biyomedikal ve fizyolojik çalışmalarda da değerli bir model organizma haline getirmiştir. Bu tür, kalp fonksiyonlarını çevresel değişimlere uyarlayabilmesi sayesinde, oksijen seviyelerindeki dalgalanmaların etkisini inceleyen kardiyak araştırmalarda yaygın

olarak kullanılmaktadır. Özellikle, nöro-humoral mekanizmalar aracılığıyla kalp performansını modüle edebilmesi ve basit ama esnek kardiyak yapısı, daha karmaşık organizmalarda incelenmesi zor olan fizyolojik süreçleri anlamada önemli avantajlar sunmaktadır (Filice vd., 2021).

Bu çalışmada, sedasyon etkinliği önceki çalışmalarda olumlu bulunmuş bir doğal anestezi olan karanfil yağı (Ballıkaya, 2016) kullanımının, Japon balığı üzerindeki etkileri değerlendirilmiş ve elde edilen sonuçların, sektördeki sürdürülebilir üretim hedeflerine katkı sağlaması ve ayrıca doğadan toplanıp uluslararası nakilleri gerçekleştirilen birçok tür için, sedasyon çalışmalarına örnek teşkil etmesi hedeflenmiştir.

2. LİTERATÜR TARAMASI

2.1 Balıklarda Stres, Anestezi ve Sedasyon Uygulamaları

2.1.1 Balıklarda Stres Mekanizması

Bir organizma, hipoksi, termal stres, insan müdahalesi, ağrı, hastalık, korku veya sıkıntı gibi fizyolojik dengeyi bozabilecek olumsuz koşullarla karşılaştığında, stres yanıtı geliştirir. Bu durumlarda, homeostazı yeniden sağlamak amacıyla çeşitli biyokimyasal ve fizyolojik mekanizmalar devreye girer. Diğer omurgalı canlılarda olduğu gibi, balıklarda da stres yanıtının düzenlenmesinde, kortizol hormonu hayati bir rol oynar. En önemli stres biyoindikatörü olan bu kortizol (Gesto vd., 2015), hipotalamus hipofiz interrenal (HPI) ekseninin koordinasyonu ile salgılanır. Stres sırasında hipotalamus, kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) salgılar ve bu hormon, hipofizde adrenokortikotropik hormonun (ACTH) salınımını uyarır. ACTH ise, interrenal steroidogenik hücreleri aktive ederek kortizol sentezini artırır (Alagöz vd., 2021; Gressler vd., 2014; Martínez-Porchas ve Martínez-Córdova, 2009; Sadoul ve Geffroy, 2019; Yılmaz, 1999).

Kortizol, organizmanın enerji metabolizmasını çok yönlü bir şekilde düzenleyen temel glukokortikoid hormonlardan biridir. Özellikle karaciğerde glukoneogenez sürecini uyararak protein ve lipitlerden glukoz sentezini artırır, böylece kan şekeri seviyesinin korunmasına yardımcı olur (Burt vd., 2013). Aynı zamanda glikoliz mekanizmalarını hızlandırarak hücrelerin enerji ihtiyacını karşılamasına katkı sağlar. Bu metabolik etkiler, özellikle stres, açlık veya uzun süreli fiziksel efor gibi durumlarda organizmanın enerji dengesini sürdürmesini sağlar. Kortizol, sadece enerji metabolizması üzerinde değil, aynı zamanda vücut sıvılarının homeostazı ve iyon dengesi üzerinde de önemli düzenleyici roller üstlenir. Özellikle sodyum ve potasyum dengesinin korunmasında etkili olup, renal su tutulumunu ve elektrolit dengesini kontrol eder. Böylece organizmanın osmotik stabilitesinin korunmasına katkıda bulunur ve homeostatik mekanizmaları destekler (Barton, 2002; Ellis vd., 2012; Iversen ve Eliassen, 2009; Sadoul ve Vijayan, 2016). Bu hormonun plazma seviyesindeki artış, glukoz ve laktat düzeylerinin de yükselmesine neden olur ve bu

parametreler, stres yanıtının bir göstergesi olarak önemli biyolojik belirteçler arasında yer alır (Barcellos vd., 2001; Pankhurst, 2011; Small, 2004). Devam eden stres koşullarında organizmanın fizyolojik dengesi ciddi şekilde bozulmakta, immün sistemi baskılanmakta ve büyüme oranlarında belirgin azalmalar görülmektedir. Aynı zamanda, üreme kapasitesi üzerinde de olumsuz etkiler meydana gelmekte ve bu durum uzun vadede canlının genel sağlığını tehlikeye atmaktadır (Barton, 2002; Ellis vd., 2012). Balıklarda stres yanıtı, çevresel stresörlerin etkisiyle osmoregülasyon süreçlerinin aksamasına, oksijen taşıma kapasitesinin düşmesine ve metabolik dengenin bozulmasına yol açabilmektedir (Sadoul ve Vijayan, 2016). Bu biyolojik tepkilerin temelinde, stres hormonlarından biri olan kortizolün salınımı ve sistemik etkileri yatmaktadır.

Kortizol, balıklarda su ve iyon dengesinin korunmasında kritik bir rol oynarken (Iversen ve Eliassen, 2009), aynı zamanda enerji metabolizmasını da yönlendirmektedir (Ellis vd., 2012). Ancak uzun süreli yüksek kortizol seviyeleri, organizmanın stresle başa çıkma kapasitesini zayıflatarak, büyüme, bağışıklık yanıtı ve üreme süreçleri üzerinde baskı oluşturmaktadır (Barton, 2002). Akuakültür uygulamalarında, stres faktörlerinin yönetilmesi yalnızca üretim süreçlerini değil, aynı zamanda günlük bakım ve taşıma gibi rutin işlemleri de kapsamalıdır. Bu işlemler sırasında stresin en aza indirilmesi ve bunun yol açabileceği olumsuz fizyolojik etkilerin kontrol altına alınması, sürdürülebilir ve sağlıklı balık yetiştiriciliği açısından büyük önem taşımaktadır.

2.1.2 Balıklarda Anestezide Genel Bakış

Geleneksel uygulamalarda, doğal ortamlarda avcılık amacıyla çeşitli bitkilerin çok eski zamanlardan beri kullanıldığı bilinmektedir (Paruğ, 2012). Kültür şartlarında balıkların sakinleştirilmesi amacıyla eterin anestezik madde olarak ilk kez kullanılması ise, 1930'lu yıllara denk gelmektedir ve bu durum, sucul canlıların anestezisine yönelik uygulamalar ve çalışmalar için önemli bir dönüm noktası olmuştur. İlk kez Gökkuşluğu alabalığında eterin kullanılması, beraberinde anestezik maddelerin hem bilimsel araştırmalarda hem de akuakültür uygulamalarında yaygın şekilde kullanılmasının temelini oluşturmuştur (Ballıkaya, 2016; Paruğ, 2012; Summerfelt ve

Smith, 1990). Su ürünleri uygulamalarında, canlıya müdahale edilmesi gereken durumlarda, balıkların hareketlerini kontrol altına almak ve olası zedelenmeleri veya daha şiddetli travmaları bertaraf edebilmek amacıyla, anestezi işlemi uygulanmaktadır. Bunun yanı sıra, stres seviyesini minimuma indirmek ve canlıları sakinleştirmek için sedasyon uygulaması tercih edilmektedir. Ölçüm, tartım, boylama, aşılama gibi akuakültürel rutin uygulamalarda, daldırma (canlının anestezi içeren su ortamına alınması veya canlının bulunduğu su ortamına anestezi madde ilave edilmesi) şeklinde gerçekleştirilen anestezi işlemleri, bazı durumlarda (özellikle büyük veya kıymetli balıklar söz konusu olduğunda) enjeksiyon yoluyla da uygulanabilmektedir (Paruğ, 2012; Summerfelt ve Smith, 1990). Sektörel uygulamalarda anestezi, gonad biyopsisi, aşılama, ölçüm, tartım, deforme bireylerin ayrılması, boylama ve markalama gibi işlemler sırasında kullanılırken, bilimsel araştırmalarda ise biyometrik ölçümler, markalama, kan ve doku numunelerinin alınması ve cerrahi müdahaleler gibi işlemler sırasında, olası ölümleri en aza indirebilmek için uygulanmaktadır. Sedasyon uygulamaları ise, canlıların metabolizma hızının düşürüldüğü ancak hareket kabiliyetinin tamamen kısıtlanmadığı bir yöntem olarak, genellikle balıkların yakalanması veya nakil işlemleri sırasında tercih edilmektedir (Iversen ve Eliassen, 2009). Bu yöntem, hem stresin azaltılmasına hem de işlemlerin daha güvenli bir şekilde gerçekleştirilmesine olanak sağlamaktadır (Başaran vd., 2007; Paruğ, 2012; Summerfelt ve Smith, 1990).

Sucul organizmalarda anestezi ve sedasyon uygulamalarına ilişkin bilimsel çalışmalar, yalnızca temel bilgi birikimini genişletmekle kalmayıp, aynı zamanda akuakültür uygulamalarında ve doğadan yakalanan canlı balıkların nakillerinde uygulanabilir, tür veya anestezi bazlı pratik yaklaşımların geliştirilmesini amaçlamaktadır. Bu çalışmalar, genellikle farklı anestezi maddelerinin etkilerini değerlendirmek için bayılma ve ayılma süreleri ile kortizol seviyelerini dikkate almaktadır (Iversen ve Eliassen, 2009; Iwama vd., 1989; Keene vd., 1998; King vd., 2005; Martínez-Porchas ve Martínez-Córdova, 2009; Ortuño vd., 2002; Pawar vd., 2011; Small, 2004). Bununla birlikte, çevre dostu ve minimum zarara sebebiyet veren organik anesteziğin geliştirilmesi yönündeki araştırmalar, son yıllarda daha fazla önem kazanmaktadır (Gressler vd., 2014; Hoseini vd., 2018; Saccol vd., 2018).

Anesteziklerin uzun süreli kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek olası olumsuz etkileri değerlendirmek amacıyla, letal konsantrasyon (LC₅₀) ve letal süre (LT₅₀) gibi parametreler üzerinden yapılan toksikoloji deneyleri de önemli bir araştırma alanını temsil etmektedir (Paruğ, 2012). Bu parametreler, hem anesteziklerin güvenli konsantrasyon aralıklarının belirlenmesine katkı sağlamaktadır.

2.1.3 Balık Anestezisindeki Yöntemler

Sucul organizmalarda anestezi oluşturma yöntemleri, kimyasal maddelerin kullanıldığı teknikler ile kimyasal madde kullanımını gerektirmeyen yöntemler olmak üzere iki ana başlık altında sınıflandırılmaktadır. Kimyasal anestezi teknikleri, organik veya sentetik bileşiklerin kullanımını içermekte olup, bu maddeler genellikle daldırma (immersiyon), nadiren de enjeksiyon yöntemleri kullanılarak canlı üzerinde etki oluşturulmaktadır. Daldırma metodunda, balıklar, anestezik maddelerin su içinde çözündürülmesi sonucu oluşan çözeltilerden, solungaçları aracılığıyla bu bileşikleri alır ve dolaşım sistemine karıştırır. Bu süreç, merkezi sinir sistemindeki sodyum kanallarının bloke edilmesiyle sinirsel iletimin baskılanmasına yol açmaktadır (Paruğ, 2012). Bu mekanizma, memelilerde kullanılan inhalasyon anestezisine benzer bir işleyişe sahiptir. Enjeksiyon uygulamalarında ise, anestezik bileşiklerin doğrudan kas dokusuna ya da damar içine enjekte edilmesiyle gerçekleştirilir. Hava soluyabilen balıklar (Anabantidae familyası türleri-labirentli balıklar) hipoksik ortamlarda veya anestezik banyolarda solungaç hareketlerini azaltarak madde alımını yavaşlattığından, bu türler için enjeksiyon yoluyla anestezi daha etkili bir yöntemdir (Neiffer ve Stamper, 2009). Bu yöntem ayrıca, büyük boylardaki balıklar için de kullanılabilir.

Kimyasal olmayan teknikler arasında ise, suya karbondioksit gazı çözündürülmesi, suyun hızlı bir şekilde soğutulması ve elektroanestezi yöntemleri bulunmaktadır. Karbondioksit gazının çözündürülmesi, balıkları sakinleştirmek ya da anestezi sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Bununla birlikte, çözülmüş karbondioksit uzun süre maruz kalmaları, solunum hareketlerini baskılayarak hiperkapni ve asidoz riskini artırabilmektedir (Neiffer ve Stamper, 2009; Paruğ, 2012). Elektroanestezi ise, doğru akım (DC) veya alternatif akım (AC) gibi elektriksel uyarımlar yoluyla balıkların

hareketsiz hale getirilmesini sağlamaktadır (Paruğ, 2012). Bu yöntemde kullanılan elektrik akımları, kas kasılmalarını tetikleyerek veya baskılayarak anestezi etkisi oluşturur (Ackerman vd., 2005). Yöntemler, Tablo 2.1’de listelenmiştir.

Tablo 2.1 Balıklarda anestezi amacıyla uygulanan yöntemler

Kategori	Yöntem	Açıklama	Örnek madde	Avantaj	Dezavantaj
KİMYASAL ANESTEZİ	İmmersiyon	Anestezik madde, balıkların bulunduğu suya çözündürülerek uygulanır ve en sık tercih edilen yöntemdir. Bu süreçte balıklar, solungaçları aracılığıyla anesteziyi absorbe eder ve dolaşım sistemine dahil eder.	TMS (MS-222) 2-fenoksi. Karanfil yağı	Kolay uygulanabilirlik, hızlı etki	Düşük tolerans aralığı, toksik etki riski
	Enjeksiyon	Anestezik madde, doğrudan kas dokusuna veya damar içine enjeksiyon yoluyla uygulanır ve bu yöntem genellikle değerli ya da büyük boyutlu balık türleri için tercih edilmektedir.	Ketamin Alfadolon Propofol	Büyük balık türleri için etkili	Karmaşık uygulama, uzmanlık gereksinimi
	Karbondioksit gazının suya uygulanması / Oksijen gazının solungaçlara uygulanması	Karbondioksit gazı suda çözündürülerek balıklarda inhalasyon yoluyla sakinleşme ve anestezi sağlanmaktadır. Benzer şekilde, bazı kıkırdaklı balık türlerinde oksijenin sedatif etkisi nedeniyle, oksijenli suyun solungaçlardan geçirilmesi yöntemi kullanılmaktadır. Ancak uzun süreli yüksek oksijen maruziyeti, solunumun baskılanmasına ve hiperkapni sonucu asidoz gibi risklere yol açabilmektedir.	CO ₂ O ₂	Uygulama kolaylığı	Solunum baskılanması, asidoz riski
KİMYASAL OLMAYAN ANESTEZİ	Hipotermi	Balıklar ve sucul omurgasızlar üzerinde uygulanan bu yöntemde, buldukları suya soğuk su ve buz eklenerek sıcaklık hızla düşürülmekte ve böylece canlıların hareketleri kısıtlanmaktadır. Transfer sırasında su sıcaklığının kademeli olarak azaltılmasıyla metabolik aktivitenin yavaşlatılması ve su kalitesinin korunması ise bu uygulamadan farklı bir yöntem olarak değerlendirilmektedir.		Kimyasal madde kullanılmaz	Sıcaklık stresine bağlı potansiyel zarar
	Elektroanestezi	Balıkları hareketsiz hale getirmek amacıyla doğru akım (DC), alternatif akım (AC) veya darbeli akımlar kullanılarak uygulanmaktadır. Doğru akım, balığın anot yönünde hareket etmesine (anodotaksi), kasların yoğun şekilde kasılmasına (tetani) ve anestezi etkisine neden olurken, alternatif akım genellikle yalnızca kas kasılmalarıyla birlikte anestezi sağlamaktadır. Bu yöntemin temel amacı, kas kasılmalarının neden olabileceği omurga hasarlarını önlemek ve balıklar için güvenli bir anestezi süreci oluşturmaktır.		Kısa süreli etkili ve immobilizasyon	Yüksek stres ve travma

2.1.4 Balık Anestezinde Yaygın Olarak Kullanılan Ajanlar ve Etkileri

Anestezi, organizmalar üzerinde kontrollü bilinç kaybı sağlama amacı taşıyan bir uygulama olup, farklı türlerde ve ortamlarda değişkenlik göstermektedir. Karasal omurgalılarda geliştirilen anestezi yöntemleri, sinir sisteminin yapısı ve ilacın farmakokinetik etkileri doğrultusunda çeşitlenirken, sucul canlılarda bu süreç su ortamına bağlı olarak farklı bir yaklaşım gerektirmektedir. Su ortamında yaşayan balıklar için anestezi uygulamaları, sudaki çözünürlüğü yüksek veya bir solvent ile çözünebilen anesteziklerin kullanımını zorunlu kılmaktadır. Bu durum, balıklarda kullanılan anestezi protokollerinin karasal omurgalılarla kıyaslandığında daha doğrudan ve pratik olmasını sağlamaktadır (Neiffer ve Stamper, 2009; Paruğ, 2012; Summerfelt ve Smith, 1990).

Anestezi, tıpta bilinç kaybı ve duyu kaybı sağlamak amacıyla kullanılan bir uygulamadır. Reflekslerin baskılanmasını ve ağrının hissedilmemesini sağlayan anestezi, sedasyondan farklı bir kavramdır. Sedasyon, hastanın bilinç seviyesini azaltarak sakinleşmesini sağlarken, anestezi daha derin bir bilinç kaybı ve hissizlik oluşturur. Anestezi türleri, sinir sistemine etkilerine bağlı olarak genel anestezi, bölgesel anestezi (spinal ve epidural anestezi) ve lokal anestezi olmak üzere üç ana kategoriye ayrılır. Genel anestezi, hastanın tamamen bilinçsiz hale getirilmesini sağlarken, bölgesel ve lokal anestezi belirli bölgelerde hissizleşme sağlar (Paruğ, 2012). Sedasyon, tek başına uygulanabileceği gibi diğer anestezi yöntemleriyle kombine olarak da kullanılabilir. Genel anestezi uygulamalarında hastaya solunum veya damar yoluyla anestezik ilaçlar verilerek bilinç kaybı sağlanır. Bölgesel anestezi, sinir blokajı ile belirli bir vücut bölgesini uyuşturur, lokal anestezi ise yalnızca işlem yapılan alanı etkiler. Anestezi süreci indüksiyon (başlangıç), idame (sürdürme) ve uyanma (etkinin sonlandırılması) olmak üzere üç aşamada gerçekleşir. Genel anestezi intravenöz enjeksiyon veya solunum yoluyla verilebilir. Dengeli anestezi adı verilen yöntemde her iki teknik birleştirilerek cerrahi süreç boyunca hastanın stabil kalması sağlanır. Bölgesel anestezi, spinal ve epidural enjeksiyonlarla gerçekleştirilirken, lokal anestezi enjeksiyon, sprey veya krem formunda uygulanabilir. Sedasyon, özellikle kısa süren tıbbi müdahalelerde hastanın kaygısını azaltmak ve rahatlmasını sağlamak amacıyla kullanılır. Bilinç tamamen ortadan kaldırılmadan uygulanan bu yöntem,

hastanın hafif bir uyku hali yaşamasını ve dış uyaranlara daha az tepki vermesini sağlar (Florence, 2024).

Balıklarda anestezi uygulamaları, karasal omurgalılarla kıyaslandığında daha sade bir yöntemle gerçekleştirilmektedir. İmmersiyon yöntemi, suya karıştırılan anestezi maddelerin balıkların solungaçları ve deri yoluyla emilmesini sağlayarak hem sedasyon hem de anestezi amaçlarıyla kullanılmasına olanak tanımaktadır. Bu sayede, sedasyon ve anestezi için ayrı ajanlara ihtiyaç duyulmadan, aynı madde farklı doz ve maruziyet süresiyle farklı etkilere neden olabilmektedir. Anestezi etkinin şiddeti, uygulanan maddenin konsantrasyonu ve organizmanın maruz kaldığı süre ile doğrudan ilişkilidir. Düşük dozlarda veya kısa süreli temas halinde sedasyon sağlanırken, daha yüksek konsantrasyonlarda veya uzun süreli maruziyetlerde derin anestezi seviyesi elde edilmektedir (Paruğ, 2012). Ayrıca, anestezi maddenin dozu yeterince düşük tutulursa, maruziyet süresi uzasa bile, anestezi yeterlilik sağlanamaz. Bu durum, özellikle, nakil gibi uzun süreli madde maruziyeti gerektiren şartlar için çok önemlidir. Çünkü, balıkların nakli sırasında kullanılacak herhangi bir bileşiğin etkili olabilmesi için, tam anestezi oluşturmadan sedasyonu indükleyen uygun bir konsantrasyonda olması gereklidir; böylece balıkların madde yoğunluğundan dolayı ölmemesi sağlanmış olur (Iversen ve Eliassen, 2009).

Bu bağlamda, sucul organizmalarda kullanılan anestezi maddelerin, hızlı etki gösteren, güvenli ve geri dönüşümlü olması temel gereklilikler arasındadır. Uygun bir anestezi, balıkların en fazla 3 dakika içinde çevresel uyaranlara karşı her türlü tepkilerini kaybetmelerini ve hareketsiz halde kalmalarını sağlamalı ve balıklar temiz (anestezi içermeyen) suya alındıklarında 5 dakika içinde tamamen toparlanıp, normal yüzme aktivitelerine ve davranışlarına dönebilmelidir (Ghanawi vd., 2013). Ayrıca, bu maddelerin ekonomik, pratik kullanıma uygun, çevresel sürdürülebilirliği yüksek ve insan sağlığı açısından risk oluşturmayan bileşenlere sahip olması da önemli bir kriterdir (Paruğ, 2012; Summerfelt ve Smith, 1990).

Balıklarda anestezi, merkezi ve periferik sinir sistemini etkileyerek sinirsel aktivitenin baskılanmasına neden olmaktadır. Yaygın olarak kullanılan balık anestezikleri, solunum, kan dolaşımı ve sinir sistemi işlevlerini değiştirerek motor hareketlerin ve

nöronal aktivitenin baskılanmasına yol açmaktadır. Tricaine Methanesulfonate (TMS - MS-222), 2-fenoksietanol ve izoeugenol (AQUI-S) gibi anesteziklerin, balıkların sinirsel uyarılabilirliğini baskıladığı ve fizyolojik işlevlerde değişimlere neden olduğu belirtilmiştir (Soldatov, 2021). Bununla birlikte, bu anesteziklerin optimal dozları, etkili kullanım şekilleri ve güvenlik sınırları üzerine yapılan çalışmalar, anesteziklerin balık refahı açısından önemini vurgulamaktadır (Přiborský ve Velíšek, 2018). Ancak, bu ajanların iyon kanalları üzerindeki spesifik mekanizmaları ve elektrofizyolojik etkileri üzerine kapsamlı araştırmalar sınırlıdır.

Balıklar ve diğer sucul canlılarda anestezi için yaygın olarak kullanılan ajanlar arasında MS-222, en bilinenlerden birisidir. Balıklar ve diğer soğukkanlı sucul canlıların anestezi, sedasyon veya ötanazisi için yaygın olarak kullanılan bir anestezi maddesidir. MS-222, sodyum iyonlarının hücreye girişini engelleyerek aksiyon potansiyellerini baskılamaktadır ve bu mekanizma, beyin ile periferik sinirler arasındaki sinyal iletimini durdurarak anestezi etki oluşturmaktadır (Carter vd., 2011). Kimyasal olarak etil 3-aminobenzoat metansülfonik asit olarak bilinir ve beyaz, kristal toz formundadır (Ross ve Ross, 2008). Suda kolaylıkla çözünmekte, ancak çözündüğünde suyun pH'ını düşürerek asidik bir ortam oluşturmaktadır. Bu nedenle, kullanım öncesi sodyum bikarbonat ile tamponlanması suyun pH'ının 7'den aşağı olmayacak şekilde ayarlanması önerilmektedir. Etkili doz, balığın türü, boyutu ve suyun sıcaklığı gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermekle birlikte genel olarak, sedasyon için 15-50 mg/L, anestezi indüksiyonu için 50-200 mg/L ve anesteziyi sürdürmek için 50-100 mg/L konsantrasyonlar kullanılabilir. Büyük balıkların solungaçlarına doğrudan uygulama için 1 g/L'lik sprey çözeltileri uygulayarak kullanmak da mümkündür (FAU, 2024). MS-222, Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından gıda amaçlı balıklarda kullanım için onaylanmış tek anesteziktir ve insan tüketimi için balık dokularından tamamen uzaklaşma süresi 21 gün olarak belirlenmiştir. Bu nedenle, yakın zamanda insan tüketimine sunulacak balıkların anestesizde TMS'nin kullanılması önerilmemektedir (FDA, 2024).

MS-222'nin balıklar haricinde soğukkanlılarda ve ayrıca memelilerde interperitonel enjeksiyon yoluyla etki mekanizması üzerine de çalışmıştır. Kurbağa gibi soğukkanlı türlerde hareket ve doğrulma refleksi kaybına neden olurken, farelerde belirgin bir

farmakolojik etki göstermediği görülmüştür. Kurbaçalarda biyolojik yarı ömrü sıcaklığa bağlı olarak değişirken (70-309 dakika), farelerde maddenin çok hızlı metabolize edilerek 5 dakika içinde vücuttan tamamen uzaklaştırıldığı bulunmuştur. Metabolik süreçlerde karaciğerin ana rol oynadığı belirlenmiş olup, fare karaciğeri trikaini kurbaçalara kıyasla 39 kat daha hızlı parçalamaktadır. Bu durum, MS-222'nin soğukkanlı türler için daha etkili olmasının sebebini olarak açıklanmaktadır (Wayson vd., 1976).

2-fenoksietanol, kimyasal olarak etilen glikol mono-fenil eter olarak bilinen, hafif aromatik kokulu, renksiz, şeffaf ve hafif yağlı bir sıvıdır ve sudaki çözünürlüğü, son derece yüksektir. Antibakteriyel ve antifungal özellikleri nedeniyle kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinde, oftalmik solüsyonlarda ve ilaç formülasyonlarında koruyucu madde olarak yaygın şekilde kullanılan 2-fenoksietanol; gram-pozitif ve gram-negatif bakteriler, mayalar ve küfler dahil olmak üzere geniş bir antimikrobiyal etkiye sahiptir. Özellikle, *Pseudomonas aeruginosa* gibi dirençli gram-negatif bakterilere karşı da etkilidir. Endüstriyel alanda, 2-fenoksietanol; selüloz asetat, boyalar, mürekkepler ve reçineler için çözücü olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, parfüm fiksatifi, böcek kovucu ve antiseptik olarak da işlev görmektedir (Atamankimya, 2024).

Suda doğrudan çözünebilmesi ile kullanım kolaylığı sağlayan ve görece düşük maliyetliyle balık anestezisinde de çok yaygın olarak kullanılan 2-fenoksietanol, sinir hücrelerinde aksiyon potansiyellerini bloke ederek balıklarda geçici hareketsizlik sağlamaktadır. Etkili doz, balık türüne ve çevresel koşullara bağlı olarak değişmekle birlikte, türe ve su sıcaklığına bağlı olarak, genellikle 0,2–1,2 mL/L aralığında uygulanmaktadır. Anestezi indüksiyon ve ayılma süreleri, balıklar için kullanılan diğer anesteziklerde de olduğu gibi, konsantrasyon ve su sıcaklığına göre farklılık göstermektedir. Örneğin, Yıldız vd. (2013), gökkuşuğu alabalığı üzerinde yapmış oldukları çalışmada, 0,5 mL/L 2-fenoksietanol konsantrasyonunda, anesteziye giriş süresini 13 °C su sıcaklığı için 2,41 dakika; 18 °C su sıcaklığı için 3,36 dakika olarak bulmuşlardır.

Birçok balık türü üzerinde güvenli bir şekilde kullanılabilen 2-fenoksietanol, diğer sucul canlılar üzerinde de denenmekte, ancak türlere göre farklı etkiler göstermektedir.

Gleadall (2013), farklı deniz canlılarında anesteziklerin etkisini araştırmıştır. Bu çalışmada, 2-fenoksietanol'ün kafadanbacaklılar için etkili bir anestezik olmadığı ve hatta toksik etkiler gösterebileceği belirtilmiştir.

2-fenoksietanol'ün sinir sistemi üzerindeki etkileri, sinir iletimini baskılayarak merkezi sinir sisteminde geçici bilinç kaybı ve kas hareketlerinin inhibisyonuna yol açmaktadır. Kurbağa oositleri üzerinde yapılan bir çalışmada, bu ajanın N-methyl-D-aspartate (NMDA) reseptör aracılı iyon akımlarını inhibe ederek sodyum ve potasyum iyon kanallarını modüle ettiği ve böylece sinir iletiminde kesintiye neden olduğu gösterilmiştir (Musshoff vd., 1999). Bu mekanizma, balıklarda anestezik etkinin temel fizyolojik dayanaklarından biri olabilir. Ancak, balıklarda sinir hücreleri veya beyin dokusu üzerinde doğrudan yapılan elektrofizyolojik çalışmalar sınırlıdır. İnsanlarda yapılan bir araştırmada ise, somon balığı yetiştiriciliğinde anestezik olarak kullanılan 2-fenoksietanol'ün işçilerde merkezi sinir sistemi üzerinde nörotoksik etkilere yol açtığı; baş ağrısı, uyuşukluk ve bilişsel işlevlerde bozulmalara neden olduğu rapor edilmiştir (Morton, 1990). Bu veriler, 2-fenoksietanol'ün balıklarda da sinirsel aktiviteyi baskılayarak anestezi sağladığını göstermektedir. Bununla birlikte, bu etki mekanizmasının daha ayrıntılı olarak belirlenebilmesi için balık sinir hücreleri üzerinde elektrofizyolojik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Quinaldine, suda düşük çözünürlüğe sahip olan, yağlı ve sarımsı bir sıvı formda bir maddedir ve kullanılmadan önce genellikle etil alkol veya aseton içinde çözündürülmesi gerekmektedir. Etkili bir anestezik olarak kabul edilse de, kötü kokusu, tahriş edici özellikleri ve potansiyel kanserojen etkileri nedeniyle kullanım alanı sınırlıdır. Bununla birlikte, düşük maliyeti nedeniyle özellikle akvaryum balıkları sektöründe yaygın bir şekilde tercih edilmektedir (Coyle vd., 2004; Küçük vd., 2016).

Quinaldine sulfat ise, suda kolay çözünebilen açık sarı renkli kristalli bir toz formundadır, Quinaldine'e nazaran oldukça pahalıdır (Küçük vd., 2016) ve özellikle hidrobiyologlar tarafından gelgit alanları ile mercan resiflerinden balık toplama işlemleri için yaygın olarak kullanılmaktadır (Ackerman vd., 2005). Bu maddenin etkinliği, pH 6'nın üzerinde daha belirgin olmakla birlikte, su sıcaklığının yükselmesine paralel olarak, balıkların ayılma süreleri uzamakta ve iri bireyler

üzerinde daha hızlı etkiler göstermektedir. Ancak, uzun süreli maruziyet durumunda toksik etkiler gözlenebilmektedir. Hem Quinaldine hem de Quinaldine sulfat, FDA tarafından onaylanmamış maddeler arasında yer almaktadır (Coyle vd., 2004).

Metomidate, hem beşeri hem de veteriner tıp uygulamalarında yaygın olarak kullanılan, hipnotik ve sedatif etkileriyle öne çıkan, suda çözünebilen, toz formunda bulunan bir anestezi ajanıdır (Ross ve Ross, 2008). Bu bileşik, özellikle akuakültür ve araştırma amaçlı çalışmalarda balık anestezisi için tercih edilmekte olup, düşük stres indüksiyonu ve kortizol seviyelerinin inhibisyonu ile dikkat çekmektedir (Zahl vd., 2012). Metomidate'in en önemli özelliklerinden biri, adrenokortikotropik hormon (ACTH) üretimini bloke ederek kortizol seviyelerinin yükselmesini önlemesi ve bu sayede diğer birçok anesteziye göre stres yanıtını minimize etmesidir (Zahl vd., 2012). Bu etki, özellikle nakliye, aşı uygulamaları ve cerrahi işlemler sırasında balık refahının korunması açısından avantaj sağlamaktadır. Ancak, Metomidate'in her balık türünde aynı güvenlik profilini sergilemediği ve özellikle Japon balıkları (*Carassius auratus*) üzerinde yüksek mortalite oranlarına yol açabileceği bildirilmiştir (Coyle vd., 2004). Bu nedenle, kullanım öncesinde her balık türü için uygun dozun belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Ayrıca, Metomidate'in kas seğirmelerine neden olduğu ve bu durumun özellikle kan numunesi alınması gibi hassas prosedürleri zorlaştırdığı rapor edilmiştir (Gilderhus ve Marking, 1987). Bunun yanında, anestezi sonrası iyileşme sürecinde osmotik stres ve solunum depresyonu gibi yan etkilerin oluşabileceği belirtilmiştir (Zahl vd., 2012). Bu faktörler göz önünde bulundurulduğunda, Metomidate'in akuakültür ve araştırma ortamlarında kullanımı dikkatle değerlendirilmelidir. Uygun dozun belirlenmesi ve balık türüne özgü tepkilerin önceden test edilmesi, bu anesteziğin güvenli ve etkili bir şekilde kullanılmasını sağlamak açısından kritik öneme sahiptir (Zahl vd, 2012).

Karanfil yağı, *Syzygium aromaticum* bitkisinden elde edilen, koyu sarı renkli ve karakteristik güzel aromatik kokusu ile bilinen doğal bir anestezi ajanı olup, temel bileşeni eugenoldür (Paruğ, 2012; Příborský ve Velíšek, 2018). Tarihsel olarak analjezik ve hafif yüzeysel anestezi olarak kullanılan bu bileşik, günümüzde akuakültür sektöründe ve balık biyolojisi araştırmalarında da sıklıkla tercih edilmektedir (Aydın ve Barbas, 2020). Karanfil yağı, özellikle balıkların stresini azaltmada etkili bulunmuş

ve birçok türde güvenli anestezi olarak değerlendirilmiştir (Ballıkaya, 2016; Soldatov, 2021). Suda çözünmeyen organik bir bileşik olduğundan, etkili bir şekilde kullanılabilmesi için genellikle etil alkolde çözündürülerek uygulanması gerekmektedir. Etil alkolde çözüldükten sonra iyi bir su sirkülasyonu olan ortamlarda dağıtıldığında, daha homojen bir etki sağlamak ve anestezi etkinliği artmaktadır (Paruğ, 2012). Karanfil yağı uygulamalarında, çözünürlüğün yeterli olmaması durumunda yüzeyde yoğunlaşarak etkisini azaltabileceği ve düzensiz sedasyon oluşturabileceği bildirilmiştir (Aydın ve Barbas, 2020). Balık anestesisinde etkinliği değerlendirildiğinde, 2-fenoksietanol'e kıyasla yaklaşık 1/10 oranında daha düşük konsantrasyonlarda benzer bayılma sürelerini sağlayabildiği bildirilmiştir (Mylonas vd., 2005; Paruğ, 2012). Bu özelliği ile düşük maliyetli ve etkin bir anestezi ajanı olarak avantaj sağlamaktadır. Ayrıca, karanfil yağı ile anestezi uygulanan balıklarda kortizol ve laktat seviyelerinin diğer anesteziklere kıyasla daha düşük olduğu ve stres yanıtlarının daha az olduğu bildirilmiştir (Small, 2003; Wagner vd., 2003). Ancak, bayılma süreleri kısa olmasına rağmen, ayılma sürelerinin genellikle diğer anesteziklere kıyasla daha uzun olduğu bildirilmiştir (Anderson vd., 1997; Küçük vd., 2016; Paruğ, 2012). Karanfil yağı, geniş güven aralığı, düşük maliyetli kullanımı ve çevre dostu özellikleri nedeniyle popüler bir alternatif anestezi olarak değerlendirilmektedir. Ancak, bazı balık türlerinde güven aralığının dar olduğu ve toksik etkilere yol açabileceği bildirilmiştir (Velíšek vd., 2005).

Akuakültürde ve araştırma denemelerinde yaygın olarak kullanılan üç anestezi maddelerinin farklı balık türleri üzerindeki etkili konsantrasyon aralıkları, literatürde yer alan önceki çalışmalar temel alınarak Tablo 2.2'de özetlenmiştir. Sunulan anestezi konsantrasyonlarının etkinliği, balığın türü, yaşam evresi, kondisyon durumu ve çevresel faktörler gibi değişkenlerden etkilenmektedir. Ayrıca, su sıcaklığı, oksijen seviyesi ve pH gibi çevresel parametreler ile uygulama standartlarının farklılığı, bayılma ve ayılma sürelerinde değişkenliğe neden olabilmektedir. Bu nedenle, aynı tür ve anestezi madde kullanılarak yapılan çalışmalarda, farklı sonuçlar bildirilmektedir.

Tablo 2.2 Yaygın kullanılan anestezikler ve uygulama dozları

Balık türü	Anestezik ajan	Doz	Referans
Salmonidler	MS-222	80-180 mg/L	Zahl vd., 2012
Atlantic morinası (<i>Gadus morhua</i>)	MS-222	60 mg/L	Zahl vd., 2012
Senegal dilbalığı (<i>Solea senegalensis</i>)	MS-222	75 mg/L	Weber vd., 2009
Diskus (<i>Symphysodon discus</i>)	MS-222	75-100 mg/L	Chambel vd, 2015
Zebra balığı (<i>Danio rerio</i>)	MS-222	75-125 mg/L	Chambel vd, 2015
Lepistes (<i>Poecilia reticulata</i>)	MS-222	125-200 mg/L	Chambel vd, 2015
Kılıçkuyruk (<i>Xiphophorus helleri</i>)	MS-222	125-150 mg/L	Chambel vd, 2015
Nil tilapiası (<i>Oreochromis niloticus</i>)	MS-222	300 ppm	Rairat vd., 2021
Çipura (<i>Sparus aurata</i>)	2-fenoksietanol	300-450 mg/L	Mylonas vd. 2005
Çipura	2-fenoksietanol	425->500 ppm	Paruğ, 2012
Çipura	2-fenoksietanol	0,5 mL/L	Tort vd., 2002
Levrek (<i>Dicentrarchus labrax</i>)	2-fenoksietanol	300-350 mg/L	Mylonas vd. 2005
Levrek	2-fenoksietanol	425-500 ppm	Paruğ, 2012
Gökkuşluğu alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	2-fenoksietanol	0,5 mL/L	Hilton ve Dixon, 1982 Tort vd., 2002
Gökkuşluğu alabalığı	2-fenoksietanol	0,3-0,5 mL/L	Yıldız vd., 2013
Nil tilapiası	2-fenoksietanol	0,4-0,6 mL/L	Coyle vd., 2004
Nil tilapiası	2-fenoksietanol	900 ppm	Rairat vd., 2021
Sazan (<i>Cyprinus carpio</i>)	2-fenoksietanol	400-600 ppm	Velíšek ve Svobodová, 2004
Sazan	2-fenoksietanol	0,6 mL/L	Mohamed, 1999
Melek balığı (<i>Pterophyllum scalare</i>)	2-fenoksietanol	700-800 µL/L	Ballıkaya, 2016
Çipura	Karanfil yağı	60-65 ppm	Paruğ, 2012
Çipura	Karanfil yağı	40-55 mg/L	Mylonas vd. 2005
Levrek	Karanfil yağı	50-55 ppm	Paruğ, 2012
Levrek	Karanfil yağı	30-40 mg/L	Mylonas vd. 2005
Gökkuşluğu alabalığı	Karanfil yağı	40-60 ppm	Anderson vd., 1997 Keene vd., 1998
Melek balığı	Karanfil yağı	60-100 µL/L	Ballıkaya, 2016
Nil tilapiası	Karanfil yağı	90 ppm	Rairat vd., 2021

2.1.5 Balıkların Anestezi Sırasında Sergilediği Davranışlar

Balık anestezisi üzerine yapılan araştırmalarda, plazma, serum ve doku örnekleri üzerinden biyokimyasal belirteçlerin analizi yoluyla anestezi etkinin değerlendirilmesi yaygın bir yöntemdir. Özellikle kortizol, laktat ve adrenalin gibi stres yanıtı ile ilişkili bileşiklerin konsantrasyonlarının ölçülmesi, kullanılan anesteziğin fizyolojik etkilerinin anlaşılmasında kritik bir rol oynamaktadır (Barcellos vd., 2001; Gomes, 2007; King vd., 2005; Velíšek vd., 2007; Wagner vd., 2003). Bununla birlikte, anestezi sürecinde balıkların sergilediği davranışların detaylı şekilde gözlemlenmesi, anestezi ajanlarının etki sürelerinin ve etkinlik seviyelerinin belirlenmesi açısından önemli bir değerlendirme yöntemidir (Mylonas vd., 2005; Walsh ve Pease, 2002). Bu nedenle, balıkların anestezi esnasında gösterdiği davranışsal tepkilerin sistematik olarak sınıflandırılması, farklı çalışmalar arasındaki karşılaştırmalara bilimsel bir çerçeve sunmaktadır (Keene vd., 1998; Küçük vd. 2016).

Balıklarda anestezi sürecinin objektif, standardize ve karşılaştırılabilir bir şekilde değerlendirilebilmesi için yalnızca biyokimyasal parametrelerin analizi yeterli olmayıp, davranışsal gözlemler ve fizyolojik değişkenlerin detaylı bir şekilde izlenmesi gerekmektedir. Anestezi ajanlarının merkezi ve periferik sinir sistemi üzerindeki etkileri, motor koordinasyon kaybı, operküler solunum hızında belirgin azalma ve refleks yanıtlarında zayıflama gibi çeşitli fizyolojik göstergelerle doğrudan ilişkilidir (Soldatov, 2021). Ancak, anestezi sürecinin etkinliği yalnızca farmakolojik etkilere bağlı kalmayıp, bireysel fizyolojik farklılıklar ve çevresel faktörler tarafından da şekillendirilmektedir. Bu süreçte, su sıcaklığı, çözülmüş oksijen seviyesi, pH dengesi ve iyon kompozisyonu gibi çevresel değişkenler, anestezi maddenin etki süresi, metabolize edilme hızını ve balığın ayılma süreci üzerinde doğrudan belirleyici olmaktadır (Zahl vd., 2012). Örneğin, düşük sıcaklık koşullarında metabolik aktiviteler yavaşladığı için anesteziğin vücuda dağılması ve sonrasında vücuttan atılması süresi uzayabilmektedir; buna karşın yüksek sıcaklıklarda anesteziğin etkisi daha hızlı başlayıp, ayılma da daha hızlı gerçekleşebilmektedir.

Bu bağlamda, literatürde anestezi sırasında gözlemlenen balık davranışlarının farklı sınıflandırmalara tabi tutulduğu görülmektedir. Paruğ (2012) tarafından yapılan

literatür incelemeleri doğrultusunda derlenen davranış sınıflandırmaları, hafif sedasyonda derin anestezi süreçlerine kadar gözlemlenen davranışları içermektedir. Bayılma ve ayılma sürelerinin değerlendirilmesinde yaygın olarak başvuru olan bu referans sınıflandırmalar, Tablo 2.3 ve Tablo 2.4'te sunulmuştur. Ancak, balıkların anesteziye verdikleri tepkilerin birçok değişkene bağlı olarak farklılık gösterebileceği, göz önünde bulundurulmalıdır. Anestezi sırasında sergilenen davranışsal tepkiler ve ortaya çıkan bayılma ve ayılma süreleri birçok biyotik ve abiyotik faktöre bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Bu nedenle, literatürde sunulan standart davranış aşamaları genel bir çerçeve niteliğinde olup, her çalışmada özgün deneysel koşullara bağlı olarak değişiklik gösterebileceği dikkate alınmalıdır.

Tablo 2.3 Balıklarda bayılma ve ayılma aşamalarında sergilenen genel davranışlar

Bayılmanın aşamaları	Balık davranışı
1	Solungaç kapağı, kaudal yüzgeç ve pektoral yüzgeç hareketleri hala aktifken, balığın yüzme dengesi kaybolmaya başlar ve yüzme hızında belirgin bir azalma meydana gelir.
2	Kaudal ve pektoral yüzgeç hareketleri tamamen durduğunda, balığın dibe çöktüğü ve operkulum hareketlerinin belirgin bir şekilde yavaşlayarak düzensiz hale geldiği fark edilir.
Ayılmanın aşamaları	Balık davranışı
1	Operkulum hareketleri normale döndükten sonra, önce pektoral yüzgeçte, ardından kaudal yüzgeçte hareketlenmeler görülür; bu esnada hafif, kesintili ve tamamen dengesiz yüzme davranışları fark edilir.
2	Denge yerine gelir ve normal yüzme formu yeniden sağlanır.

Tablo 2.3'te sedasyon ve derin anesteziyi ve aynı şekilde ayılma süreçlerinin temel düzeyde değerlendirildiği sınıflandırma görülürken, Tablo 2.4'te, anestezi madde uygulanmadan önceki normal yüzme ve davranış durumundan, anestezi madde tatbikiyle başlayan ve asfiksiye kadar devam eden süreç, ayrıntılı şekilde görülmektedir.

Tablo 2.4 Balıkların anesteziğe maddeye karşı reaksiyonları

Aşama	Tanım	Balık davranışı
0	Normal	Dengeli bir yüzme hareketi görülür; operkular aktivite normaldir.
1	Hafif sedasyon	Vücut dengesi yerindedir, ancak çevresel uyarılara tepki azalır ve operkulum hareketleri yavaşlar.
2	Derin sedasyon	Çevresel uyarılara karşı tepki tamamen kaybolur, operkulum hareketleri daha da yavaşlar, ancak vücut dengesi korunmaya devam eder.
3	Kısmi denge kaybı	Kas hareketleri belirgin şekilde azalır, yüzme hareketleri dengesizleşir, operkulum hareketleri hızlanır ve yalnızca güçlü fiziksel temaslara tepki gösterir.
4	Tam denge kaybı	Kas kasılmaları tamamen sona erer, denge tamamen bozulur, operkulum hareketleri yavaş ve düzenli bir hal alır, spinal refleks ortadan kalkar.
5	Refleks aktivitesi kaybı	Tüm hareketler tamamen sona erer, operkulum hareketleri düzensiz ve yavaş bir hale gelir, kalp atış hızı belirgin şekilde düşer ve tüm refleksler tamamen kaybolur.
6	Asfiksi evresi	Operkulum hareketleri sonlanır, kalp atış hızı ciddi oranda azalır ve düzensizlik gösterir.

2.1.6 Balıklarda Sedasyon Uygulamaları

Su ürünlerinde kullanılan anestezikler, doğru konsantrasyonlarda uygulandığında hızlı etki göstererek derin anestezi sağlamak amacıyla kullanılabilirdiği gibi, düşük dozlarda uzun süreli maruziyet ile sedasyon amaçlı da tercih edilmektedir (Iversen ve Eliassen, 2009). Sedasyon, balıkların metabolik hızını yavaşlatarak enerji tüketimini azaltmakta ve stres seviyelerini kontrol altında tutmaktadır. Bu özellikleri nedeniyle, balık taşımacılığında, biyolojik örnekleme çalışmalarında ve minimal invaziv işlemler sırasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Prمود vd., 2010). Derin anestezi gerektirmeyen, ancak hareketin sınırlandırılmasının veya fizyolojik stabilitenin korunmasının önemli olduğu durumlarda, sedatif konsantrasyonların uygulanması, güvenli ve sürdürülebilir bir seçenek sunmaktadır (Harmon, 2009).

Balık taşımacılığında karşılaşılan temel zorluklardan biri, kapalı ortamlarda gerçekleştirilen uzun mesafeli transferler sırasında su kalitesinin bozulması ve metabolik süreçlerin değişime uğramasıdır. Düşük çözünmüş oksijen (DO) seviyeleri, balıkların solunum kapasitelerini sınırlamakta ve anaerobik metabolizmaya geçişe neden olarak enerji üretiminde azalmaya ve kas ile böbrek dokularında laktat birikimine yol açmaktadır (Copatti vd., 2019). Artan çözünmüş CO₂ seviyeleri, solungaç fonksiyonlarını olumsuz etkileyerek kan pH'sında düşüğe (asidoz) neden olmaktadır. Bu durum, balıkların homeostatik dengesini ciddi şekilde bozarak fizyolojik stresin artmasına yol açmaktadır (Dong vd., 2011; Hayashi vd., 2004). Ayrıca, sudaki CO₂'in bir kısmı karbonik aside dönüşerek suyun pH değerinin düşmesine neden olmakta, bu da osmoregülasyon üzerinde ek bir baskı oluşturmaktadır (Heuer ve Grossell, 2014). Yüksek amonyak (NH₃) seviyeleri ise solungaç epiteline zarar vererek iyon dengesini bozmakta ve kan plazmasında amonyak birikimine (hiperammonemi) yol açarak nörolojik toksisite riskini artırmaktadır (Li vd., 2016). Tüm bu fizyolojik stres faktörleri, bağışıklık sistemini baskılamakta, enfeksiyonlara karşı duyarlılığı artırmakta ve solunum, osmoregülasyon ve metabolik süreçleri olumsuz yönde etkileyerek taşınan balıkların hayatta kalma oranlarını düşürebilmektedir (Abdel-Tawwab vd., 2014).

Ancak, sadece su parametrelerindeki değişimler değil, balıkların taşınma süresince maruz kaldıkları mekanik stres de sedasyon ihtiyacını artıran önemli bir faktördür. Uzun süreli taşımalar sırasında, su kalitesinin düşmesi ve kapalı sistemlerdeki biyokütle yoğunluğu nedeniyle, balıkların mekanoreseptörleri sürekli olarak uyarılmakta ve kortizol seviyelerinde yükselmeye neden olmaktadır. Bu durum, balıklarda hem metabolik süreçlerin değişmesine hem de immün sistemin baskılanmasına yol açabilmektedir (Ellis vd., 2012). Ayrıca, stres altındaki balıklarda plazma glukoz seviyelerinin yükselmesi, uzun vadede enerji dengesini bozarak nakil sonrası mortalite oranlarını artırabilmektedir (Martínez-Porchas ve Martínez-Córdova, 2009).

Bu olumsuz etkilerin önüne geçebilmek için balık taşımacılığı sırasında sedatif dozda anestezi kullanımı, fizyolojik dengenin korunmasına ve stres seviyelerinin kontrol altında tutulmasına yardımcı olmaktadır (Zhang vd., 2023). Sedasyonun, solunum ve dolaşım sistemleri üzerindeki yatıştırıcı etkisi sayesinde, taşınan balıkların hem transfer sırasındaki hem de nakil sonrası hayatta kalma oranlarının önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir. Ancak, sedasyon uygulamalarının sağladığı bu avantajlara rağmen, sektörde anestezi kullanımı yerine geleneksel yöntemlerin daha yaygın olarak tercih edildiği görülmektedir. Özellikle, transferden önce balıkların yemlemesinin 1-2 gün süreyle durdurulması, metabolizmayı yavaşlatmak amacıyla su sıcaklığının düşürülmesi ve oksijen takviyesi gibi uygulamalar, ekonomik ve pratik açıdan avantajlı olsalar da, sedasyon uygulamasının sağladığı fizyolojik stabiliteyi tam olarak sağlayamamaktadır (Bittencourt vd., 2018). Bu nedenle, uygun konsantrasyonda anesteziklerin kullanımı, taşınan balıkların fizyolojik stresini en aza indirgeyerek su kalitesini de olumlu yönde etkileyebilmektedir (Zhang vd., 2023).

Sektörel düzeyde sedasyon uygulamalarının yaygınlaştırılması, sadece balık refahını artırmakla kalmayıp, aynı zamanda ekonomik ve ticari sürdürülebilirlik açısından da önemli kazanımlar sağlayabilir. Özellikle yüksek ticari değere sahip türlerin taşınması sırasında stres kaynaklı kayıpların azaltılması ve uzun vadeli üretim hedeflerinin daha verimli bir şekilde gerçekleştirilmesi açısından sedasyon, kritik bir strateji olarak öne çıkmaktadır (Zhang vd., 2023). Ayrıca, doğadan yakalanan tropikal balıkların taşınması sırasında sedasyon uygulamalarının kullanılmasıyla nakil kaynaklı

kayıpların azaltılması ve ekosistemler üzerindeki insan baskısının hafifletilmesi, önem arz etmektedir.

2.2 Japon Balığı

2.2.1 Genel Özellikleri

Japon balığı (*Carassius auratus*), Cyprinidae familyasına ait olup, Actinopterygii sınıfı ve Cypriniformes takımında sınıflandırılan tatlısu balıkları arasındadır (ancak 15 ppt tuzluluk değerine kadar yaşayabilmektedir). Doğu Asya kökenli olan bu tür, doğal olarak göletler, bataklıklarla çevrili alanlar ve yavaş akan su sistemlerinde, tatlı ve acı sularda, 6-8 arası pH değerindeki sularda ve 0-20 metre arası derinliklerde bulunmaktadır (Fishbase, 2024). Düşük çözünmüş oksijen (DO) seviyelerine karşı oldukça dirençlidir ve gerektiğinde anaerobik metabolizmaya geçerek enerji tüketimini düşürebilmektedir (Filice vd., 2021; Hossein-Javaheri ve Buck, 2024). Euriterm bir tür olarak, son derece bir geniş sıcaklık aralığında hayatta kalabilmektedir. Deneysel bir çalışmada, farklı su sıcaklıklarına adaptasyonlar sonrasında, minimum sıcaklık toleransının 0,3 °C; maksimum sıcaklık toleransının ise, 43,6 °C sonucuna varılmıştır (Ford ve Beitinger, 2005).

Japon balığının morfolojik özellikleri, selektif üreme süreçleriyle büyük ölçüde değiştirilmiştir (Vetešník vd., 2007). Doğal formunda torpil şeklinde ve hidrodinamik olarak verimli bir vücut yapısına sahipken, akvaryum varyetelerinde teleskop gözlü, çift kuyruklu, perdeli yüzgeçli ve farklı renk desenlerine sahip formlar geliştirilmiştir (Ota ve Abe, 2016). Genetik analizler, Japon balıklarının çeşitli varyetelerinin, *Carassius gibelio* ve *Carassius carassius* gibi türlerle ortak atalara sahip olabileceğini göstermektedir (Vetešník vd., 2007). Morfolojik benzerlikler nedeniyle, *Carassius* cinsine ait türlerin sınıflandırılması, karışıklıklar yaşanabilmektedir. *Carassius gibelio*, kimi zaman yanlışlıkla *Carassius auratus* olarak tanımlanmakta ve literatürde bu iki tür sıklıkla karıştırılmaktadır. Ayrıca, *C. auratus* için "goldfish", "golden carp" ve "crucian carp – *Carassius carassius*" gibi isimlerin hatalı kullanıldığı görülmektedir. Bununla birlikte Japon balığı, *C. gibelio*'nun ginogenetik üreme

yeteneğine sahip değildir. Günümüzde, bu türlerin doğru ayrımı için morfolojik ve genetik analizler kullanılmaktadır (Tarkan vd., 2010).

Japon balığı omnivor beslenme alışkanlığına sahiptir ve doğal habitatlarında fitoplankton, zooplankton, küçük omurgasızlar ve organik detritus tüketirler (Fishbase, 2024; Volkoff vd., 2009). Sindirim sistemleri kompleks değildir ve protein açısından çok yüksek diyetler sindirim bozukluklarına neden olabilmektedir. Aşırı beslenme, hava kesesi rahatsızlıklarına ve sonrasında düzensiz yüzme davranışlarına yol açabilmektedir (Britt vd., 2002).

Japon balıkları dış döllenme (ovipar) ile ürerler ve dişiler yumurtalarını su altındaki bitkisel materyallere bırakır. Üreme süreçlerinde çevresel koşullara duyarlı bir tür olup, yumurta gelişiminin sağlıklı şekilde ilerleyebilmesi için kış aylarında düşük sıcaklıklara maruz kalmaları gerekmektedir. Yumurtlama genellikle sığ ve bitkisel materyallerin yoğun olduğu sularda, özellikle suya maruz kalan köklerin bulunduğu bölgelerde veya ilkbahar taşkınlarıyla su altında kalan çayırılık alanlarda gerçekleşmektedir. Üreme dönemi gün doğumundan öğleden sonraya kadar sürebilmektedir ve dişiler, 8-10 günlük aralıklarla birden fazla yumurtlama gerçekleştirerek üreme başarısını artırmaktadır. Yapışkan özellikteki yumurtalar sucul bitkilere veya su altındaki yüzeylere tutunarak gelişimini sürdürür (Fishbase, 2024). Üreme sezonu, su sıcaklığının arttığı bahar ve yaz aylarında yoğunlaşmaktadır (Lorenzoni vd., 2007). Yumurtaların açılması, su sıcaklığına bağlı olarak 48-72 saat sürmektedir (Wikipedia, 2024). Larvaların sağlıklı büyümesi için görece yüksek su sıcaklıkları kritik bir faktördür. Dişilerin üreme döneminde birden fazla kez yumurtlaması, bu türün yüksek üreme kapasitesine ve çevresel değişkenliklere uyum sağlama yeteneğine işaret etmektedir (Fishbase, 2024).

Japon balığı, çevresel stres faktörlerine karşı son derece dayanıklı bir türdür. Su bulanıklığı, sıcaklık değişimleri ve pH dalgalanmalarına karşı yüksek tolerans göstermektedir. Laboratuvar çalışmaları, bu türün pH 4,5 ile 10,5 arasında hayatta kalabildiğini ortaya koymuştur. Su kirliliğine karşı oldukça dirençli olup, düşük çözülmüş oksijen seviyelerinde hayatta kalabilmekte ve hatta uzun süreli oksijensiz (anoksik) ortam koşullarına dayanabilmektedir. Bu yeteneği, metabolik adaptasyonlar

sayesinde mümkün olmaktadır; kritik seviyenin altındaki oksijen koşullarında, aerobik ve anaerobik metabolizmalarını dengeli bir şekilde kullanarak enerji üretebilmektedir. Bu özellikleri, Japon balığının küçük göletler gibi çeşitli habitatlara kolayca uyum sağlamasına olanak tanımaktadır (Lorenzoni vd., 2007).

Japon balıkları, yüksek çevresel toleransları ve hızlı üreme kapasiteleri nedeniyle, bazı yerlerde istilacı bir tür olarak kabul edilmektedir (Lorenzoni vd., 2007; Theguardian, 2024). Ancak, canlı renkleri ve farklı varyetelere sahip olması ile ilgi çeken bu tür, çevresel şartların değişkenliğine karşı gösterdiği tolerans ve bakım kolaylığı ile, özellikle henüz acemi olan akvaristler tarafından dünyanın her yerinde yoğun ilgi görmektedir.

2.2.2 Tarihçesi ve Önemi

Japon balığının ilk kez altın sarısı rengine dair kayıt, Çin'in Jin Hanedanlığı döneminde (M.S. 265-419) tutulmuştur. Tang Hanedanlığı döneminde (M.S. 618-907) Budist manastırlarındaki havuzlarda ve süs amaçlı göletlerde yetiştirilmeye başlanmıştır. Nan Song Hanedanlığı döneminde (M.S. 1127-1279) Japon balıkları, evlerin bahçelerindeki havuzlarda beslenmiş ve bu dönemde beyaz ile kırmızı-beyaz renk varyasyonları geliştirilmiştir. Ming Hanedanlığı döneminde (M.S. 1368-1644), Japon balıkları iç mekanlarda, kaselerde beslenmeye başlanmış ve bu süreç, doğada hayatta kalamayacak varyetelerin korunmasına olanak sağlamıştır. Bu dönemde çift kuyruk, çift anal yüzgeç, sırt yüzgeci bulunmayan formlardaki vücut tipleri ortaya çıkmıştır. Red cap (kırmızı başlık) varyetesi 1590 yılında geliştirilmiş, Globe eye (teleskop) Japon balığı 1592 yılında tanıtılmış, mat pullu ve calico renkli Japon balığı 1596 yılında ortaya çıkmış ve bu dönemde süs Japon balığının aristokratlara özgü olması yerine halk arasında yaygınlaşması sağlanmıştır. Çin tarafından 1603 yılında ilk kez Japonya'ya ihraç edilen Japon balığı, 1611 yılında Portekiz aracılığı ile Avrupa'ya yayılmıştır. Qing Hanedanlığı döneminde (M.S. 1644-1911) bronz ve mavi renk varyeteleri geliştirilirken, 1728 yılında Hollanda'da ilk yetiştiriciliği yapılmıştır. Türün bilimsel sınıflandırması ise, Carl Linnaeus (1758) tarafından yapılmış ve başlangıçta *Cyprinus auratus* olarak adlandırılmıştır. Seçici üretim süreçleri, 19. yüzyılın sonlarından itibaren hız kazanmış, 1870 yılında celestial (yukarı bakan

gözlü), 1893 yılında oranda (kaplan başlı), 1900 yılında ponpon, inci pullu ve shubunkin varyeteleri geliştirilmiştir. 1908'de bubble eye (balon gözlü) ve 1911'de solungaç kapağı kıvrımlı formlar üretilmiştir. 20. yüzyılın başlarında kuyruklu yıldız ve tül kuyruk gibi yeni yüzgeç varyasyonları ortaya çıkmış, 1934 yılında ise Bristol shubunkin varyetesi için İngiltere'de standartlar belirlenmiştir (Bristol, 2024).

Günümüzde, küresel akvaryum balığı ticaretinin yıllık 15-30 milyar dolarlık bir piyasa oluşturduğu ve tatlısu türlerinin %90'lık oranı oluşturduğu belirtilmektedir (Evers vd., 2019). Japon balığı, dünya genelinde ticareti yapılan en popüler süs balıklarından biridir ve 100'den fazla ülkede ticareti yapılmaktadır. Son 400 yıl boyunca insanlar tarafından farklı bölgelere taşınması, türün küresel yayılımını sağlamıştır (Trujillo-González vd., 2018).

Bilimsel açıdan bakıldığında ise, özellikle morfolojik çeşitliliği, çevresel adaptasyon yeteneği ve biyokimyasal-metabolik esnekliği sayesinde Japon balığı, yalnızca evrimsel ve genetik araştırmalarda değil, aynı zamanda hipoksi toleransı ve kardiyovasküler sisteminin çevresel değişimlere uyarlanabilirliği gibi fizyolojik süreçleri anlamaya yönelik çalışmalarda da önemli bir model organizma olarak kabul edilmektedir (Filice vd., 2021). Dayanıklılığı ve geniş ekolojik toleransı, onun fizyoloji, taşımacılık ve sedasyon araştırmalarında yaygın şekilde kullanılması için iyi bir model canlı olmasını sağlamaktadır (Kaiser ve Vine, 1998).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Japon Balığı

Çalışmada kullanılan Japon balıkları, Akdeniz Su Ürünleri Araştırma Üretme ve Eğitim Enstitüsü'nden tedarik edilmiş ve çalışmanın gerçekleştirildiği birime boylama işleminden geçmiş olarak, toplam 800 adet [ortalama $6,42 \pm 0,534$ g (N= 50)] balık, şehirlerarası otobüs taşımacılığı ile kapalı kutular içinde nakledilmiş ve ön adaptasyonlarının ardından stoklama ve yaşatma amacıyla, akvaryumlara yerleştirilmiştir. Yaklaşık 15 saat süren transfer işlemi öncesinde, son 2 gün balıklara yem verilmemiş, su sıcaklığı 19-20 °C'ye düşürülmüş ve balıkların konduğu torbalara saf oksijen gazı takviyesi yapılmıştır. Nakil işleminin hemen sonrasında, yani kutular açılıp, ön adaptasyon (su sıcaklığı ve su kimyası dengeleme) sırasında balıkların 4 tanesinin ölmek üzere olduğu fark edilmiştir. Balıkların akvaryumlara alınmasından sonraki ilk 24 saatlik sürede, toplam 10 balık; ilk 48 saatte ise toplam 22 balık ölmüş ve nakil işlemlerine bağlı (nakil süreci ve sonraki ilk 48 saat) yaşama oranı, %97,25 olarak hesaplanmıştır.

Balık sayısının yüksek tutulmasının temel nedeni, taşıma sırasında ve sonrasında oluşabilecek olası ölümleri dikkate almak ve deneylerde homojen bir örneklem grubu oluşturma imkânı sağlamaktır. Bu doğrultuda, boy ve ağırlık bakımından benzer özelliklere sahip bireylerin önceden gruplandırılması mümkün olmuştur. Deneysel uygulamalarda toplamda 540 balık kullanılmış olup, bunların 150'si derin anestezi denemeleri ve kontrol grubu; 390'ı ise uzun süreli hafif sedasyon uygulamaları ve negatif ve pozitif kontrol grupları için kullanılmıştır. Çalışmanın başlamasından önce, gerekli izinler Kastamonu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (HADYEK) alınmış olup, izin belgeleri EK A'da sunulmuştur.

Hafif sedasyonun etkisini değerlendirmek amacıyla yürütülen uzun süreli maruziyet deneylerinde, sektördeki uygulama koşullarını (Zhang vd., 2023) daha gerçekçi bir şekilde yansıtabilmek için kapalı sistemlerde yüksek stok yoğunlukları kullanılmıştır.

Zorlayıcı çevresel faktörlerin ve transfer pratiklerinin simüle edilebilmesi adına, balıkların büyüme süreci takip edilmiş ve bireyler yaklaşık 13-15 g ağırlığa ulaşana kadar büyütülmüştür.

Şekil 3.1’de kapalı kutulara konulmuş plastik torbalardaki Japon balıklarının, ön adaptasyon öncesindeki durumu görünmektedir. Şekil 3.2 ve Şekil 3.3’te ise, ön adaptasyonlarının ardından stoklama ve yaşatma amacıyla, akvaryumlara yerleştirilmiş balıklar görünmektedir.



Şekil 3.1 Kapalı torbalar içinde transfer edilen Japon balıkları



Şekil 3.2 Akvaryumlara konulan balıklar



Şekil 3.3 Genel görünüm

3.1.2 Gözlem, Deney ve Analiz Ortamları

Balıkların stoklanması, adaptasyonu ve sağlıklı şekilde yaşatılması amacıyla ilk etapta, SUMP filtreler sayesinde kapalı devre su filtrasyon sistemiyle donatılmış, 250 litre su hacmine sahip akvaryumlar kullanılmıştır (Şekil 3.2). Ancak, ortalama 6,42 g (N=50) olarak gelen balıkların, büyüyerek 9,58 g (N=100) ağırlığa ulaşması ve buldukları ortamın dar gelmeye başlaması sebebiyle, deneylerden 15 gün öncesinde, her biri 450 litre kapasiteye sahip toplam 20 adet polyester tanktan ve mekanik, biyolojik ve kimyasal filtrasyonun ve UV dezenfektör ile etkili bir su hijyeninin sağlandığı farklı bir sisteme (kapalı devre sistem ünitesi) (Şekil 3.4) aktarılmışlardır. Her iki yaşatma ortamının da, balıklar gelmeden önce dezenfeksiyonu sağlanmış ve genel bakımları yapılarak hazır halde getirilmişlerdir.

Anestezi ve sedasyon denemeleri de aynı ortamda (kapalı devre sistem ünitesi) gerçekleştirilmiştir. Deneyler sonrasında balıkların hayatta kalma oranlarının belirlenebilmesi için akvaryum ünitesinin de kullanımına devam edilmiştir.



Şekil 3.4 Kapalı devre sistem ünitesindeki bazı tankların su doldurulmadan önceki görüntüsü

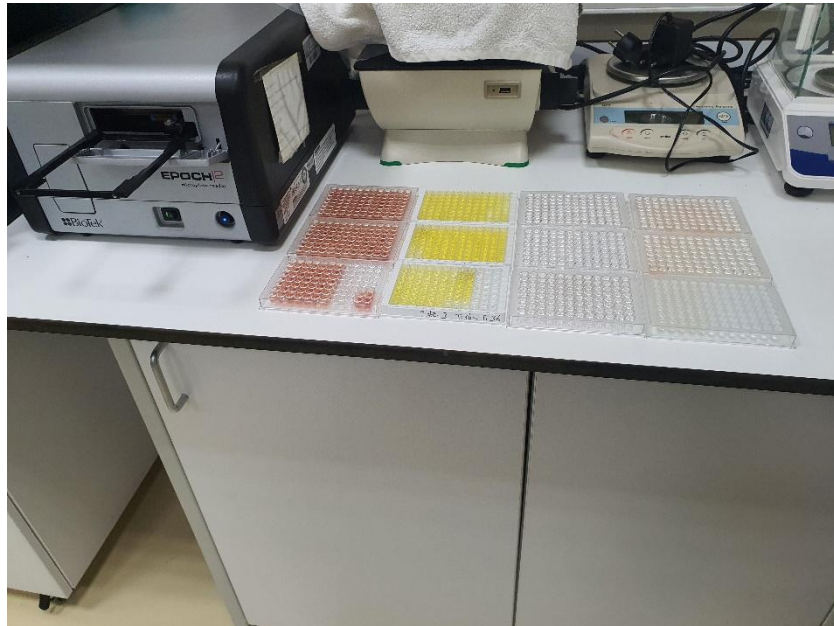
Balıklar, %33 ham protein, %6,9 ham yağ, %3,1 ham lif, %5 nem, %5,7 ham kül analitik bileşenlerine sahip ve Vitamin A, D, E, B₁, B₂ ve C katkıları içeren, granül halde japon balığı yemi ile beslenmiştir.

Balıkların ağırlığını ölçmek için 0,01 gram aralıkla ölçüm yapabilen hassas terazi kullanılmıştır. Boylarını ölçmek için ise, 0,01 mm hassasiyetinde dijital kumpas ve şeffaf cetvel yerleştirilmiş boy ölçüm tahtası kullanılmıştır.

Anestezik maddelerin doğru konsantrasyonlarda hazırlanması, seyreltilmesi ve deneysel uygulamalar sırasında hassas ölçümlerin sağlanabilmesi için gerekli laboratuvar ekipmanlarından yararlanılmıştır. Sıvı transferi ve çözelti hazırlama işlemlerinde farklı hacimlerde beherler kullanılmış, anestezik çözeltilerin güvenilir bir şekilde hazırlanması için 1 mL ve 5 mL kapasiteli cam pipetlerin yanı sıra çeşitli hacim aralıklarında çalışan mikropipetler de tercih edilmiştir. Özellikle ELISA testleri ve diğer analitik işlemler sırasında numune hazırlama süreçlerinin yüksek doğrulukla yürütülebilmesi amacıyla, gerekli ekipmanların olduğu laboratuvar ortamı ve Eppendorf Research Plus ayarlanabilir otomatik pipet seti ve bu pipetlere uyumlu steril pipet uçları kullanılmıştır (Şekil 3.5 ve Şekil 3.6).



Şekil 3.5 Hassas işlemler sırasında kullanılan mikropipet seti



Şekil 3.6 Laboratuvar ortamından genel görünüm

3.1.3 Anestezi Deneyleri Sırasında Kullanılan Malzemeler

Anestezi işlemleri sırasında, balıkların davranışlarının net bir şekilde gözlemlenebilmesi ve uygulamaların kontrollü bir ortamda gerçekleştirilebilmesi amacıyla şeffaf plastik kovalar kaplar kullanılmıştır. Bu kaplar, balıkların hareketlerini kısıtlamadan izlenmesine olanak tanımış ve anestezi sürecine yönelik davranışsal tepkilerin doğru şekilde değerlendirilmesini sağlamıştır. Deneysel koşulların standartlaştırılması ve su parametrelerinin stabil tutulması için, hava hortumu ve hava taşı kullanılmış, bu sayede suyun oksijen seviyesi dengede tutulmuş, ayrıca su sirkülasyonu sağlanarak homojen bir anestezi ortamı oluşturulmuştur.

Hem anestezi hem de sedasyon deneylerinde, standartlaştırılmış koşullarda güvenilir sonuçlar elde edebilmek amacıyla Sigma-Aldrich marka karanfil yağı (CAS 8000-34-8) kullanılmıştır. Anestezik maddenin dozajlama ve uygulama süreçlerinde çözelti hazırlama prosedürleri titizlikle yürütülerek, homojen dağılımın sağlanmasına ve deneysel tekrarların tutarlılığının korunmasına özen gösterilmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 Karanfil yağı

3.1.4 Sedasyon Deneylerinde Kullanılan Malzemeler

Sedasyon deneylerinde kullanılan su, fizikokimyasal parametrelerin tüm gruplar için standart hale getirilmesi ve deneysel tutarlılığın sağlanması amacıyla önceden 450 litrelik polyeater stok tanklarında hazırlanmıştır. Deneylerden önce, sudaki çözünmüş oksijen (DO) miktarı, sektörel uygulamalarda olduğu gibi yükseltilmiştir. Bu süreçte, suyun oksijen seviyesini artırmak, amacıyla saf oksijen tüpü ve ince gözenekli seramik hava taşları kullanılmıştır.

Suyun oksijen doygunluğunun istenilen düzeye ulaşmasının ardından, homojenliği korumak ve her deney ünitesinde standart su parametrelerini sağlamak amacıyla, su dikkatlice şeffaf taşıma torbalarına aktarılmıştır.

Deney öncesinde, stok tankından alınan su doğrudan torbalara aktarılmış, ardından deney grubuna uygun anestezi madde eklendikten sonra torbaların ağzı sıkıca bağlanmıştır. Çevresel koşulların stabilitesini artırmak ve deney sonuçlarının güvenilirliğini sağlamak amacıyla, her bir torba ikinci bir torbanın içerisine yerleştirilmiş ve bu torbanın da ağzı kapatılarak, su kaybı ve dış ortam değişkenlerinden etkilenme riski en aza indirilmiştir. Daha sonra, hazırlanan torbalar mukavva kutuların içine yerleştirilmiş ve deneysel süreç boyunca ışık, sıcaklık ve fiziksel temas gibi dış faktörlerden korunmaları sağlanmıştır (Şekil 3.8). Torbalar sedasyon denemeleri sırasında tüm grupların eşit şartlara (anestezi madde dozu hariç) maruz kalmasını sağlamak, aynı zamanda çevresel uyarıların oluşturabileceği harici stres faktörünü bertaraf edebilmek amacıyla, mukavva kutulara yerleştirilmiştir. Bu sayede, deney süresince oluşabilecek dış etkenlerin minimum seviyeye indirilmesi ve tüm bireylerin benzer koşullar altında sedasyon sırasında verdiği yanıtların doğru bir şekilde değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Böylelikle, farklı gruplar arasında karşılaştırılabilir veriler elde edilmesi sağlanarak, sedasyon sürecinin fizyolojik ve davranışsal etkilerinin daha güvenilir bir şekilde analiz edilmesine olanak tanınmıştır.



Şekil 3.8 Sedasyon uygulamasında torbalara konulan balıklar

3.1.5 Su Kalitesi Ölçümünde Kullanılan Cihazlar

Deneilerin güvenilirliğini sağlamak ve balıkların optimum fizyolojik durumda olmalarını garanti altına almak amacıyla, anestezi ve sedasyon uygulamalarından önce temel su parametreleri düzenli olarak takip edilmiştir. Hem anestezi hem sedasyon deneyleri öncesinde ve sonrasında, su sıcaklığı ve çözülmüş oksijen (DO) seviyeleri ölçülmüş, bu parametrelerin stabil tutulması için gerekli önlemler alınmıştır. Sıcaklık ölçümlerinde, hata yapmamak adına, farklı aralıklarda çalışabilen iki farklı cihaz kullanılmıştır. Ölçümler için -20°C ile $+110^{\circ}\text{C}$ arasında ölçüm yapabilen bağıt tip civalı termometre ve -50°C ile $+300^{\circ}\text{C}$ aralığında çalışan dijital termometre kullanılmıştır. Çözülmüş oksijen seviyelerinin ölçümünde ise, verilerin doğrudan mobil cihazlara aktarılmasına olanak sağlayan Tecnos Smart Oxy cihazı kullanılmıştır.

Anestezi ve sedasyon uygulamaları sırasında ve sonrasında, su kalitesini detaylı bir şekilde analiz edebilmek amacıyla, DO, sıcaklık, pH ve tuzluluk ölçümleri için YSI Professional Plus multimetre tercih edilmiştir. Ayrıca, sedasyon öncesi ve sonrası alınan su numunelerindeki amonyak (NH_3) konsantrasyonlarının belirlenmesi için HACH – Lange DR 6000 UV/VIS spektrofotometre (Şekil 3.9) kullanılmıştır.

Amonyak analizleri, ilgili prosedürlerin standart laboratuvar koşullarında yürütülmesi amacıyla İçsu ve Deniz Balıkları Yetiştiriciliği Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ait laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.



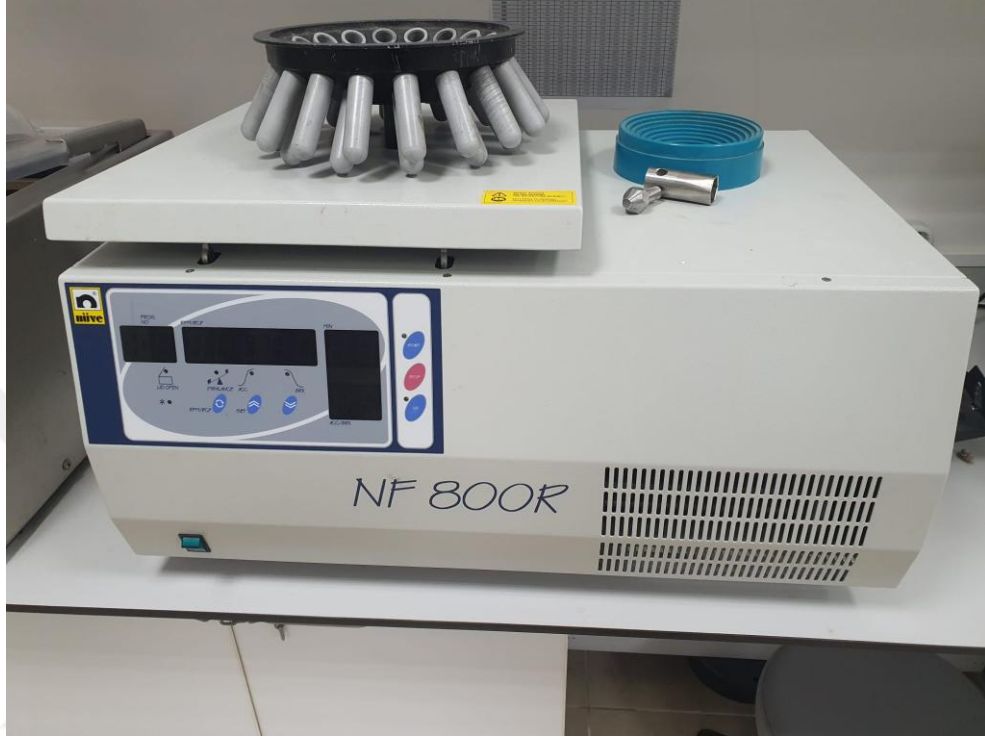
Şekil 3.9 NH₃ seviyesinin belirlenmesi için kullanılan spektrofotometre

3.1.6 Kan Örnekleri Elde Etmek ve Plazma Ayırmak için Kullanılan Cihazlar

Balıklardan kan örneklerinin alınması işlemi, pıhtılaşmayı önleyerek güvenilir plazma elde edebilmek amacıyla özenle gerçekleştirilmiş ve bu süreçte 1 mL kapasiteli heparinli enjektörler kullanılmıştır. Toplanan kan örneklerinin stabilitesini korumak ve analizlerin doğruluğunu artırmak için antikoagülan özellik taşıyan lityum heparin içeren tüpler tercih edilmiştir.

Kan numuneleri, santrifüj işlemine tabi tutulmadan önce çok kısa bir süre bekletilmiş olsa da, biyokimyasal değişimlerin en aza indirilmesi ve numunelerin bozulmadan taşınabilmesi amacıyla soğuk zincir korunarak buzlu taşıma kabı ve tüp standı kullanılmıştır. Plazma ayırımının etkin bir şekilde gerçekleştirilmesi ve numune analiz süreçlerinin standardize edilmesi için santrifüj işlemleri, gelişmiş soğutma kapasitesine sahip Nüve marka NF800R model soğutmalı santrifüj cihazı (Şekil 3.10)

ile gerçekleştirilmiştir. Bu cihaz, kan bileşenlerinin homojen ayrılmasını sağlarken, ısı kaynaklı değişkenlikleri en aza indirerek güvenilir biyokimyasal analizlere zemin hazırlamıştır.



Şekil 3.10 Kan plazmasının elde etmek için kullanılan santrifüj cihazı

3.1.7 ELISA Kit

Sedasyon deneyleri ve dolayısıyla, sektörel taşıma şartlarının uyarlandığı kapalı ortamda bulunma şartları sonrasında, balıklarda strese bağlı kortizol seviyelerinin doğru ve güvenilir bir şekilde belirlenmesi amacıyla, yüksek hassasiyetli enzim bağlantılı immünosorbent analiz (ELISA) yöntemi uygulanmıştır. Bu kapsamda, 0,51 ng/mL hassasiyetine sahip ve 1-300 ng/mL konsantrasyon aralığında ölçüm yapabilen BT LAB marka 96 kuyucuklu Fish Cortisol ELISA Kit (sandviç tipi ELISA kiti; Cat.No E0014Fi) kullanılmıştır (Şekil 3.11 ve Şekil 3.12). Bu kit, balık plazmasındaki kortizol seviyelerini kantitatif olarak belirlemek için spesifik antikor-antijen bağlanmasına dayalı bir analiz yöntemi sunarak, biyokimyasal ölçümlerde yüksek doğruluk ve tekrarlanabilirlik sağlamaktadır.

Spektrofotometrik okumaların gerçekleştirilmesi için, BioTek Epoch 2 mikropilaka okuyucu kullanılmıştır (Şekil 3.13). Bu cihaz, 200-999 nm dalga boyları arasında hassas absorban ölçümleri yapabilme yeteneğine sahip olup, 96 ve 384 kuyucuklu mikropilakalarla uyumlu şekilde çalışarak ELISA analizlerinin standardizasyonunu ve veri güvenilirliğini sağlamaktadır.



Şekil 3.11 Kortizol analizi için kullanılan ELISA kit



Şekil 3.12 ELISA kit içeriği



Şekil 3.13 Mikroplaka okuyucu

3.1.8 Yazılımlar

Çalışmada elde edilen verilerin düzenlenmesi, analize hazır hale getirilmesi ve istatistiksel değerlendirmelerin gerçekleştirilmesi amacıyla Microsoft Office 2021 Excel ve IBM SPSS 22 yazılımları kullanılmıştır. Excel, veri girişinin sistematik bir şekilde sağlanmasının yanı sıra, büyük veri setlerinin düzenlenmesi, ön işleme aşamasında verilerin organize edilmesi ve regresyon analizleri ile grafiksel görselleştirmelerin oluşturulması için kullanılmıştır. Ayrıca, Excel'in fonksiyonları aracılığıyla verilerin özetlenmesi ve temel istatistiksel hesaplamaların gerçekleştirilmesi sağlanmıştır.

SPSS 22 yazılımı ise, istatistiksel analizlerin derinlemesine yürütülmesi ve veri setleri arasındaki ilişkilerin güvenilir bir şekilde değerlendirilmesi için tercih edilmiştir. Analiz sürecinde, normalite testleri, varyans homojenliği, çarpıklık (skewness) ve basıklık (kurtosis) gibi parametrik değerlendirmeler gerçekleştirilmiş; grup içi ve gruplar arası farkların belirlenmesi amacıyla uygun varyans analizleri (ANOVA ve

post-hoc testler) uygulanmıştır. Böylece, elde edilen verilerin istatistiksel anlamlılık düzeyleri belirlenmiş ve sonuçların bilimsel güvenilirliği artırılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Stok ve Yaşatma Mekanlarının Ön Hazırlıkları

Toplam 800 bireyden oluşan balık grubunun barındırılması amacıyla, ilk etapta bağımsız SUMP filtreler sayesinde biyolojik ve mekanik filtrasyon sağlayan akvaryum ünitesi kullanılmıştır. Balıkların büyümesi ve bu ortamdaki akvaryumların yetersiz kalmaya başlamasıyla, yüksek su hacmi kapasitesine sahip, mekanik, kimyasal ve biyolojik filtrasyon süreçlerini entegre eden merkezi kapalı devre sistem ünitesi tercih edilmiştir. Ancak, deneyler sonrasında, farklı grupların davranış takibini yaparken ve yaşama oranlarını belirlerken, akvaryum ünitesi yine kullanılmıştır.

Her iki ortama da kullanım öncesinde, sistemin patojenik koşullar barındırmaması amacıyla, kapsamlı bir dezenfeksiyon işlemi uygulanmıştır. Bu süreçte, Chloramin-T, formaldehit ve çamaşır suyu gibi güçlü kimyasallar kullanılmış, ardından sistemlerin tamamen uzaklaştırılmaları için titizlikle ve defalarca durulama işlemi gerçekleştirilmiştir.

Kapalı devre sistemde, tanklardan taşan su, mekanik (yalnızca kaba partiküllerin tutulması için), kimyasal ve en önemlisi biyolojik filtrasyonu sağlayan bir karışım tankına yönlendirilmekte, burada suyun buharlaşma yoluyla eksilen miktarı otomatik olarak tamamlanmaktadır. 3 kW gücündeki motopomp aracılığıyla karışım tankından çekilen su, ilk aşamada torba filtrelerden geçirilerek partiküllerden arındırılmakta, ardından merkezi ve termostat kontrollü ısıtıcılar ile ihtiyaca göre ısıtılmaktadır. Daha sonra, su sırasıyla kum filtresinden ve UV-C dezenfektör sisteminden geçirilerek tekrar tanklara yönlendirilmekte ve böylece sürekli bir filtrasyon döngüsü sağlanmaktadır.

Dezenfeksiyon ve durulama işlemleri sırasında, sistemin taşıyıcı elemanları olan borular titizlikle incelenmiş, su kaçaqları tespit edilerek giderilmiş, torba filtrelerin ekipmanları detaylı bir şekilde temizlenip dezenfekte edilmiştir. Ayrıca, karışım

tankında biyolojik filtrasyonun etkinliğini artırmak amacıyla aktif karbon, zeolit, sünger, elyaf ve geniş yüzey alanına sahip ağ parçaları gibi nitrifikasyon bakterilerinin kolonileşmesine elverişli materyaller sisteme entegre edilmiştir. Bu düzenlemeler, suyun kimyasal ve biyolojik dengesini koruyarak, deneysel süreçler için ideal çevresel koşulların sürdürülmesini sağlamaktadır.

Sistemin biyolojik filtrasyon kapasitesini hızla artırmak ve nitrifikasyon bakterilerinin sistemde daha kısa sürede kolonileşmesini sağlamak amacıyla destekleyici bir yöntem uygulanmıştır. Bu doğrultuda, akvaryum ünitesinde yer alan SUMP filtrelerinden (Şekil 3.14) birinde bulunan süngerler sıkılarak, nitrifikasyon bakterilerince zenginleştirilmiş su elde edilmiş (Şekil 3.15) ve bu su, karışım tankına kontrollü bir şekilde eklenmiştir. Bu yöntem, bakteri popülasyonunun hızla artmasını teşvik ederek, filtrasyon sisteminin daha kısa sürede biyolojik dengesine ulaşmasını sağlamış ve balıkların optimal su koşullarında barındırılmasına katkıda bulunmuştur.



Şekil 3.14 Akvaryum ünitesinde bulunan SUMP filtrelerden biri

Ancak, SUMP süngerinden elde edilen suyun yalnızca yararlı bakterileri değil, potansiyel olarak zararlı mikroorganizmaları da içerebileceği göz önünde

bulundurulmuştur. Olası patojenlerin yaşam alanına bulaşma riskini en aza indirmek amacıyla, karışım tankından pompalanan su, tanklara aktarılmadan önce son aşamada güçlü bir UV-C dezenfeksiyon ünitesinden geçirilmiş ve böylece patojen riski büyük ölçüde engellenmiştir. Bu uygulama, biyolojik filtrasyon sürecinin etkinliğini artırırken, sistemin hijyenik koşullarını da güvence altına almıştır.



Şekil 3.15 SUMP filtre süngerinden elde edilen su

Balıkların tanklara yerleştirilmesinden 20 gün öncesinde, sistemin biyolojik dengesinin sağlanması amacıyla bakım işlemleri başlatılmış ve nitrifikasyon bakterilerinin kolonileşmesini teşvik etmek için ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu süreç boyunca, sistem aktif olarak çalıştırılmış ve sürekli su döngüsü sağlanarak, biyolojik filtrasyonun verimli bir şekilde işlemesi ve nitrifikasyon bakterilerinin etkin bir şekilde kolonileşmesi hedeflenmiştir.

Ayrıca, balıkların henüz bulunmadığı bu aşamada, nitrifikasyon bakterilerinin gelişimini desteklemek amacıyla, tanklara belirli aralıklarla az miktarda balık yemi eklenmiştir. Böylece, sistem içinde amonyak kaynağı oluşturulmuş ve bakterilerin substrat eksikliği nedeniyle gerilemesi önlenmiştir. Balıkların sisteme dahil edilmesinin ve adaptasyon süreçlerinin tamamlanmasının ardından, günlük bakım prosedürleri uygulanarak, tank ortamının stabilitesi korunmuş ve düzenli olarak dip

sifonu işlemleri gerçekleştirilmiştir. Bu uygulamalar, su kalitesinin sürdürülebilir şekilde korunmasını ve balıkların sağlıklı koşullarda yetiştirilmesini sağlamıştır.

3.2.2 Anestezi Uygulamaları

Bu çalışmada anestezi deneyleri, organik bir anestetik madde olan karanfil yağının balıklar üzerindeki etkilerini değerlendirmek, bayılma ve ayılma sürelerinden yola çıkarak, sonraki aşama olan sedasyon deneylerinde kullanılacak olası konsantrasyonları belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Literatürde yer alan birçok çalışmada olduğu gibi optimum derin anestezi konsantrasyonlarını belirlemekten ziyade; bu çalışmanın öncelikli hedefi, hem sektörel uygulamalar hem de bilimsel araştırmalar göz önünde bulundurularak, tamamen kapalı ortam koşullarında balıkların refahını en üst düzeyde koruyacak, mümkünse mortaliteye neden olmayacak hafif sedasyon konsantrasyonlarının belirlenmesi olarak şekillenmiştir.

Özellikle, sektör koşullarında uzun süreli nakil süreçleri ve kapalı ortamlarda balıkların stres yönetimini sağlamak adına, 72 saat gibi oldukça uzun bir süre boyunca etkili olabilecek optimum konsantrasyonların saptanması hedeflenmiştir. Bu doğrultuda gerçekleştirilen anestezi çalışmaları, uzun süreli hafif sedasyon deneyleri için referans değerlerin elde edilmesine yönelik bir ön aşama niteliğindedir. Böylece, kapalı ortam maruziyetinde, balıkların fizyolojik dengelerini mümkün olan en iyi şekilde sürdürebilecekleri sedasyon düzeyleri belirlenerek, sektör için uygulanabilir sonuçlar elde edilmesi amaçlanmıştır.

Deneyler, sabit 20°C ortam ve su sıcaklığında yürütülmüş, böylece hem japon balığı için su sıcaklığının birkaç °C düşürüldüğü sektörel taşıma şartları oluşturulmuş hem de çevresel değişkenlerin anestezi süreci üzerindeki etkilerinin en aza indirilmesi sağlanmıştır. Balıkların bireysel tepkilerinin daha hassas bir şekilde gözlemlenebilmesi ve verilerin doğruluk seviyesinin artırılması amacıyla, her birey ayrı ayrı anestezi işlemine tabi tutulmuştur.

Anestezi sürecinin değerlendirilmesi, gözlemsel bir yöntem gerektirdiğinden, deneylerin yürütülmesinde uzmanlık ve deneyim büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle, bayılma ve ayılma sürelerinin doğru bir şekilde belirlenebilmesi için ilk

gözlemler danışman tarafından yapılmış, süreç boyunca öğrenci danışmanın rehberliğinde gözlem pratiği kazanarak deneysel sürecin yürütülmesine aktif olarak katılmıştır. Bu yaklaşım, gözlem sürecinde metodolojik tutarlılığı sağlarken, deneysel veri setlerinin güvenilirliğini artırmaya yönelik bir önlem olarak uygulanmıştır.

Elde edilen tüm veriler, anlık olarak kaydedilmiş ve herhangi bir hatanın önüne geçebilmek için sürekli olarak kontrol edilmiştir. Bu kapsamlı gözlem süreci, anestezi sürecinin objektif ve sistematik bir şekilde değerlendirilmesini sağlamış, bireyler arasındaki değişkenliklerin doğru şekilde yorumlanmasına olanak tanımıştır.

Deney süresince, balıkların anesteziye yanıt süreleri iki temel aşamada değerlendirilmiş ve süreç boyunca sistematik bir sınıflandırma benimsenmiştir. Balıkların bayılma ve ayılma sürelerinin analizi için belirlenen kriterler, literatürde kabul gören metodolojik yaklaşımlar doğrultusunda şekillendirilmiş olup, Tablo 2.3'te belirtilen aşamalar referans alınmıştır.

Bayılma süreci, bireylerin anesteziye maruz kaldıktan sonra motor fonksiyonlarında ve refleks yanıtlarında meydana gelen değişimlere göre "birinci bayılma" (B1) ve "ikinci bayılma" (B2) olmak üzere iki aşamada değerlendirilmiştir. İlk aşamada (B1), balıkların yüzme yetisinin belirgin şekilde azalması ve vücut kontrolünün kısmen kaybolması gözlemlenirken, ikinci aşamada (B2), tam hareket kaybı ve balığın dengesini tamamen kaybetmesi gibi davranışlar esas alınmıştır.

Benzer şekilde, balıkların anesteziye çıkış süreçleri de "birinci ayılma" (A1) ve "ikinci ayılma" (A2) olarak sınıflandırılmıştır. İlk ayılma aşamasında (A1), balıkların motor aktivite kazanmaya başlaması ve solungaç hareketlerinin normalleşmeye yönelmesi değerlendirilmiştir, ikinci aşamada (A2) ise, tam fonksiyonel hareket kabiliyetinin geri kazanılması kriter olarak alınmıştır.

Tüm bu parametreler, balıkların anestezi sürecine verdikleri yanıtları karşılaştırmalı olarak değerlendirebilmek ve elde edilen verileri güvenilir bir referans çerçevesinde analiz edebilmek amacıyla detaylı bir şekilde kaydedilmiş ve istatistiksel analizlere dahil edilmiştir.

Anestezi deneylerinde, bayılma ve ayılma sürelerinin belirlenmesi amacıyla farklı konsantrasyonlarda karanfil yağı uygulanmış ve bireylerin bu dozlara verdikleri yanıtlar sistematik olarak analiz edilmiştir. Deney kapsamında, 30 µL/L, 45 µL/L, 60 µL/L ve 75 µL/L olmak üzere dört farklı doz seviyesi test edilmiştir. Her bir doz grubu için 30 balık kullanılmış olup (teker teker), toplamda 120 birey deneysel sürece dahil edilmiştir.

Her bir anestezi uygulaması, 8 litre kapasiteli plastik kaplarda, 3 litre dinlendirilmiş şebeke suyu kullanılarak gerçekleştirilmiş ve bireylerin her bir doz grubuna eşit şartlar altında maruz kalmasını sağlamak amacıyla deney düzeni standartlaştırılmıştır. Anestezik çözeltilerin homojen şekilde karışmasını sağlamak için, her deneyde sabit hava debisine sahip hava taşı kullanılmış ve bu sayede su ortamında anestezik maddenin eşit dağılımı güvence altına alınmıştır. Bu kontrollü havalandırma işlemi, balıkların maruz kaldığı anestezik konsantrasyonunun deney süresince tutarlı kalmasını sağlamak adına daimî olarak uygulanmıştır. Deneyin tüm aşamalarında, balıkların anesteziye geçiş süreleri, davranışsal tepkileri ve ayılma süreçleri titizlikle gözlemlenmiş ve anlık olarak süre kayıtları tutulmuştur.

Anestezi uygulamalarında, anestezik maddenin su içerisinde homojen bir şekilde dağılmasını sağlamak amacıyla ön çözeltiler hazırlanmış ve deney sırasında titizlikle uygulanmıştır. Karanfil yağı, suda doğrudan çözünebilir bir madde olmadığından, öncelikle %96'lık etil alkol içerisinde 1:1 oranında seyreltilerek çözelti hazırlanmıştır. Elde edilen bu çözelti, balığın bulunduğu kova içerisinde alınan su ile dikkatlice karıştırılmış, çözünürlüğü artırmak amacıyla iyice çalkalanmış ve ardından kontrollü bir şekilde deney ortamına eklenmiştir.

Deney sürecinde, her bireyin anestezik maddenin etkisine maruziyeti standart hale getirilmiş, kullanılan dozun balığın çevresindeki su ortamına homojen şekilde dağılması için gerekli düzenlemeler (hava ile su sirkülasyonunun sağlanması) sağlanmıştır. Anestezi sonrası ayılma aşamasının etkinliğini değerlendirmek için, her birey için ayrı bir temiz su ortamı hazırlanmış, hava taşı ve su sirkülasyonu bulunan bu ortamda ayılma süreci gözlemlenmiştir. Bireylerin anesteziye geçiş ve toparlanma

süreleri titizlikle kayıt altına alınmış, böylece farklı anestezi konsantrasyonlarının etkinliği karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

Deneylerde kullanılan tüm ekipmanlar, her bireyden sonra titizlikle temizlenmiş ve durulanmış, böylece bir denemeden diğerine anestezi kalıntılarının taşınması önlenmiştir. Bu yöntem, her bireyin yalnızca hedeflenen anestezi dozuna maruz kalmasını sağlayarak, deney sonuçlarının güvenilirliğini artırmıştır.

Deney sürecinde, balıkların doğal koşullar altındaki davranışlarının ve fizyolojik yanıtlarının değerlendirilmesi amacıyla, herhangi bir anestezi madde uygulanmayan bir kontrol grubu oluşturulmuştur. Bu grup, anestezi uygulanan bireylerle karşılaştırma yapabilmek ve anesteziklerin balıklar üzerindeki etkilerini daha objektif bir şekilde değerlendirebilmek için referans veri sağlamıştır. Toplam 30 bireyden oluşan kontrol grubundaki balıkların davranışları, solunum hareketleri ve genel sağlık durumları titizlikle gözlemlenmiş, bu veriler deney grubundaki bireylerle kıyaslanarak analiz edilmiştir.

Anestezi uygulamalarının tamamlanmasının ardından, tüm deney gruplarındaki balıklar beş gün boyunca düzenli olarak gözlemlenmiş, mortalite oranları ile anestezi sonrası ortaya çıkabilecek herhangi bir fizyolojik veya davranışsal değişim detaylı bir şekilde kayıt altına alınmıştır. Bu süreç, kullanılan anesteziklerin güvenilirliğini ve uzun vadeli etkilerini değerlendirmek açısından kritik bir aşama olup, anestezi sonrası iyileşme sürecine dair önemli veriler sunmuştur. Balıkların toparlanma hızları, suya adaptasyonları ve yaşam oranları karşılaştırmalı olarak incelenmiş, böylece deneyin güvenilirliği ve biyolojik anlamlılığı artırılmıştır.

3.2.3 Sedasyon Uygulamaları

Kapalı sistemlerde gerçekleştirilen balık transfer işlemlerinde, metabolizma hızının düşürülmesi ve solunum stresinin minimize edilmesi amacıyla su sıcaklığının kontrollü bir şekilde azaltılması ve çözülmüş oksijen (DO) seviyesinin ilk etapta artırılması, yaygın bir uygulamadır (Bittencourt vd., 2018; Harmon, 2009). Bu çalışmada da, kapalı ortam koşullarında balıkların fizyolojik dengesini koruyabilmek ve oksijen yetersizliğine bağlı oluşabilecek metabolik stresin önüne geçebilmek adına

benzer yöntemler uygulanmıştır. DO seviyelerinin yeterli düzeyde tutulması, özellikle uzun süreli kapalı sistem maruziyetlerinde, solungaç fonksiyonlarının korunması ve ani oksijen dalgalanmalarına bağlı fizyolojik düzensizliklerin önlenmesi açısından kritik bir rol oynamaktadır. Ayrıca, kapalı ortam maruziyetinden dolayı, ortama hava yoluyla dahi oksijen girişi sağlanamadığı için, DO seviyesi daimî olarak düşmektedir. Bu nedenle, başlangıçtaki DO seviyesinin yükseltilmesi gerekmektedir.

Bu uygulamalara ek olarak, balıkların aşırı aktivite göstermesini, stres düzeylerinin yükselmesini ve su kalitesinin hızlı bir şekilde bozulmasını ve önlemek amacıyla, düşük konsantrasyonlarda anestezi madde kullanılarak hafif sedasyon sağlanmıştır. Bu strateji, balıkların çevresel değişimlere daha kontrollü yanıt vermesini ve nakil sonrası toparlanma süreçlerinin daha başarılı olmasını destekleyen bir faktör olarak değerlendirilmiştir.

Deney öncesinde, sektörel uygulamalarda yaygın olarak kullanılan prosedürlere benzer şekilde, balıkların metabolizma hızlarını düşürmek ve sedasyonun etkinliğini artırmak amacıyla, kapalı devre su sistemindeki dolaşım suyunun sıcaklığı merkezi ısıtıcılar kontrollü bir şekilde ayarlanarak kademeli olarak düşürülmüştür. Üç günlük bir süreç içinde sıcaklık, 23 °C'den 20 °C'ye indirilmiş olup, bu kontrollü düşüş balıkların fizyolojik adaptasyonlarını desteklemek ve ani sıcaklık değişimlerinden kaynaklanabilecek olumsuzlukları önlemek amacıyla uygulanmıştır.

Bu süreçte, yalnızca su sıcaklığı değil, aynı zamanda ortam sıcaklığı da 22,5 °C'den 20 °C'ye düşürülerek deney süreci boyunca sabit tutulmuştur. Bu uygulamalar, kapalı sistemlerde balık refahını artırmaya yönelik sektör standartlarına uygun bir yaklaşım olup, düşük sıcaklığın metabolizmayı yavaşlatıcı etkisiyle birlikte, sedasyon işlemlerinin daha kontrollü bir şekilde gerçekleşmesini sağlamayı amaçlamaktadır.

Deney öncesinde, tüm gruplarda eşit su kalitesi koşullarının sağlanabilmesi amacıyla, iki adet 450 litrelik polyster tankta önceden dinlendirilmiş ve hava taşları aracılığıyla sürekli olarak sirküle edilen su kullanılmıştır. Bu tanklardaki DO seviyesi, saf oksijen tüpü ve seramik hava difüzörü yardımıyla artırılmış ve deney başlangıcında her grup için 14 mg/L seviyesine ayarlanmıştır. Ancak, kapalı sistemde gerçekleştirilen

sedasyon denemelerinde, torbaların ağız kapatıldıktan sonra oksijen seviyesini sürekli yüksek tutma veya kontrol etme imkânı bulunmadığından, DO seviyesinin zamanla doğal olarak azalacağı öngörülmüştür. Bu durum, kontrol ve sedasyon grupları arasındaki farklılıkların değerlendirilebilmesi açısından önemli bir değişken olarak ele alınmıştır.

Farklı konsantrasyon grupları ile negatif kontrol grubu için, önceden hazırlanan stok tanklarından eşit miktarda su (2 litre) alınarak deney grupları arasında homojen su kalitesi koşulları sağlanmıştır. Böylece, kapalı plastik torbalarda yürütülen uzun süreli sedasyon deneylerinde, kullanılan anestezi madde konsantrasyonları dışındaki tüm su parametreleri sabit tutulmuştur. Balıkların deney torbalarına transfer edilmesinden hemen önce yapılan ölçümlerde, DO seviyesi 14 mg/L, su sıcaklığı 20 °C, pH değeri 8 ve amonyak (NH₃) seviyesi 0,02 mg/L olarak kaydedilmiştir. Bu parametrelerden amonyak dışındaki tüm değerler, anlık olarak doğrulanmış ve tüm gruplarda aynı başlangıç koşullarının sağlandığı teyit edilmiştir.

Anestezi deneylerinden elde edilen bayılma ve ayılma süreleri dikkate alınarak, sedasyon amaçlı uygulanan dozlar, belirlenen anestezi konsantrasyonlarının 1/10 oranında belirlenmiş ve sırasıyla 3 µL/L, 4,5 µL/L, 6 µL/L ve 7,5 µL/L konsantrasyonlarında uygulanmıştır. Farklı dozların tercih edilme nedeni, balıkların uzun süreli sedasyon süreçlerinde optimum koşulların belirlenmesi ve her bir konsantrasyonun fizyolojik ve davranışsal etkilerinin karşılaştırılabilir şekilde analiz edilmesini sağlamaktır.

3.2.4 Su Kalite Analizleri

Sedasyon deneylerinde, suyun fizikokimyasal parametrelerinin doğru ve hassas bir şekilde belirlenebilmesi amacıyla, çözünmüş oksijen (DO), su sıcaklığı ve pH ölçümlerinde çok fonksiyonlu bir multimetre cihazı kullanılmıştır. Ölçüm doğruluğunun sağlanması ve olası hata paylarının minimize edilmesi için, elde edilen veriler harici pH metre, oksijenmetre ve dijital termometre kullanılarak çapraz doğrulama yöntemiyle kontrol edilmiştir.

Deneylelerden önce ve sonrasında alınan su numunelerindeki amonyak (NH₃) seviyelerinin tespiti, HACH 8038 Nessler yöntemi kullanılarak spektrofotometre cihazı ile analiz edilmiştir. Bu analiz sürecinde, ölçüm hassasiyetini artırmak ve kimyasal reaksiyonun stabilitesini sağlamak amacıyla distile su, mineral stabilizatör, dispersiyon maddesi olarak polivinil alkol ve Nessler Reaktif solüsyonu kullanılmıştır. Her bir su numunesi için analiz işlemi iki kez tekrarlanmış, ölçülen değerlerin ortalaması alınarak sonuçlar mg/L biriminde raporlanmıştır. Böylece, deney sürecinde amonyak birikiminin balıkların fizyolojik durumuna olası etkileri güvenilir bir şekilde değerlendirilmiştir.

3.2.5 Moleküler Analizler için Plazma Elde Edilmesi

Plazma örneklerinin elde edilmesi amacıyla, kan numuneleri steril koşullarda ve heparin içeren antikoagülan enjektörler kullanılarak toplanmıştır. Her birey için tek kullanımlık enjektörler tercih edilmiş ve bu sayede olası kontaminasyon riskleri önlenmiştir. Antikoagülan içeren bu enjektörler, kanın pıhtılaşmasını engelleyerek plazma bileşenlerinin stabilitesini korumuş ve analiz için uygun hale gelmesini sağlamıştır. Toplanan kan örnekleri, lityum heparin içeren steril tüplere dikkatlice aktarılmış ve her tüp üzerine deney grubu ve tekrar bilgileri eksiksiz bir şekilde kaydedilmiştir.

Numunelerin biyokimyasal stabilitesini korumak ve enzimatik bozunmaları önlemek amacıyla, kan örnekleri buz dolu bir kap içerisine yerleştirilen tüp standında muhafaza edilmiştir. Alınan numuneler, bekletilmeden soğutmalı santrifüj cihazında işleme alınmış ve 5°C sıcaklıkta, 700 G bağıl santrifüj kuvveti (RCF) ile 15 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. İşlem sonrasında, kan bileşenlerinin ayrılmasıyla elde edilen plazma fazı, steril mikropipetler yardımıyla dikkatle ayrılmış ve ayrı steril tüplere aktarılmıştır. Her bir tüp, ilgili grup ve tekrar bilgileri ile eksiksiz şekilde etiketlenmiştir.

Elde edilen plazma örnekleri, kortizol analizleri gerçekleştirilene kadar -24°C'de dört gün boyunca saklanmış ve bu süre boyunca örneklerin biyokimyasal stabilitesini koruyabilmesi için herhangi bir sıcaklık dalgalanmasına maruz kalmamaları

sağlanmıştır. Saklama süreci boyunca, tüplerin yerleşimi düzenli olarak kontrol edilerek örneklerin homojen bir şekilde donması ve yapısal bütünlüklerinin korunması sağlanmıştır.

Analiz günü, numuneler kontrollü bir şekilde oda sıcaklığına getirilerek çözündürülmüş ve ELISA protokolüne uygun olarak işleme alınmıştır. Numunelerin çözündürme süreci, dış ortam sıcaklığına ani maruziyeti önlemek adına, laboratuvar sıcaklığında ve belirli bir süre boyunca gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada, biyokimyasal reaksiyonların doğru bir şekilde ilerlemesini sağlamak amacıyla, çözündürülmüş numuneler hemen analiz sürecine dahil edilmiş ve bekletilmeden ELISA kuyucuklarına pipet yardımıyla dikkatle aktarılmıştır.

Numunelerin stabilitesinin korunması ve kortizol düzeylerinin güvenilir şekilde ölçülebilmesi amacıyla, dondurma-çözme işlemi yalnızca bir kez uygulanmış, tekrar eden donma-çözünme döngülerinin enzimatik aktiviteyi bozabileceği ve kortizol ölçüm sonuçlarını etkileyebileceği göz önünde bulundurularak, bu tür işlemlerden kaçınılmıştır. Bununla birlikte, analiz sırasında herhangi bir numune kaybı veya kontaminasyon yaşanmaması için steril çalışma prosedürleri titizlikle uygulanmış ve tüm aşamalar, olası değişkenleri en aza indirecek şekilde yürütülmüştür.

3.2.6 Kortizol Analizi

LISA test prosedürleri, üretici firma tarafından sağlanan protokole uygun şekilde dikkatle uygulanmıştır. Analiz öncesinde, kit içerisindeki tüm reaktifler, standart çözeltiler ve plazma numuneleri oda sıcaklığına adapte edilerek kullanıma hazır hale getirilmiştir. Standart çözeltiler, üretici tarafından sağlanan 320 ng/mL konsantrasyonundaki ana standart çözeltiden türetilmiş seyreltmelerle hazırlanmıştır. Bu amaçla, öncelikle 120 µL ana standart çözeltisi, 120 µL standart dilüent ile karıştırılarak 160 ng/mL stok çözeltisi oluşturulmuştur. Ardından, bu stok çözelti belirli oranlarda seyreltilerek 80 ng/mL, 40 ng/mL, 20 ng/mL ve 10 ng/mL konsantrasyonlarına sahip standart çözeltiler hazırlanmıştır. Kontrol amacıyla kullanılan sıfır standart için yalnızca standart dilüent kullanılmış, hazırlanan tüm çözeltiler gün içinde kullanılmıştır.

ELISA plakaları, önceden antikor kaplı şeritler halinde sağlanmış olup, yalnızca test için gerekli olan şeritler seçilerek çerçevelerine yerleştirilmiştir. Kullanılmayan şeritler, reaktif özelliklerini koruyabilmeleri için 2-8°C arasında saklanmıştır. Test sürecinde, standart kuyucuklara 50 µL hazırlanmış standart çözelti, örnek kuyucuklarına ise 40 µL plazma örneği ve 10 µL anti-COR antikoruna pipetle dikkatlice aktarılmıştır. Ardından, tüm kuyucuklara boş kontrol kuyucuğu hariç olmak üzere, 50 µL streptavidin-HRP çözeltisi eklenmiş, reaksiyonun etkin şekilde gerçekleşmesi için çözelti homojenize edilmiş ve plaka kapatılarak 37°C’de 60 dakika boyunca inkübe edilmiştir.

Yıkama işlemlerinin etkin şekilde gerçekleştirilmesi için, kit içeriğinde sağlanan 25 kat konsantre yıkama tamponu, 480 mL deiyonize su ile seyreltilerek toplam 500 mL hacminde yıkama tamponu çözeltisi hazırlanmıştır. Tampon çözeltisinin homojen dağılması ve kristalleşmenin önüne geçmesi amacıyla karışım tam çözünene kadar dikkatlice çalkalanmış ve çözelti kullanılmadan önce bir süre dinlendirilmiştir. İnkübasyon süreci tamamlandıktan sonra, ELISA plakasının üzerindeki kapak dikkatlice kaldırılmış ve kuyucuklar beş kez yıkama tamponu ile yıkanarak reaksiyon sonrası olası artıkların giderilmesi sağlanmıştır. Her yıkama aşamasında, kuyucuklar yıkama tamponu ile tamamen doldurulmuş, belirli bir süre bekletilmiş ve ardından sıvı boşaltılmıştır. Tam yıkamanın sağlanması amacıyla her adım özenle uygulanmış ve işlem tamamlandıktan sonra plaka, emici bir kağıt üzerine ters çevrilerek kurutulmuştur.

Yıkama işleminin ardından, her kuyucuğa sırasıyla 50 µL Substrat Çözeltisi A ve 50 µL Substrat Çözeltisi B dikkatlice eklenmiştir. Bu aşamada, ışığa duyarlı bir reaksiyonun gerçekleşmesi nedeniyle, plak karanlık ortamda kapalı olarak 37°C’de 10 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra, reaksiyonun sonlandırılması amacıyla her kuyucuğa 50 µL Durdurucu Çözeltisi eklenmiş ve reaksiyon sonucunda mavi renk hızla sarıya dönüşmüştür.

Son aşamada, her kuyucuğun optik yoğunluğu (OD), 450 nm dalga boyuna ayarlanmış bir mikrotitre plak okuyucu kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm işleminin, reaksiyon sonrası stabilitenin korunması amacıyla, durdurucu çözelti eklendikten sonraki ilk 10

dakika içinde gerçekleştirilmesine özen gösterilmiştir. Elde edilen absorbanans değerleri doğrultusunda, standart eğri oluşturulmuş ve örneklerdeki kortizol konsantrasyonları regresyon analizi yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır.

Uygulanan bu prosedür, balık plazmasındaki kortizol seviyelerinin güvenilir ve doğru bir şekilde analiz edilmesini sağlamış, böylece deney sonuçlarının bilimsel geçerliliğini artırmıştır. Tüm işlemler, uluslararası kabul görmüş laboratuvar protokolleri doğrultusunda gerçekleştirilmiş ve analiz sürecinde hata payını en aza indirmek için çift kontrol mekanizmaları uygulanmıştır.

3.2.7 İstatistiksel Analizler

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi, Microsoft Office 2021 Excel ve IBM SPSS 22 yazılımları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Excel yazılımı, verilerin düzenlenmesi, ön işleme süreçlerinin yönetilmesi ve regresyon analizleri gibi istatistiksel görselleştirmelerin oluşturulması amacıyla kullanılmıştır. Regresyon analizleri, bağımsız değişkenler ile bağımlı değişkenler arasındaki ilişkinin istatistiksel doğruluğunu değerlendirmek ve grafiksel olarak ifade etmek için uygulanmıştır. Regresyon analizlerinde, R^2 (determinasyon katsayısı) değerleri hesaplanarak bağımlı değişkenin bağımsız değişkenler tarafından açıklanma oranı belirlenmiştir. Regresyon grafiklerinde, bağımsız değişkenlerin bağımlı değişken üzerindeki etkisini göstermek amacıyla regresyon denklemi ve R^2 (determinasyon katsayısı) değerleri görselleştirilmiştir.

SPSS yazılımı, veri setlerinin istatistiksel değerlendirilmesi, normalite testleri, homojenlik analizleri ve varyans analizleri gibi ileri düzey istatistiksel yöntemlerin uygulanması için kullanılmıştır. Tüm analizlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi $p = 0,05$ olarak belirlenmiş, bu da sonuçların %95 güven aralığında değerlendirildiğini ifade etmektedir.

Normalite analizleri, verilerin normal dağılıma uygunluğu, Shapiro-Wilk testi kullanılarak değerlendirilmiştir. $p > 0,05$ sonucu, verilerin normal dağılım gösterdiğini ifade ederken, $p \leq 0,05$ sonucu normal dağılımdan sapma olduğunu göstermektedir. Bu analizi desteklemek amacıyla çarpıklık (skewness) ve basıklık (kurtosis) değerleri

de incelenmiş, bu değerlerin -1,96 ile +1,96 aralığında olması, verilerin normal dağılıma uygunluğunu doğrulamıştır (Karaatlı, 2016).

Varyans homojenliği, gruplar arasındaki varyansların eşit olup olmadığını test etmek için Levene testi uygulanmıştır. $p > 0,05$ sonucu, varyansların homojen olduğunu gösterirken, $p \leq 0,05$ sonucu gruplar arasında varyans farkı bulunduğunu ifade etmektedir. Ancak, çalışmada farklı konsantrasyon gruplarının biyolojik etkileri nedeniyle bazı gruplar arasında varyans homojenliği sağlanamamış, bu durum istatistiksel analiz yöntemlerinin seçiminde dikkate alınmıştır. Bu gibi durumlarda, homojenlik varsayımını gerektirmeyen Welch ANOVA testi kullanılarak daha güvenilir sonuçlar elde edilmiştir (Antalyalı, 2016).

Gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak değerlendirilmesi amacıyla Tukey Post-Hoc testi uygulanmış, elde edilen sonuçlar tablolar üzerinde üst indis harflerle gösterilmiştir. Aynı harf ile işaretlenmiş gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı kabul edilirken, farklı harflerle işaretlenen gruplar arasında anlamlı farklılıkların olduğu ifade edilmiştir.

Verilerin istatistiksel analizinde parametrik testlerin uygulanabilmesi için normal dağılım ve varyans homojenliği koşullarının sağlanması gerekmektedir. Bu doğrultuda, normalite testi sonuçları Shapiro-Wilk testi ile değerlendirilmiş, $p > 0,05$ değerleri verilerin normal dağılım gösterdiğini ortaya koyarak parametrik testlerin uygulanabilir olduğunu desteklemiştir.

Gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek için yapılan varyans analizlerinde elde edilen p değerleri dikkate alınmış ve şu kriterlere göre yorumlanmıştır. $p > 0,05$ değeri, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını gösterirken, $p \leq 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunduğunu ifade etmektedir.

Gruplar arasındaki farkların değerlendirilmesinde, istatistiksel analiz yöntemlerinden biri olan Tukey Post-Hoc testi kullanılmıştır. Bu test, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların belirlenmesi ve hangi gruplar arasındaki farkların anlamlı olduğunun ortaya konulması amacıyla uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar, tablolar üzerinde üst indis harflerle gösterilmiş, aynı harfle işaretlenen gruplar arasında anlamlı

bir fark bulunmadığı, farklı harflerle işaretlenen gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ifade edilmiştir.

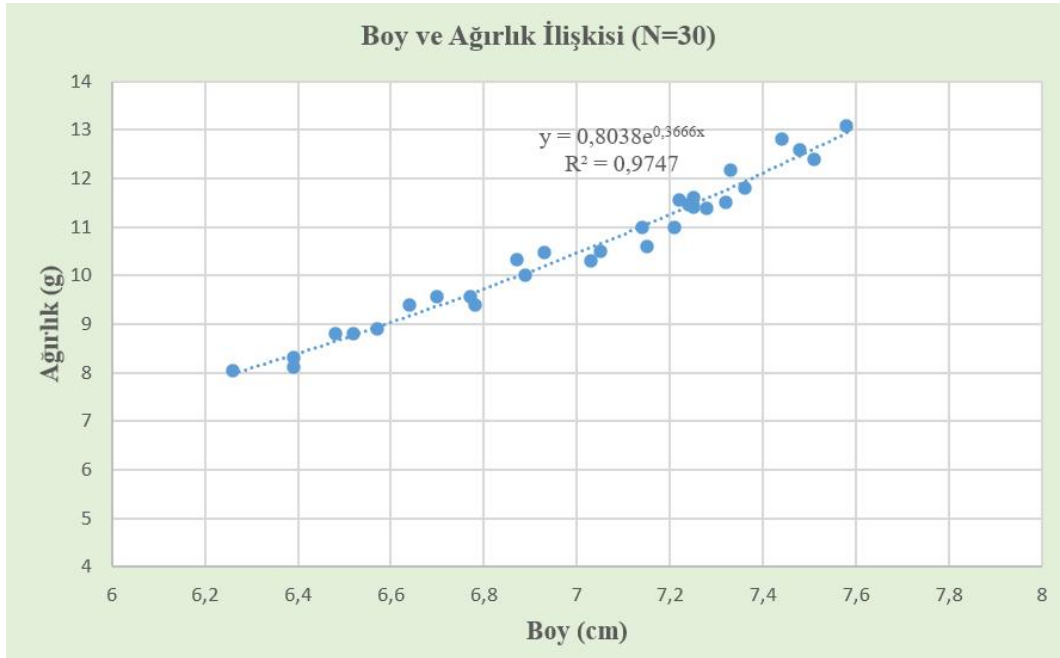


4. BULGULAR

4.1 Boy ve Ağırlık İlişkisi

Deneyler öncesinde, rastgele seçilen 30 bireyin boy ve ağırlık ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda, balıkların ortalama boy uzunluğu $7,001 \pm 0,3757$ (en alt: 6,26; en üst: 7,58) cm, ortalama ağırlıkları ise $10,56 \pm 1,4382$ (en alt: 8,04; en 13,07) g olarak belirlenmiştir. Ölçümler sırasında elde edilen standart sapma değerleri, bireyler arasındaki varyasyonun düşük olduğunu göstermiş ve deney gruplarında homojen bir dağılım sağlandığını ortaya koymuştur.

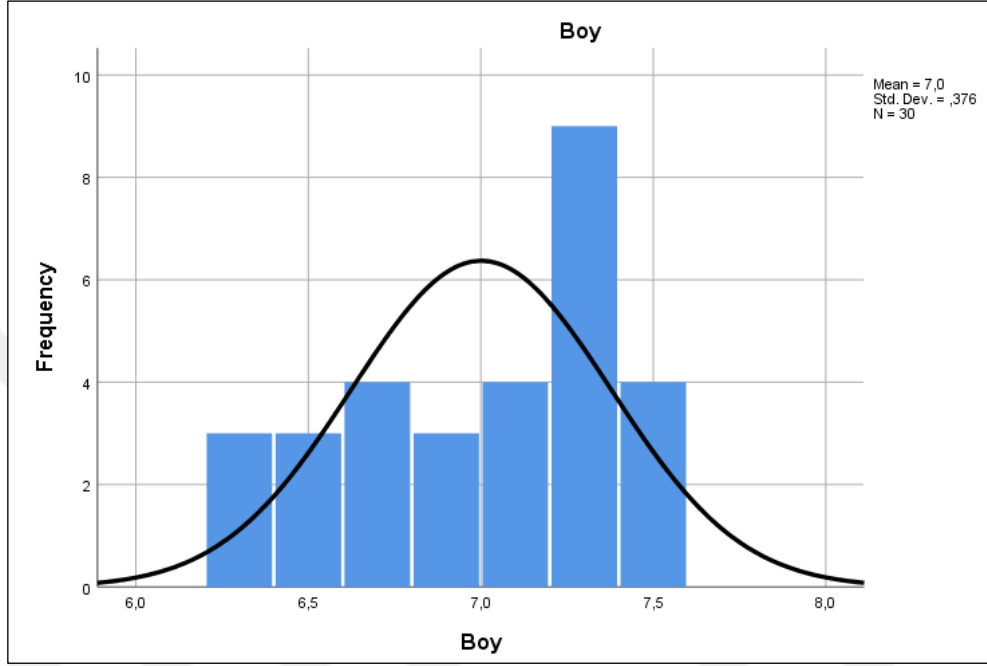
İlk getirildiklerinde ortalama ağırlıkları $6,42 \pm 1,03$ g (N = 50) olarak hesaplanmış olan balıklar, deneyler öncesi büyütülmüştür. Kapalı devre sistemde büyütülen balıklardan, deneyler öncesinde, deneylerde kullanılmak üzere benzer boy ve ağırlığa sahip bireylerin stoklanması sağlanmış ve rastgele seçilen 30 birey üzerinden boy-ağırlık ilişkisi değerlendirilmiştir. Bu ilişkinin detayları Şekil 4.1'de sunulmaktadır.



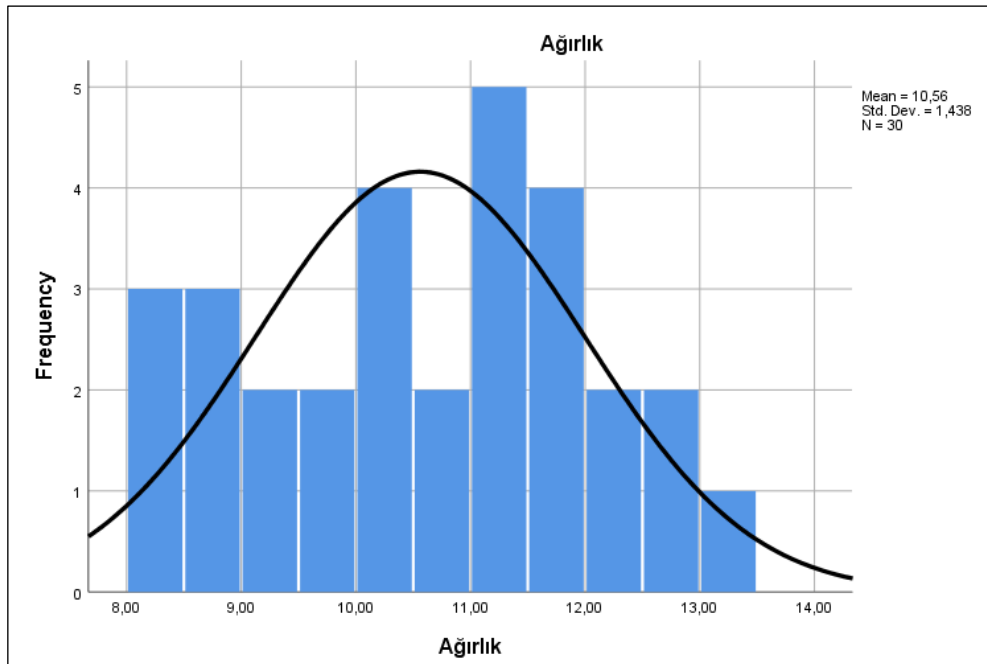
Şekil 4.1 Boy-ağırlık ilişkisi

30 örneklemin tamamının gösterildiği boy-ağırlık grafiğinde, bu iki parametre arasındaki ilişki %97,47 (R^2) olarak hesaplanmıştır.

Şekil 4.2'de, rastgele seçilen 30 bireyin boy dağılım frekansı, Şekil 4.3'te ise aynı bireylerin ağırlık dağılım frekansı detaylı olarak gösterilmektedir. Bu grafikler, deney gruplarındaki bireylerin homojenliğini değerlendirmek ve biyometrik ölçümler arasındaki dağılımı görselleştirmek amacıyla hazırlanmıştır.



Şekil 4.2 Boy dağılım frekansı



Şekil 4.3 Ağırlık dağılım frekansı

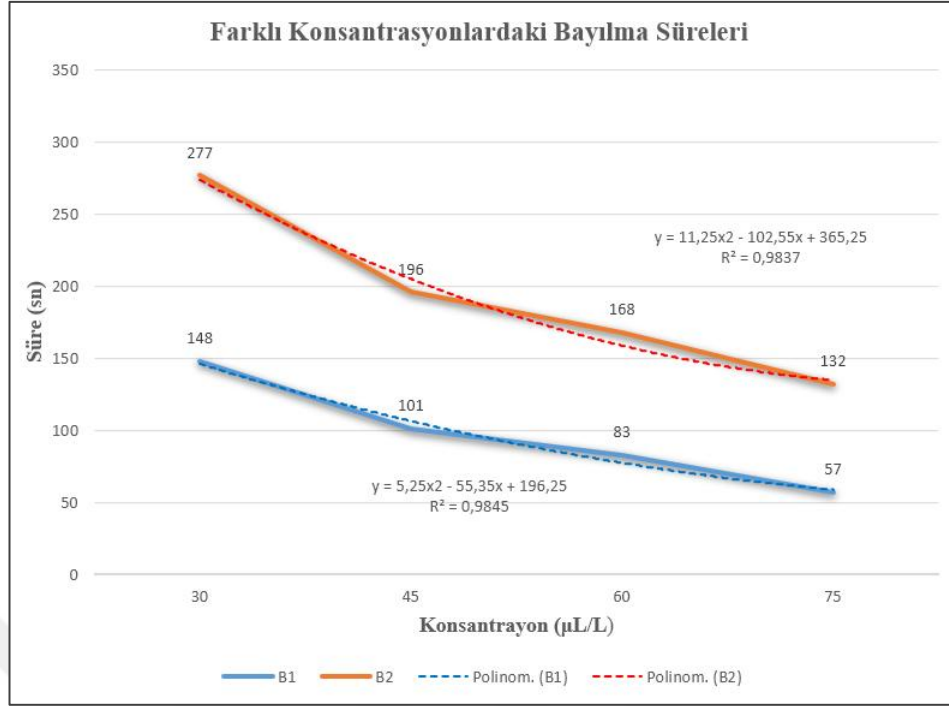
4.2 Anestezi Bulguları

Bu bölümde, Japon balığının derin anestezi sürecinde kullanılan karanfil yağı ile elde edilen bayılma ve ayılma süreleri ele alınmıştır. Ayrıca, balıkların anesteziye yanıt sürecinde sergiledikleri davranışsal tepkiler, türe ve anesteziğe spesifik olarak sunulmuştur. Deneyler sırasında gözlemlenen motor aktivite değişimleri, solunum paternleri ve refleks kayıpları, anestezik etkinliğin belirlenmesinde önemli parametreler olarak ele alınmış ve ilgili başlıklar altında değinilmiştir.

4.2.1 Bayılma ve Ayılma Süreleri

Deneyler sonucunda, balıkların üç dakika içerisinde derin anesteziye ulaşmasını ve beş dakika içinde tamamen ayılmasını sağlayan optimum anestezik konsantrasyonlar belirlenmiştir. Bu kriterler göz önüne alındığında, karanfil yağı için en uygun konsantrasyon 60 µL/L olarak tespit edilmiştir. Ancak, 45 µL/L konsantrasyonunda da üç dakikaya yakın bir B2 süresi elde edilmiştir, bu da nispeten etkili bir doz olarak değerlendirilmiştir.

Farklı konsantrasyonlara göre bayılma ve ayılma süreleri karşılaştırmalı olarak analiz edilmiş ve elde edilen veriler regresyon grafikleri ile görselleştirilmiştir (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5). Tüm deney gruplarında anestezi sonrası süreç detaylı şekilde izlenmiş ve uygulamaların ardından geçen beş günlük gözlem süresince hiçbir bireyde mortalite kaydedilmemiştir. Ayılma sürecini tamamlayan balıkların, belirlenen süreler içerisinde normal yüzmeye, denge sağlama ve beslenme davranışlarını sergilediği tespit edilmiştir. Ayılma sonrası hareketlilik seviyelerinin, her konsantrasyon grubunda benzerlik gösterdiği kaydedilmiş, bireyler herhangi bir anormal davranış örneği sergilememiştir. Bu veriler, uygulanan konsantrasyonların deney koşulları altında balıkların yaşamsal fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilemediğini ve tüm bireylerin anestezi sürecini başarıyla tamamladığını göstermektedir.



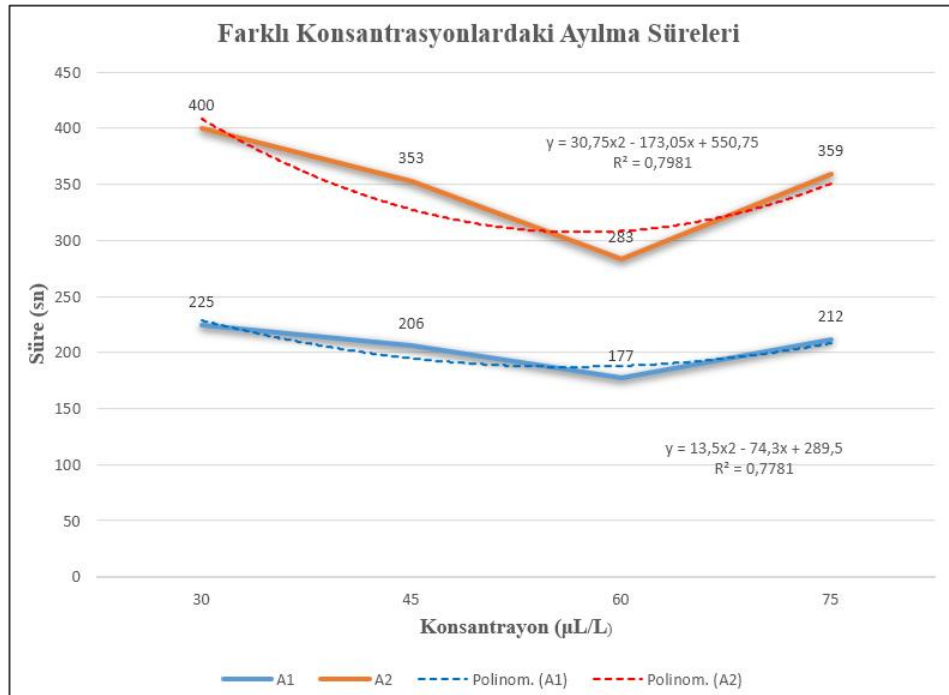
Şekil 4.4 Farklı anestezi dozlarında sağlanan bayılma süreleri

Derin anestezi deneylerinde uygulanan 30, 45, 60 ve 75 µL/L konsantrasyonlarında, B1 süresi sırasıyla 148, 101, 83 ve 57 saniye; B2 süresi ise sırasıyla 277, 196, 168 ve 132 saniye olarak kaydedilmiştir. B1, balıkların sedasyona ulaştığı süreyi ifade etmekte olup, bayılma sürecinde sergilenen davranışların gözlemlenmesi açısından önemli bir gösterge niteliği taşımaktadır. Özellikle, derin anestezi aşamasına geçiş öncesinde bireylerin motor koordinasyon kaybı, solungaç hareketlerinin azalması ve yüzme aktivitelerindeki değişim gibi fizyolojik yanıtlarının değerlendirilmesi açısından B1 süresi dikkate alınmıştır.

Ancak, anestezi maddenin etkin konsantrasyonunun belirlenmesi açısından, balıkların üç dakika içerisinde derin anesteziye ulaşmasını sağlayan B2 süresi kritik bir parametre olarak öne çıkmaktadır. Elde edilen bulgular doğrultusunda, 60 µL/L konsantrasyonu, 180 saniyelik (3 dakika) sürenin en yakınında bir değer sağlamış ve optimum anestezi dozu olarak belirlenmiştir. 75 µL/L konsantrasyonu, anesteziye ulaşım süresini daha da kısaltmasına rağmen, daha yüksek doz kullanımı nedeniyle gereksiz bir anestezi yük oluşturduğu değerlendirilmiştir. Buna karşın, 45 µL/L dozunda B2 süresinin 3 dakikadan uzun olması, bu konsantrasyonun nispeten düşük etkinlik gösterdiğini ortaya koymuştur. En düşük konsantrasyon olan 30 µL/L ise, belirlenen süre içerisinde derin anestezi sağlama açısından yetersiz bulunmuştur.

Regresyon analizi sonuçları, anestezi konsantrasyonu ile bayılma süreleri arasındaki ilişkinin istatistiksel olarak güçlü bir yapıya sahip olduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen verilere göre, bağımlı değişken olan bayılma süreleri ile bağımsız değişken olan anestezi konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi ifade eden R^2 değerleri B1 için 0,9845, B2 için ise 0,9837 olarak hesaplanmıştır. Bu yüksek R^2 değerleri, anestezi sürecinin belirleyici parametrelerinden biri olan bayılma süresinin, anestezi konsantrasyonundaki değişimlere oldukça duyarlı olduğunu ve iki değişken arasındaki ilişkinin güçlü bir doğrusal korelasyon sergilediğini göstermektedir.

Bu bulgular, karanfil yağı konsantrasyonunun artışıyla birlikte bayılma süresinin belirgin şekilde azaldığını ortaya koymuş ve bu değişimin düzenli bir eğilim gösterdiğini doğrulamıştır. Özellikle, her iki bayılma aşaması (B1 ve B2) için elde edilen determinasyon katsayılarının yüksek olması, kullanılan anestezi maddenin doz-bağımlı bir etki mekanizmasına sahip olduğunu desteklemektedir. Anestezi konsantrasyonunun artışıyla birlikte sinir sisteminin baskılanma sürecinin hızlandığı ve bayılmaya geçiş sürecinin kısaldığı görülmüştür. Bu sonuçlar, karanfil yağı kullanılarak uygulanan anestezi protokolünün etkili bir şekilde optimize edilebilmesi açısından önemli bir referans oluşturmaktadır.



Şekil 4.5 Farklı dozlardaki anestezi uygulamaları sonrasında elde edilen ayılma süreleri

Karanfil yağı, etkili bir anestezi ajanı olarak 3 dakika içinde derin anesteziyi sağlama kapasitesine sahip olmasına karşın, bu anesteziye özgü bir durum olarak, ayılma süreleri genellikle 5 dakikayı aşmaktadır (Ballıkaya, 2016; Paruğ, 2012). Düşük konsantrasyonlarda anesteziye ulaşma süresi uzarken, dolayısıyla balıkların maruziyet süresi de artmaktadır. Öte yandan, yüksek konsantrasyon uygulamalarında, anestezi maddeye kısa sürede ancak daha yoğun şekilde maruz kalınması, balıkların tam anlamıyla toparlanma süreçlerini uzatabilmektedir. Bu durum, Eugenol bileşiğinin doz-bağımlı etkilerinin ve balıkların fizyolojik adaptasyon süreçlerinin bir sonucu olarak değerlendirilmektedir.

Anestezi deneylerinde elde edilen A2 süreleri incelendiğinde, ayılma süresinin uygulanan anestezi konsantrasyonuna bağlı olarak değişkenlik gösterdiği gözlemlenmiştir. 30 µL/L konsantrasyonunda A2 süresi 400 saniye olarak belirlenirken, 45 µL/L dozunda bu süre 353 saniye, 60 µL/L dozunda 283 saniye ve 75 µL/L dozunda 359 saniye olarak kaydedilmiştir. Bu bulgular, anestezi maddenin dozuna bağlı olarak bayılma süresinin belirgin şekilde kısaldığını göstermesine karşın, ayılma süresi açısından doz-bağımlı düzenli bir azalma eğilimi sergilenmediğini ortaya koymuştur.

Özellikle, 60 µL/L konsantrasyonunda elde edilen 283 saniyelik A2 süresi, balıkların 5 dakika içerisinde tamamen ayılabildiği tek doz olarak öne çıkmaktadır. Diğer tüm konsantrasyonlarda A2 süreleri 5 dakikayı aşmış, bu da balıkların anesteziden tam olarak toparlanma süreçlerinde farklı etkenlerin rol oynayabileceğini göstermiştir. Daha düşük konsantrasyonlarda anesteziye geçişin daha uzun sürdüğü ve dolayısıyla balıkların daha uzun süre maruziyete kaldığı göz önüne alındığında, 30 ve 45 µL/L dozlarında tam toparlanma süresinin uzaması beklenen bir durumdur. Bununla birlikte, 75 µL/L gibi daha yüksek konsantrasyonda da ayılma süresinin nispeten uzun olması, maruziyet süresi kısalmış olsa da yüksek dozun balıklar üzerinde daha uzun süren bir etkiye neden olduğunu düşündürmektedir. Bu sonuçlar, karanfil yağının doz-bağımlı anestezi etkisinin bayılma süresinde güçlü bir eğilim gösterdiğini, ancak ayılma süresinde daha karmaşık bir yanıt mekanizmasının söz konusu olduğunu ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar, karanfil yağının doz-bağımlı anestezi etkisinin bayılma süresinde güçlü bir eğilim gösterdiğini, ancak ayılma süresinde daha karmaşık bir yanıt

mekanizmasının söz konusu olduğunu ortaya koymaktadır. Anestezi sürecinde elde edilen yüksek determinasyon katsayıları (B1 için $R^2 = 0,9845$; B2 için $R^2 = 0,9837$), bayılma sürelerinin anestezi konsantrasyon ile oldukça güçlü bir ilişki sergilediğini gösterirken, ayılma sürelerine ait katsayıların (A1 için $R^2 = 0,7781$; A2 için $R^2 = 0,7981$) görece daha düşük olması, bu sürecin tek bir faktörden ziyade birden fazla değişkenin etkisi altında şekillendiğine işaret etmektedir.

Regresyon analizi sonuçlarına göre, anestezi konsantrasyon ile bayılma süreleri arasındaki ilişkiyi temsil eden R^2 değerleri, B1 için 0,985 ve B2 için 0,992 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler, bağımsız değişken olan konsantrasyonun bayılma süreleri üzerindeki etkisinin son derece güçlü olduğunu ve aralarındaki ilişkinin istatistiksel olarak oldukça sağlam bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir. Elde edilen bulgular, 2-Phenoxyethanol konsantrasyonundaki artışın, bayılma sürelerinde belirgin bir kısalmaya yol açtığını net bir şekilde ortaya koymaktadır.

4.2.2 Bayılma ve Ayılma Sırasında Sergilenen Davranışlar

Anestezi sürecinde balıkların sergilediği davranışlar, kullanılan anestezi madde, türün fizyolojik özellikleri ve çevresel faktörler gibi birçok değişkene bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir. Literatürde yer alan bayılma ve ayılma aşamalarına ilişkin davranış sınıflandırmaları, genel bir çerçeve sunmakla birlikte, her türün kendine özgü biyolojik ve fizyolojik özellikleri nedeniyle tür bazında farklılıklar gösterebilmektedir. Aynı şekilde, farklı anesteziye, farklı davranışsal tepkiler verilebilmektedir. “Literatür Taraması” başlığı altında sunulan Tablo 2.3’te, farklı balıkların geneli için tanımlanmış anestezi ve ayılma aşamaları verilmiş olsa da, bu sınıflandırmaların tüm türler için birebir geçerli olmadığı ve türlere özgü spesifik davranış farklılıklarının göz önünde bulundurulması gerektiği açıktır (Ballıkaya, 2016). Bu çalışmada, Japon balıklarının karanfil yağı ile anesteziye verdikleri tepkiler ayrıntılı olarak incelenmiş ve bayılma ile ayılma aşamalarında sergilenen tüm davranışlar detaylı şekilde kayıt altına alınmıştır. Japon balıklarının anestezi süreci boyunca geçirdiği farklı aşamalar ve bu aşamalarda gözlemlenen davranış değişimleri, Tablo 4.1’de sunulmuştur.

Tablo 4.1 Karanfil yağının japon balığı üzerinde oluşturduğu davranışsal etkileri

Anestezinin aşamaları	Balığın Davranışı
<p>B1</p> <p>B2</p>	<p>Anestezik maddenin suya eklenmesiyle birlikte, balıkların genel hareketlerinde belirgin bir yavaşlama gözlemlenmiştir. Yüzgeç hareketleri giderek azalırken, solungaç kapağına bağlı ventilasyon ritminde düzensizlik meydana gelmiştir. Balıkların başlangıçta çevresel uyaranlara karşı hafif bir duyarlılık gösterdiği, ancak ilerleyen süreçte hareket kabiliyetlerinin kısıtlandığı ve su içerisindeki genel aktivitenin azaldığı kaydedilmiştir.</p> <p>Bu aşamada, balıkların anestezisyona verdiği tepkiler daha belirgin hale gelmiştir. Ataklar şeklinde ani ve düzensiz yüzme hareketleri sergiledikten sonra, bireylerin koordinasyonu kaybolmuş ve spiral hareketler ile dibe batma davranışları gözlemlenmiştir. Takip eden süreçte, bazı bireyler tamamen hareketsiz hale gelerek suyun dibinde yatarken, bazıları ters dönerek veya sırt üstü yüzeye çıkarak anestezinin ileri aşamalarına geçiş yapmıştır. Özellikle su yüzeyinde veya ters pozisyonda hareketsiz kalan bireylerin, Japon balıklarında yaygın olarak görülen hava kesesi hipertrofinesine bağlı olarak bu şekilde konumlandıkları düşünülmektedir. Bu aşamada, dorsal ve anal yüzgeçlerin hareketi tamamen durmuş, pektoral yüzgeç hareketleri ise son derece minimal seviyeye inmiştir.</p>
Ayılmanın aşamaları	Balığın Davranışı
<p>A1</p> <p>A2</p>	<p>İlk olarak, pektoral yüzgeç hareketlerinde hafif artış ve operkulum ritimlerinde düzensiz ancak belirgin bir canlanma gözlemlenmiştir. Bu hareketlerin ardından, tekli yüzgeçler (dorsal, anal ve kaudal yüzgeçler) kademeli olarak hareketlenmiş ve balıkların denge kurma çabaları başlamıştır. Ancak, bu süreçte bazı bireylerde spiral yüzme hareketleri, bazı bireylerde ise koordinasyon bozukluğuna bağlı olarak sağa sola yalpalamalar görülmüştür. Anestezinin derinleşme aşamasında ortaya çıkan davranışlarla benzerlik gösteren bu hareketler, balıkların nöromusküler sistem üzerindeki anestezik etkiden kurtulma sürecinde olduğunu göstermektedir. Ayılmanın bu erken safhasında, balıklar genellikle su kolonunda düzensiz hareketlerle ilerlemeye çalışmış, ancak çoğu bireyin motor koordinasyonu henüz tam olarak düzelmediği için kontrolsüz yön değiştirmeler gözlemlenmiştir.</p> <p>Ayılma sürecinin ikinci aşamasında, göz refleksleri geri kazanılmış ve bireylerin çevrelerini izlemeye başladıkları kaydedilmiştir. Operkulum hareketleri tamamen düzenli hale gelmiş, ventilasyon daha ritmik ve derinleşmiş bir yapı kazanmıştır. Yüzgeç hareketlerindeki artış belirgin hale gelirken, vücut koordinasyonu büyük ölçüde düzelmiş ve bireyler kontrollü bir şekilde yüzmeye başlamıştır. Son olarak, balıkların tamamı anestezik etkinin sona ermesiyle normal yüzüş dinamiğini geri kazanmış ve su kolonunda serbest şekilde hareket etmeye başlamıştır.</p>

4.3 Sedasyon Deneyi Bulguları

4.3.1 Sedasyonun Sonlandırılma Aşamasında Gözlemlenen Balık Davranışları

Deney sonunda gerçekleştirilen gözlemler, farklı sedasyon konsantrasyonlarının balık davranışları üzerinde belirgin etkiler yarattığını ortaya koymuştur. Karanfil yağı ile gerçekleştirilen sedasyon gruplarında, derin anestezi konsantrasyonlarında gözlemlenen davranışların aksine, balıkların genel olarak daha sakin hareketler sergilediği görülmüştür. Özellikle 6 µL/L konsantrasyonunda, balıkların su kolonunda daha stabil bir dağılım gösterdiği, yüzeye gereksiz çıkışların azaldığı ve hareketlerinin daha düzenli olduğu kaydedilmiştir. Operkular ventilasyon hızlarının da bu konsantrasyonda nispeten düşük olduğu belirlenmiştir. 4,5 µL/L konsantrasyonunda ise, balıkların hareketlerinde belirgin bir azalma gözlemlenmiş olsa da, dış uyaranlara karşı tepki verme refleksi halen aktif durumdaydı. Bu gruptaki bireylerin suyun üst ve orta katmanlarında nispeten daha fazla vakit geçirdiği kaydedilmiştir.

En yüksek konsantrasyon olan 7,5 µL/L grubunda, sedasyon etkisinin belirgin olmasına rağmen, uzun süreli maruziyetin olumsuz etkileri gözlemlenmiştir. Balıkların hareketlerinde düzensizlikler meydana gelmiş, bazı bireylerin zaman zaman suyun üst kısmında anormal şekilde asılı kaldığı ya da dibe çökme eğilimi gösterdiği belirlenmiştir. Bu durum, uzun süreli maruziyete bağlı olarak karanfil yağının toksik etkisinin ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir.

Negatif kontrol grubundaki bireylerde, tüm gruplar arasında en yüksek stres belirtileri gözlemlenmiştir. Bu gruptaki balıklar, sık sık yüzeye çıkma, hızlı soluma ve düzensiz yüzme hareketleri sergilemiştir. Özellikle 72 saatlik maruziyet süresi tamamlandığında, bazı bireylerde hipoksiye bağlı olarak gelişebilecek toplu hareket bozuklukları dikkat çekmiştir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, karanfil yağının en uygun hafif sedasyon etkisini 6 µL/L konsantrasyonunda sağladığı, 4,5 µL/L dozunun ise belirli ölçüde etkili olduğu ancak optimal seviyeye tam olarak ulaşmadığı, 7,5 µL/L konsantrasyonunda ise uzun süreli maruziyette istenmeyen fizyolojik tepkimelerin ortaya çıktığı belirlenmiştir.

4.3.2 Sedasyon Sonrası Su Parametreleri ve Yaşama Oranları

Sedasyon deneylerinin tamamlanmasının ardından, farklı konsantrasyonlarda karanfil yağı kullanılarak oluşturulan üç tekerrürlü gruplar ile anestezi madde içermeyen negatif kontrol grubuna ait temel parametreler, 24 saat, 48 saat ve 72 saatlik maruziyet süreleri sonunda değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeler kapsamında, balıkların davranışsal tepkileri, metabolik durumlarını yansıtan ventilasyon oranları ve yaşama oranlarının yanı sıra, çeşitli su parametrelerindeki değişimler detaylı olarak incelenmiştir. İlgili veriler, aşağıda sunulan tablolarda özetlenmiştir.

Tablolarda yalnızca deney süresi boyunca gözlemlenen yaşama oranları değil, aynı zamanda balıkların deney sonundaki genel sağlık durumlarını değerlendirmek amacıyla kaydedilen su parametreleri de yer almaktadır. Kapalı sistemlerde gerçekleştirilen uzun süreli sedasyon uygulamaları sırasında, su kalitesinde meydana gelen değişimler, balıkların düşük çözülmüş oksijen (DO) seviyelerine ve yüksek NH₃ birikimine maruz kalmasına neden olmakta, bu da fizyolojik stres ve metabolik bozuklukları tetikleyebilmektedir. Bu nedenle, sedasyon uygulamalarının fizyolojik etkilerini daha kapsamlı değerlendirebilmek amacıyla, deney boyunca elde edilen su kalitesi verileri de dikkate alınarak analiz edilmiştir.

Tablolarda yer alan kısaltmalar, çalışmada kullanılan parametreleri ve deney değişkenlerini ifade etmektedir. Kar. y. karanfil yağı, DO çözülmüş oksijen seviyesini, NH₃ amonyak konsantrasyonunu, DVS dakikadaki operkular ventilasyon sayısını, YO yaşama oranını, HK hayatta kalan birey sayısını, NK negatif kontrol grubunu, Ort. ortalama değeri ve Std. s. standart sapmayı temsil etmektedir. Bu kısaltmalar, tabloların anlaşılabilirliğini artırmak ve verilerin karşılaştırılmasını kolaylaştırmak amacıyla kullanılmıştır.

Tablo 4.2’de, sedasyon gruplarından elde edilen bulguların değerlendirilmesine ve karşılaştırılmasına referans oluşturmak amacıyla belirlenen negatif kontrol grubuna ait veriler ile 24 saatlik maruziyet sonrasında elde edilen sonuçlar detaylı bir şekilde sunulmaktadır.

Tablo 4.2 NK grubunda 24 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri

Tekrar	DO (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	DVS	HK	YO
1	2,21	0,61	90	8	100
2	2,32	0,74	88	7	87,5
3	2,26	0,69	88	8	100
Ort.	2,26	0,68	88,67	7,67	95,83
Std. s.	0,06	0,07	1,15	0,58	7,22

Tablo 4.3'te, 3 µL/L konsantrasyonunda karanfil yağı kullanılarak gerçekleştirilen 24 saatlik sedasyon uygulaması sonrasında elde edilen veriler sunulmaktadır.

Tablo 4.3 3 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 24 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri

Tekrar	DO (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	DVS	HK	YO
1	2,94	0,52	81	8	100
2	3,02	0,48	83	8	100
3	2,88	0,49	78	8	100
Ort.	2,95	0,50	80,67	8,00	100,00
Std. s.	0,07	0,02	2,52	0,00	0,00

Tablo 4.4'te, 4,5 µL/L konsantrasyonunda karanfil yağı kullanılarak gerçekleştirilen 24 saatlik sedasyon uygulaması sonrasında elde edilen veriler sunulmaktadır.

Tablo 4.4 4,5 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 24 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri

Tekrar	DO (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	DVS	HK	YO
1	3,27	0,47	72	8	100
2	3,38	0,45	70	8	100
3	2,99	0,41	68	8	100
Ort.	3,21	0,44	70,00	8,00	100,00
Std. s.	0,20	0,03	2,00	0,00	0,00

Tablo 4.5'te, 6 µL/L konsantrasyonunda karanfil yağı kullanılarak gerçekleştirilen 24 saatlik sedasyon uygulaması sonrasında elde edilen veriler sunulmaktadır.

Tablo 4.5 6 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 24 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri

Tekrar	DO (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	DVS	HK	YO
1	3,73	0,38	67	8	100
2	3,51	0,41	69	8	100
3	3,44	0,39	72	8	100
Ort.	3,56	0,39	69,33	8,00	100,00
Std. s.	0,15	0,02	2,52	0,00	0,00

Tablo 4.6'da, 7,5 µL/L konsantrasyonunda karanfil yağı kullanılarak gerçekleştirilen 24 saatlik sedasyon uygulaması sonrasında elde edilen veriler sunulmaktadır.

Tablo 4.6 7,5 µL/L konsantrasyonda karanfil yağı ile 24 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri

Tekrar	DO (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	DVS	HK	YO
1	3,47	0,4	69	8	100
2	3,32	0,45	78	8	100
3	3,38	0,43	72	8	100
Ort.	3,39	0,43	73,00	8,00	100,00
Std. s.	0,08	0,03	4,58	0,00	0,00

Tablo 4.7'de, sedasyon gruplarından elde edilen bulguların değerlendirilmesine ve karşılaştırılmasına referans oluşturmak amacıyla belirlenen negatif kontrol grubuna ait veriler ile 48 saatlik maruziyet sürecinde kaydedilen ölçümler sunulmaktadır. Bu tabloda, farklı grupların fizyolojik tepkileri, stres göstergeleri ve yaşama oranları açısından karşılaştırılması yapılmış, negatif kontrol grubunun sonuçları ile sedasyon uygulanan balıkların verileri detaylı şekilde ele alınmıştır.

Tablo 4.7 NK grubunda 48 saatlik sedasyon uygulaması sonrasında su parametreleri, DVS ve YO değerleri

Tekrar	DO (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	DVS	HK	YO
1	1,61	0,79	74	7	87,5
2	1,58	0,82	81	6	75
3	1,72	0,88	83	6	75
Ort.	1,64	0,83	79,33	6,33	79,17
Std. s.	0,07	0,05	4,73	0,58	7,22

Aşağıda, karanfil yağı kullanılarak uygulanan 3 µL/L, 4,5 µL/L, 6 µL/L ve 7,5 µL/L konsantrasyonlarındaki 48 saatlik sedasyon işlemi sonrasında ve takip eden 5 günlük gözlem sürecinde elde edilen verilere yer verilmiştir.

Tablo 4.8’de, 3 µL/L konsantrasyonunda karanfil yağı kullanılarak gerçekleştirilen 48 saatlik sedasyon uygulaması sonrasında elde edilen veriler sunulmaktadır.

Tablo 4.8 3 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 48 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri

Tekrar	DO (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	DVS	HK	YO
1	2,61	0,54	73	8	100
2	2,09	0,61	77	7	87,5
3	2,18	0,57	76	7	87,5
Ort.	2,29	0,57	75,33	7,33	91,67
Std. s.	0,28	0,04	2,08	0,58	7,22

Tablo 4.9’da, 4,5 µL/L konsantrasyonunda karanfil yağı kullanılarak gerçekleştirilen 48 saatlik sedasyon uygulaması sonrasında elde edilen verilere yer verilmektedir.

Tablo 4.9 4,5 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 48 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri

Tekrar	DO (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	DVS	HK	YO
1	2,88	0,51	71	8	100
2	2,94	0,48	67	8	100
3	2,56	0,55	77	8	100
Ort.	2,79	0,51	71,67	8,00	100,00
Std. s.	0,20	0,04	5,03	0,00	0,00

Tablo 4.10'da, 48 saatlik sedasyon sürecinde, 6 µL/L konsantrasyonunda karanfil yağı uygulanarak elde edilen bulgular raporlanmaktadır.

Tablo 4.10 6 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 48 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri

Tekrar	DO (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	DVS	HK	YO
1	3,07	0,47	64	8	100
2	2,92	0,45	70	8	100
3	3,11	0,42	65	8	100
Ort.	3,03	0,45	66,33	8,00	100,00
Std. s.	0,10	0,03	3,21	0,00	0,00

Tablo 4.11'de, 7,5 µL/L konsantrasyonunda karanfil yağı kullanılarak gerçekleştirilen 48 saatlik sedasyon uygulaması sonrasında elde edilen veriler sunulmaktadır.

Tablo 4.11 7,5 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 48 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri

Tekrar	DO (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	DVS	HK	YO
1	2,91	0,58	69	7	87,5
2	2,73	0,49	78	8	100
3	2,68	0,55	72	7	87,5
Ort.	2,77	0,54	73,00	7,33	91,67
Std. s.	0,12	0,05	4,58	0,58	7,22

Tablo 4.12’de, sedasyon gruplarından elde edilen bulguların değerlendirilmesine ve karşılaştırılmasına referans oluşturmak amacıyla belirlenen negatif kontrol grubu ile 72 saatlik maruziyet uygulaması sonrasında elde edilen veriler sunulmaktadır.

Tablo 4.12 NK grubunda 72 saatlik sedasyon uygulaması sonrasında su parametreleri, DVS ve YO değerleri

Tekrar	DO (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	DVS	HK	YO
1	0,92	0,98	63	4	50
2	1,24	0,91	59	5	62,5
3	0,88	0,94	60	4	50
Ort.	1,01	0,94	60,67	4,33	54,17
Std. s.	0,20	0,04	2,08	0,58	7,22

Tablo 4.13’de, 3 µL/L konsantrasyonunda karanfil yağı kullanılarak gerçekleştirilen 72 saatlik sedasyon uygulaması sonrasında elde edilen veriler sunulmaktadır.

Tablo 4.13 3 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 72 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri

Tekrar	DO (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	DVS	HK	YO
1	1,15	0,79	71	6	75
2	1,18	0,81	68	6	75
3	1,05	0,92	65	5	62,5
Ort.	1,13	0,84	68,00	5,67	70,83
Std. s.	0,07	0,07	3,00	0,58	7,22

Tablo 4.14’te, 4,5 µL/L konsantrasyonunda karanfil yağı kullanılarak gerçekleştirilen 72 saatlik sedasyon uygulaması sonrasında elde edilen veriler sunulmaktadır.

Tablo 4.14 4,5 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 72 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri

Tekrar	DO (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	DVS	HK	YO
1	1,44	0,59	61	6	75
2	1,56	0,68	64	7	87,5
3	1,27	0,74	69	6	75
Ort.	1,42	0,67	64,67	6,33	79,17
Std. s.	0,15	0,08	4,04	0,58	7,22

Tablo 4.15'te, 6 µL/L konsantrasyonunda karanfil yağı kullanılarak gerçekleştirilen 72 saatlik sedasyon uygulaması sonrasında elde edilen veriler sunulmaktadır.

Tablo 4.15 6 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 72 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri

Tekrar	DO (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	DVS	HK	YO
1	1,71	0,65	61	7	87,5
2	1,96	0,54	57	8	100
3	1,51	0,67	66	6	75
Ort.	1,73	0,62	61,33	7,00	87,50
Std. s.	0,23	0,07	4,51	1,00	12,50

Tablo 4.16'da, 7,5 µL/L konsantrasyonunda karanfil yağı kullanılarak gerçekleştirilen 72 saatlik sedasyon uygulaması sonrasında elde edilen veriler sunulmaktadır.

Tablo 4.16 7,5 µL/L konsantrasyonda Kar. y. ile 72 saatlik sedasyon sonrasındaki su parametreleri, DVS ve YO değerleri

Tekrar	DO (mg/L)	NH ₃ (mg/L)	DVS	HK	YO
1	1,27	0,73	61	4	50
2	1,13	0,69	58	4	50
3	1,32	0,61	55	5	62,5
Ort.	1,24	0,68	58,00	4,33	54,17
Std. s.	0,10	0,06	3,00	0,58	7,22

4.3.3 Kortizol Seviyeleri

Normal dağılım şartının karşılanması nedeniyle, gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkların değerlendirilmesinde parametrik analiz yöntemleri kullanılmıştır. Bu kapsamda, varyans analizine ek olarak, varyans homojenliği kriterlerinin sağlanmadığı durumlar için Welch ANOVA testi uygulanmıştır. Gruplar arasında gözlemlenen farklılıkların detaylı incelenmesi amacıyla ise istatistiksel anlamlılık düzeyleri Tukey Post-Hoc testi ile belirlenmiştir.

Tablo 4.17 ve Tablo 4.18’de, plazma kortizol seviyeleri ng/mL cinsinden ifade edilerek ortalama değerler şeklinde sunulmuştur. Her bir grup için örneklem sayısı dokuz olarak belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Tukey Post-Hoc testi kullanılmış olup, anlamlılık düzeyi $P < 0,05$ olarak kabul edilmiştir. Aynı sütunda aynı harfle gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken, farklı harflerle işaretlenen gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu belirlenmiştir.

Sedasyon ve negatif kontrol gruplarına ait 24 saat, 48 saat ve 72 saatlik maruziyet sonrası elde edilen verilerin karşılaştırılması, iki farklı analiz yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Orta çizgisi bulunan tabloda (Tablo 4.17), her bir zaman dilimi (24 saat, 48 saat ve 72 saat) bağımsız olarak kendi içinde değerlendirilmiş ve zaman faktörünün etkisi izole edilerek analiz edilmiştir. Orta çizgisi bulunmayan tabloda (Tablo 4.18) ise, tüm zaman dilimleri birlikte ele alınarak genel bir değerlendirme yapılmıştır.

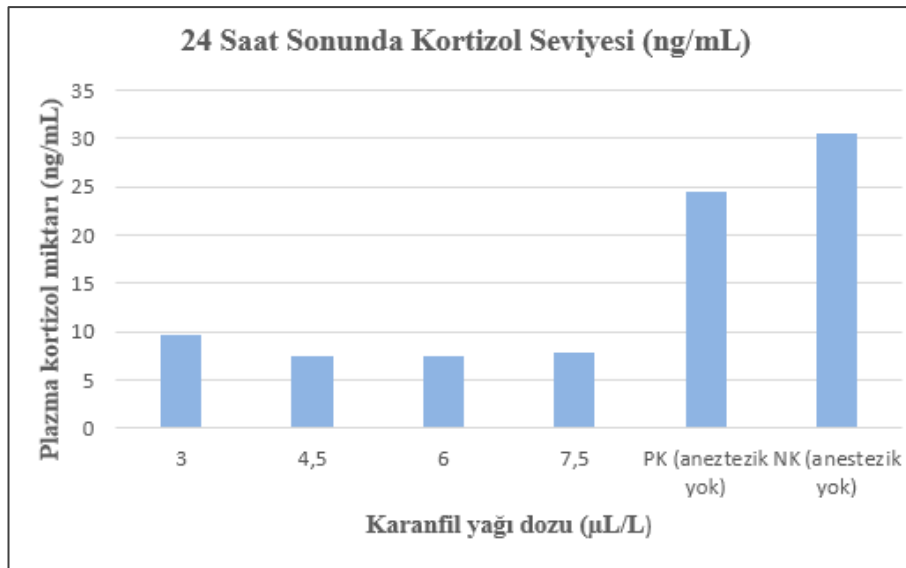
İstatistiksel karşılaştırmaların görselleştirilmesi amacıyla, gruplar üst indis harflerle gösterilmiş, bu harf kodlaması grupların birbirleriyle olan ilişkisini açıklamak için kullanılmıştır. Birden fazla harf içeren gruplar (örneğin, 'ab') hem 'a' hem de 'b' kategorileriyle kısmi benzerlik gösterdiğini ancak tamamen aynı istatistiksel dağılıma sahip olmadığını göstermektedir. Bu durum, gruplar arasında net bir ayrımın olmadığı veya belirli istatistiksel örtüşmelerin mevcut olduğu sonuçlarda ortaya çıkmaktadır. Böylece, zaman faktörünün sedasyon sürecine olan etkileri kapsamlı bir şekilde

değerlendirilmiş ve farklı maruziyet sürelerinin plazma kortizol seviyeleri üzerindeki değişimleri ayrıntılı biçimde ortaya konmuştur.

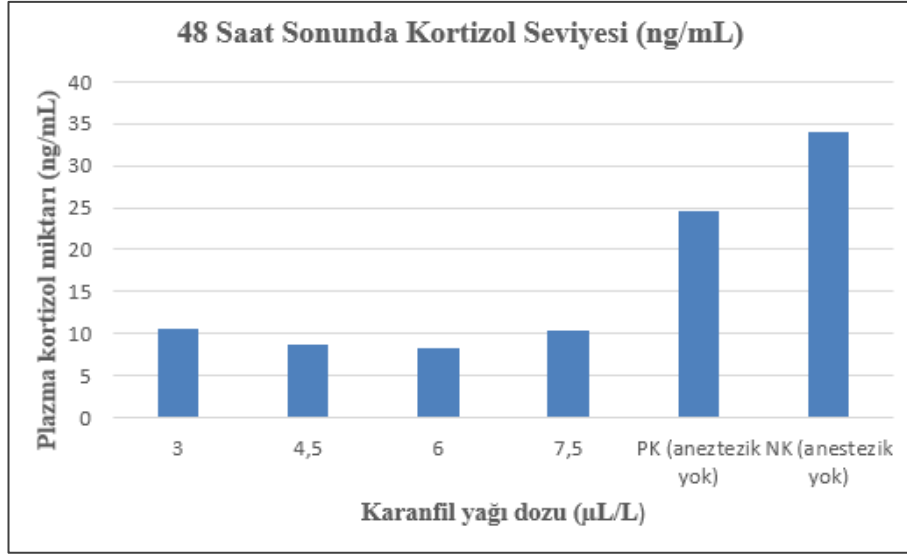
Tablo 4.17 Sedasyon deneyleri sonrasında ölçülen plazma kortizol miktarlarının uygulama süresine bağlı olarak karşılaştırması

Karanfil yağı Doz (µL/L)	24 Saat Sonunda Kortizol Seviyesi (ng/mL)	48 Saat Sonunda Kortizol Seviyesi (ng/mL)	72 Saat Sonunda Kortizol Seviyesi (ng/mL)
3	9,651 ^a	10,59 ^a	13,573 ^a
4,5	7,51 ^a	8,633 ^a	11,168 ^a
6	7,413 ^a	8,248 ^a	10,617 ^a
7,5	7,834 ^a	10,42 ^a	11,171 ^a
PK (aneztezik yok)	24,58 ^b	24,58 ^b	24,58 ^b
NK (aneztezik yok)	30,613 ^b	34,05 ^c	35,67 ^c

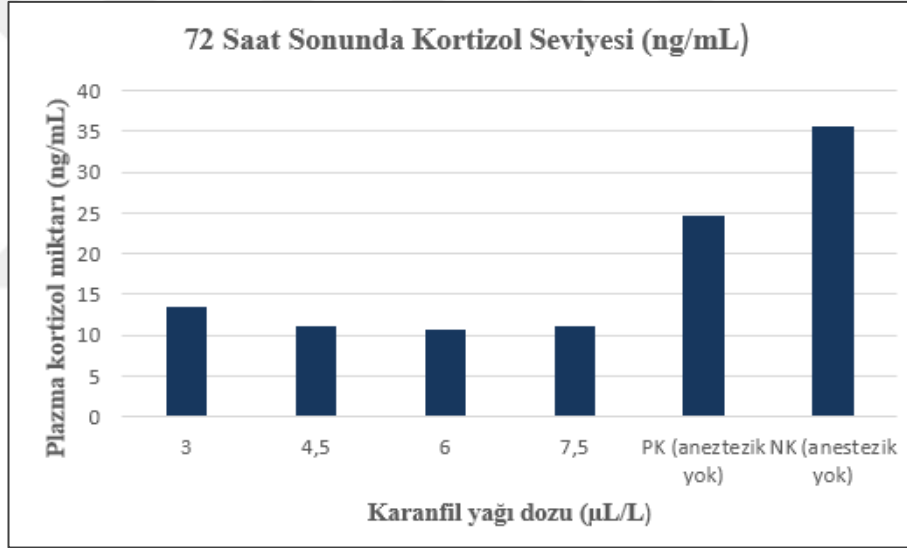
Tablo 4.17’de sunulan kortizol miktarları ve gruplar arasındaki farklılıkların görsel olarak ifade edildiği sonuçlar, belirli sedasyon sürelerine göre ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Buna göre, 24 saatlik sedasyon uygulamasına ait veriler Şekil 4.6’da, 48 saatlik uygulamalara ilişkin sonuçlar Şekil 4.7’de, 72 saatlik sedasyon süresine ait analizler ise Şekil 4.8’de gösterilmiştir. Bu grafiksel sunum, farklı sedasyon sürelerinin kortizol seviyeleri üzerindeki etkilerini daha net bir şekilde ortaya koymak amacıyla hazırlanmıştır.



Şekil 4.6 24 saatlik sedasyon uygulamaları sonrasında oluşan plazma kortizol miktarları



Şekil 4.7 48 saatlik sedasyon uygulamaları sonrasında oluşan plazma kortizol miktarları



Şekil 4.8 72 saatlik sedasyon uygulamaları sonrasında oluşan plazma kortizol miktarları

Karanfil yağı ile gerçekleştirilen 24, 48 ve 72 saatlik hafif sedasyon uygulamalarının ardından elde edilen plazma kortizol seviyelerinin tüm gruplar arasında karşılaştırmalı olarak değerlendirildiği veriler, Tablo 4.19’da sunulmuştur. Bu tabloda, gruplar arasındaki farklar her bir sedasyon süresi için ayrı ayrı analiz edilmiş, ancak bununla birlikte tüm zaman dilimlerini kapsayan genel bir değerlendirme de yapılmıştır.

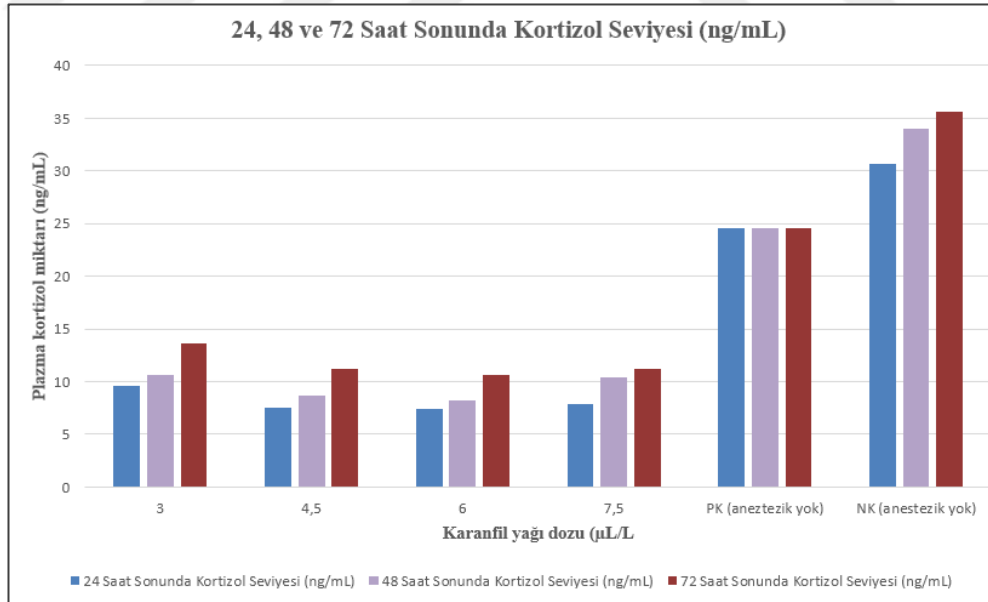
Harflendirme yöntemi, yalnızca aynı zaman dilimindeki gruplar arasındaki farkları değil, aynı zamanda farklı sürelerdeki ölçümler arasındaki istatistiksel farklılıkları da ortaya koyacak şekilde düzenlenmiştir. Böylece, sedasyon süresinin plazma kortizol

seviyelerine etkisi daha net bir şekilde belirlenmiş ve farklı konsantrasyonlardaki anestezi uygulamalarının zaman içerisindeki fizyolojik yanıtlar üzerindeki değişimi değerlendirilmiştir.

Tablo 4.18 Sedasyon deneyleri sonrasında ölçülen plazma kortizol miktarlarının toplu olarak karşılaştırması

Karanfil yağı Doz ($\mu\text{L/L}$)	24 Saat Sonunda Kortizol Seviyesi (ng/mL)	48 Saat Sonunda Kortizol Seviyesi (ng/mL)	72 Saat Sonunda Kortizol Seviyesi (ng/mL)
3	9,651 ^a	10,59 ^a	13,573 ^a
4,5	7,51 ^a	8,633 ^a	11,168 ^a
6	7,413 ^a	8,248 ^a	10,617 ^a
7,5	7,834 ^a	10,42 ^a	11,171 ^a
PK (anestezi yok)	24,58 ^b	24,58 ^b	24,58 ^b
NK (anestezi yok)	30,613 ^{bc}	34,05 ^c	35,67 ^c

Tablo 4.18’de sunulan kortizol miktarları ve gruplar arası farkların görselleştirildiği sonuçlar, 24, 48 ve 72 saatlik sedasyon uygulamaları için bir arada, Şekil 4.9’da verilmiştir.



Şekil 4.9 24, 48 ve 72 saatlik sedasyon uygulamaları sonrasında oluşan plazma kortizol miktarları

5. TARTIŞMA

Sektörel uygulamalarda yaygın olarak uygulanan balık transfer işlemleri, balıkların fizyolojik dengelerini bozabilecek olumsuz çevresel koşullara yol açabilmektedir. Bu süreçte ani sıcaklık değişimleri, çözülmüş oksijen seviyesindeki düşüşler, su kalitesindeki bozulmalar ve mekanik stres faktörleri, balıkların yaşamsal fonksiyonlarını doğrudan etkileyerek stres hormonlarının artmasına ve bağışıklık sisteminin baskılanmasına neden olabilmektedir. Bu çalışmada, sektörde karşılaşılan bu olumsuz koşulları kontrollü bir deney ortamında simüle edebilmek amacıyla negatif kontrol grupları oluşturulmuş ve sedasyon uygulamalarının bu çevresel stres faktörlerini ne ölçüde dengeleyebileceği kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir.

Balık türü, yaşı, fizyolojik durumu, su parametreleri, anestezi ajanının etki süresi ve doz yanıt ilişkisi gibi birçok değişken nedeniyle, hafif sedasyon uygulaması için ideal konsantrasyon aralıklarının önceden kesin olarak tahmin edilmesi genellikle mümkün olmamaktadır. Bu nedenle, çalışmada öncelikle derin anestezi deneyleri yürütülmüş, optimum anestezi konsantrasyonları belirlenerek, hafif sedasyon için kullanılacak uygun doz aralıklarının tahmin edilmesine olanak sağlanmıştır. Sedasyon deneme grupları, derin anesteziye yönelik optimum konsantrasyonun 1/10'u temel alınarak oluşturulmuş, ayrıca bu dozdan daha düşük ve daha yüksek seviyelerde anestezi uygulanarak farklı sedasyon düzeylerinin etkileri araştırılmıştır.

Deney ortamında balıkların 48 saat ve 72 saat gibi uzun süreler boyunca, su değişimi ve oksijen takviyesi olmaksızın kapalı sistemlerde tutulmaları, doğal olarak düşük çözülmüş oksijen (DO) seviyeleri ve yüksek amonyak (NH₃) birikimi gibi olumsuz su parametrelerine neden olmuştur. Bu zorlu çevresel koşullar altında, hafif sedasyonun balık refahını nasıl etkilediği belirlenmiş; balık davranışları, yaşama oranları, su kalitesindeki değişimler ve en önemli stres belirteçlerinden biri olan plazma kortizol seviyeleri analiz edilerek hafif sedasyonun etkinliği değerlendirilmiştir.

Transfer işlemlerinde uygulanabilecek en uygun anestezi konsantrasyonlarının belirlenmesi ve bu konsantrasyonların balıkların davranışsal ve fizyolojik tepkileri üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla gerçekleştirilen bu çalışmada,

öncelikle derin anestezi deneyleri yapılmış ve karanfil yağının etkinliği incelenmiştir. Çalışmada, bayılma ve ayılma süreleri arasındaki ilişki değerlendirilerek, farklı konsantrasyonların avantajları ve sınırlamaları analiz edilmiştir.

Karanfil yağı, düşük konsantrasyonlarda da etkili bir anestezik madde olmasına rağmen, bayılma ve ayılma süreçleri arasında dikkatli bir denge gerektirmektedir. Anestezik maddeye maruz kalan balıkların, farklı doz seviyelerine bağlı olarak değişen tepkiler sergiledikleri gözlemlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre, derin anestezi için en uygun konsantrasyon 60 µL/L olarak belirlenmiş ve bu dozda hızlı bayılma süresi sağlanmıştır. Ancak, daha düşük konsantrasyonlarda bayılma süresinin uzadığı, daha yüksek konsantrasyonlarda ise toparlanma sürecinin gecikebildiği görülmüştür. Bu durum, karanfil yağının etkinliğinin doz bağımlı olduğunu ve belirli bir konsantrasyon aralığında optimum performans gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Özellikle yüksek doz uygulamalarında, anestezik maddenin uzun süreli maruziyette balıkların toparlanma sürecini uzatabileceği gözlemlenmiştir. Bu nedenle, karanfil yağı kullanımında hem etkili anestezi sağlamak hem de toparlanma sürecini minimum seviyede tutmak için uygun doz aralığının dikkatle belirlenmesi gerektiği vurgulanmaktadır. Ayrıca, anestezi sonrası balıkların yaşama oranlarının yüksek olması ve herhangi bir olumsuz fizyolojik etki gözlemlenmemesi, bu ajanın belirli koşullar altında güvenilir bir anestezik ajan olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Ancak, sektörel uygulamalarda kullanım sırasında doz hesaplamalarının doğru şekilde yapılması, istenmeyen toksik etkilerin önüne geçmek açısından kritik önem taşımaktadır. Bununla birlikte, suda doğrudan çözünmeyen bir madde olması nedeniyle, uygulama öncesinde etil alkol içinde çözündürülmesi ve anestezi ortamında homojen bir dağılım sağlanabilmesi için su sirkülasyonunun yeterli düzeyde olması gerekmektedir.

Bu çalışma, karanfil yağının transfer süreçlerinde sedatif olarak kullanımıyla ilgili önemli veriler sunmakta olup, bu anestezik ajanın kontrollü ve bilinçli kullanımının gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Sedasyon uygulamalarının balıkların stres düzeyi üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen bu çalışmada, farklı karanfil yağı konsantrasyonlarında sedasyon uygulanan grupların kortizol seviyeleri ile su kalitesi parametreleri analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular, karanfil yağının stres baskılayıcı etkisini açıkça ortaya koymuş ve bu ajanın, taşımacılık gibi stresli koşullarda balık refahını koruma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir.

Sedasyon gruplarında yer alan balıklardan elde edilen plazma kortizol seviyeleri, her maruziyet süresinde (24, 48 ve 72 saat) 14 ng/mL'nin altında ölçülmüştür. Buna karşın, negatif kontrol grubunda ve pozitif kontrol grubunda bu değerlerin belirgin şekilde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, karanfil yağı ile gerçekleştirilen sedasyon uygulamalarının stres seviyesini önemli ölçüde düşürdüğünü ve balıkların kortikosteroid yanıtlarının baskılanmasında etkili olduğunu göstermektedir. Özellikle, 6 µL/L konsantrasyonunda uygulanan sedasyonun, kortizol seviyelerinin düşük seyretmesiyle birlikte, yaşama oranlarının yüksek olması ve metabolik parametrelerin dengeli bir seyir izlemesi açısından en başarılı sonuçları verdiği belirlenmiştir.

Bunun yanı sıra, sedasyon uygulamalarının balıkların fizyolojik tepkileri üzerindeki etkileri de incelenmiştir. Çözünmüş oksijen (DO) tüketim oranları, negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, karanfil yağı uygulanan gruplarda daha dengeli bir seyir izlemiş ve solunum hızlarının aşırı artış göstermediği belirlenmiştir. Özellikle, 6 µL/L konsantrasyonunda sedasyon uygulanan grupta, oksijen tüketimi ve ventilasyon oranları en stabil seviyede bulunmuş, bu da metabolik stresin en düşük düzeyde tutulduğunu göstermektedir. Aynı zamanda, su kalitesi parametreleri incelendiğinde, amonyak (NH₃) birikiminin de bu grupta en düşük seviyede olduğu gözlemlenmiştir. Düşük amonyak seviyesi, metabolik süreçlerin daha düzenli işlediğini ve karanfil yağının balıklarda aşırı protein yıkımına yol açan bir stres faktörü oluşturmadığını desteklemektedir.

Tüm bu bulgular değerlendirildiğinde, karanfil yağının uygun konsantrasyonlarda uygulandığında, yalnızca sedatif bir ajan olarak değil, aynı zamanda taşımacılık ve kapalı sistem maruziyetlerinde stres yönetimini destekleyen bir bileşen olarak önemli

bir potansiyele sahip olduğu görülmektedir. Özellikle 6 µL/L konsantrasyonunun, yaşama oranı, metabolik stabilite ve stres göstergeleri açısından en uygun koşulları sağladığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, uzun süreli taşıma ve kapalı ortam koşullarında balık refahının korunması için sedatif ajan kullanımının önemini vurgulamakta ve sektör için uygulanabilir pratik bilgiler sunmaktadır.

Sedasyon uygulamalarının balıkların stres düzeyi üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilen bu çalışmada, farklı karanfil yağı konsantrasyonlarında sedasyon uygulanan grupların kortizol seviyeleri ile su kalitesi parametreleri analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular, karanfil yağının stres baskılayıcı etkisini açıkça ortaya koymuş ve bu ajanın, taşımacılık gibi stresli koşullarda balık refahını koruma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir.

Sedasyon gruplarında yer alan balıklardan elde edilen plazma kortizol seviyeleri, her maruziyet süresinde (24, 48 ve 72 saat) 14 ng/mL'nin altında ölçülmüştür. Buna karşın, negatif kontrol grubunda ve pozitif kontrol grubunda bu değerlerin belirgin şekilde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, karanfil yağı ile gerçekleştirilen sedasyon uygulamalarının stres seviyesini önemli ölçüde düşürdüğünü ve balıkların kortikosteroid yanıtlarının baskılanmasında etkili olduğunu göstermektedir. Özellikle, 6 µL/L konsantrasyonunda uygulanan sedasyonun, kortizol seviyelerinin düşük seyretmesiyle birlikte, yaşama oranlarının yüksek olması ve metabolik parametrelerin dengeli bir seyir izlemesi açısından en başarılı sonuçları verdiği belirlenmiştir.

Bunun yanı sıra, sedasyon uygulamalarının balıkların fizyolojik tepkileri üzerindeki etkileri de incelenmiştir. Çözünmüş oksijen (DO) tüketim oranları, negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, karanfil yağı uygulanan gruplarda daha dengeli bir seyir izlemiş ve solunum hızlarının aşırı artış göstermediği belirlenmiştir. Özellikle, 6 µL/L konsantrasyonunda sedasyon uygulanan grupta, oksijen tüketimi ve ventilasyon oranları en stabil seviyede bulunmuş, bu da metabolik stresin en düşük düzeyde tutulduğunu göstermektedir. Aynı zamanda, su kalitesi parametreleri incelendiğinde, amonyak (NH₃) birikiminin de bu grupta en düşük seviyede olduğu gözlemlenmiştir. Düşük amonyak seviyesi, metabolik süreçlerin daha düzenli işlediğini ve karanfil

yağının balıklarda aşırı protein yıkımına yol açan bir stres faktörü oluşturmadığını desteklemektedir.

Tüm bu bulgular değerlendirildiğinde, karanfil yağının uygun konsantrasyonlarda uygulandığında, yalnızca sedatif bir ajan olarak değil, aynı zamanda taşımacılık ve kapalı sistem maruziyetlerinde stres yönetimini destekleyen bir bileşen olarak önemli bir potansiyele sahip olduğu görülmektedir. Özellikle 6 µL/L konsantrasyonunun, yaşama oranı, metabolik stabilite ve stres göstergeleri açısından en uygun koşulları sağladığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar, uzun süreli taşıma ve kapalı ortam koşullarında balık refahının korunması için sedatif ajan kullanımının önemini vurgulamakta ve sektör için uygulanabilir pratik bilgiler sunmaktadır.

Balık taşımacılığı sırasında karşılaşılan en büyük zorluklardan biri, nakil sürecinin yol açtığı çevresel ve fizyolojik stres faktörleridir. Uzun süreli kapalı ortam maruziyeti, çözülmüş oksijen (DO) seviyelerinin azalmasına, amonyak (NH₃) birikimine ve solunum hızında artışa neden olarak balıkların metabolik dengelerini bozabilmektedir. Bu nedenle, transfer sürecinde sedatif ajanların kullanımı, balık refahını artırmak ve taşıma kaynaklı mortalite oranlarını düşürmek adına büyük bir potansiyele sahiptir. Çalışma kapsamında elde edilen bulgular, karanfil yağı ile uygulanan hafif sedasyonun, taşımacılık sürecinde balıkların fizyolojik stabilitesini koruma açısından etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir.

Karanfil yağı ile gerçekleştirilen sedasyon uygulamalarında, kortizol seviyelerinin tüm sürelerde (24, 48 ve 72 saat) düşük seyretmesi, bu ajanın stres baskılayıcı etkisini açıkça ortaya koymuştur. Taşınan balıkların stres seviyelerinin yüksek olması, bağışıklık sistemini baskılayarak hastalıklara yatkınlığı artıran önemli bir faktördür. Sedasyon uygulanan gruplarda düşük kortizol seviyelerinin korunması, balıkların taşıma sonrası daha hızlı toparlanmasını ve adaptasyon süreçlerinin daha başarılı olmasını sağlayabilir. Özellikle, 6 µL/L konsantrasyonunda uygulanan sedasyonun, en dengeli metabolik parametreleri sunduğu belirlenmiş ve bu dozajın transfer süreçlerinde optimum sedasyon koşullarını sağlama açısından en uygun seçeneklerden biri olduğu gösterilmiştir.

Sedasyonun bir diğerk kritik avantajı ise, solunum hızlarının düzenlenmesi ve oksijen tüketiminin optimize edilmesidir. Nakil sırasında balıkların yüksek metabolik aktiviteye sahip olması, çözünmüş oksijen seviyelerinin hızla tükenmesine neden olur. Ancak, sedasyon uygulanan gruplarda oksijen tüketim oranlarının önemli ölçüde azaldığı, bu durumun özellikle 6 µL/L konsantrasyonunda daha belirgin olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, taşınan balıkların sedasyon sayesinde daha düşük enerji harcadığını, böylece oksijen kaynaklarının daha verimli kullanılmasını sağladığını göstermektedir. Aynı zamanda, sedasyonun sağladığı fizyolojik sakinlik sayesinde, balıkların taşımacılık sırasında bir araya toplanarak solungaçlarını birbirine temas ettirme riskinin de azaldığı düşünülmektedir. Bu durum, oksijen alımını engelleyebilecek fiziksel stres faktörlerini minimize etme açısından önemlidir.

Su kalitesinin korunması da, uzun süreli taşımacılık süreçlerinde göz önünde bulundurulması gereken en kritik unsurlardan biridir. Sedasyon uygulanmayan gruplarda, yüksek metabolik aktiviteye bağlı olarak amonyak birikimi gözlemlenirken, karanfil yağı uygulanan gruplarda bu birikimin belirgin şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Özellikle 6 µL/L konsantrasyonunda sedasyon uygulanan balıklarda en düşük NH₃ seviyeleri kaydedilmiş, bu da protein yıkım oranının daha düşük olduğunu ve balıkların metabolik dengelerinin daha iyi korunduğunu göstermiştir. Nakil sırasında amonyak seviyelerinin düşük tutulması, balıkların solungaç işlevlerini koruyarak genel sağlık durumlarını olumlu yönde etkileyebilir.

Bu çalışma, sedasyon uygulamalarının yalnızca laboratuvar ortamında değil, aynı zamanda ticari taşımacılık uygulamalarında da büyük bir potansiyele sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Karanfil yağı ile uygulanan hafif sedasyon, taşımacılık sırasında balıkların stres yanıtlarını baskılamakta, oksijen tüketimini düzenlemekte ve su kalitesini optimize ederek sağlıklı bir taşıma sürecini desteklemektedir. Elde edilen veriler doğrultusunda, 6 µL/L konsantrasyonunun en uygun koşulları sağladığı belirlenmiş ve bu dozajın, sektörde uzun mesafeli transfer işlemlerinde güvenle kullanılabilir bir sedasyon protokolü oluşturabileceği gösterilmiştir.

Günümüzde, akvaryum balıkları ticareti, yetiştiricilik sektörü ve doğadan toplanan türlerin uluslararası nakilleri sırasında yaygın olarak kullanılan yöntemler genellikle

balıkların metabolik faaliyetlerini yavaşlatmaya odaklanmaktadır. Bu kapsamda, taşınan balıkların metabolizma hızlarını düşürmek amacıyla su sıcaklığının kontrollü şekilde düşürülmesi ve yemlemenin kesilerek metabolit üretiminin azaltılması gibi uygulamalar ön plana çıkmaktadır. Ancak, bu pasif yöntemler her zaman yeterli koruma sağlayamamakta, uzun süreli taşımalarda balıkların aşırı stres altına girmesine ve yüksek mortalite oranlarına neden olabilmektedir. Bu çalışma kapsamında elde edilen bulgular, sektörde yaygın olan bu geleneksel yöntemlere ek olarak, sedasyon uygulamalarının taşıma sürecine entegre edilmesinin büyük avantajlar sunduğunu göstermektedir.

Sedasyonun, özellikle uzun mesafeli taşımacılık ve yoğun stoklama koşullarında, balıkların fizyolojik stres seviyelerini önemli ölçüde azalttığı ve hayatta kalma oranlarını artırdığı belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, karanfil yağı ile uygulanan hafif sedasyonun, kortizol seviyelerini belirgin şekilde düşürdüğü ve balıkların taşıma sonrası toparlanma süreçlerini hızlandırdığı gözlemlenmiştir. Geleneksel uygulamalarda stres faktörlerine bağlı olarak ortaya çıkabilen yüksek mortalite oranları, sedasyon sayesinde önemli ölçüde azaltılabilir ve nakil sonrası adaptasyon süreci daha başarılı hale getirilebilir. Özellikle 6 µL/L konsantrasyonunda gerçekleştirilen sedasyon uygulamalarında, düşük oksijen tüketimi ve azalmış amonyak birikimi gibi olumlu su kalitesi parametreleri de kaydedilmiştir. Bu sonuçlar, sedasyonun yalnızca bireysel sağlık üzerinde değil, aynı zamanda taşıma sürecinin genel ekolojik dengesi açısından da fayda sağlayabileceğini göstermektedir.

Sektörde sedasyon uygulamalarının yaygın olarak kullanılmamasının başlıca nedenlerinden biri, türe özel konsantrasyon belirleme çalışmalarının sınırlı olması ve bu tür uygulamaların standart hale getirilmemesidir. Ancak, bu çalışmada da gösterildiği gibi, tür bazlı sedasyon protokollerinin belirlenmesi, taşımacılık sırasında balıkların refahını ve hayatta kalım oranlarını önemli ölçüde iyileştirebilir. Her balık türü, fizyolojik özelliklerine bağlı olarak farklı anestezi ve sedatif ajanlara karşı değişken tepkiler gösterebileceğinden, farklı türler için özel sedasyon konsantrasyonlarının belirlenmesi büyük bir gerekliliktir. Bu tür çalışmaların artırılması, hem ticari yetiştiricilik ve taşımacılık sektörleri için daha güvenli ve

verimli taşıma koşulları oluşturulmasını hem de doğadan toplanan türlerin uluslararası nakilleri sırasında yüksek hayatta kalım oranlarının sağlanmasını mümkün kılacaktır.

Sonuç olarak, sektör genelinde sedasyon uygulamalarının yaygınlaştırılması, hem ekonomik hem de ekolojik açıdan büyük faydalar sağlayabilir. Geleneksel yöntemlerin ötesinde, bilimsel olarak doğrulanmış sedasyon protokollerinin kullanılması, balıkların taşıma sırasında yaşadığı fizyolojik stresin minimize edilmesini ve uzun vadede nakil sonrası hayatta kalma oranlarının artırılmasını mümkün kılacaktır. Bu bağlamda, balık türlerine özgü sedasyon konsantrasyonlarının belirlenmesi ve sektör standartlarına entegre edilmesi, hem yetiştiricilik hem de doğal popülasyonların korunması açısından büyük bir ilerleme kaydedilmesini sağlayabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, akuakültür uygulamalarında ve doğal popülasyonların taşınması sırasında sedasyon uygulamalarının stres azaltıcı etkilerini değerlendirmiştir. Elde edilen bulgular, karanfil yağının farklı konsantrasyonlarda uygulanmasının balıkların fizyolojik tepkileri, yaşama oranları ve stres göstergeleri üzerindeki etkilerini ortaya koymuştur.

Çalışmada uygulanan sedasyon protokollerinin, taşımacılık sırasında balık refahını artırmada belirli avantajlar sağlayabileceği görülmüştür. Karanfil yağı, özellikle 6 $\mu\text{L/L}$ konsantrasyonunda uygulandığında, balıkların yaşama oranlarını en yüksek seviyede tutmuş, metabolik aktivitelerini baskılayarak oksijen tüketimini azaltmış ve amonyak birikimini düşük seviyede tutmuştur. Daha düşük konsantrasyonlarda (örneğin, 3 $\mu\text{L/L}$), sedasyon etkisinin yeterince sağlanamadığı ve stresle ilişkili kortizol seviyelerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık, en yüksek konsantrasyon olan 7,5 $\mu\text{L/L}$ grubunda, uzun süreli maruziyetin toksik etkilere yol açabileceği ve optimum sedasyon seviyesinin dikkatli şekilde belirlenmesi gerektiği anlaşılmıştır.

Sedasyon uygulanmayan negatif kontrol gruplarında, balıkların taşınma süreci boyunca yüksek stres seviyelerine maruz kaldıkları ve mortalite oranlarının belirgin şekilde arttığı gözlemlenmiştir. Bu gruplarda, yüksek NH_3 birikimi ve hipoksik koşullar nedeniyle yaşama oranlarında belirgin düşüşler meydana gelmiştir. Bu durum, sedasyon uygulamalarının su kalitesini koruma açısından da belirli bir avantaj sunabileceğini göstermektedir.

Sedasyonun stresi baskılamada etkili olduğu, kortizol seviyeleri incelendiğinde belirgin hale gelmiştir. Sedasyon uygulanan gruplarda kortizol seviyeleri 14 ng/mL 'nin altında seyrederken, negatif kontrol ve pozitif kontrol gruplarında bu değerlerin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, sedasyonun taşınma sırasında balıkların homeostatik dengesinin korunmasına katkı sağlayabileceğini ve kortizol salınımını baskılayarak stresin yönetiminde yardımcı olabileceğini göstermektedir.

Sektörel taşımacılık uygulamalarında genellikle su sıcaklığının düşürülmesi, oksijen seviyesinin artırılması ve yemlemenin kesilmesi gibi geleneksel yöntemler yaygın olarak tercih edilmektedir. Ancak, bu çalışma, sedasyon uygulamalarının da su kalitesinin korunması ve taşınma sürecinin balıklar üzerindeki olumsuz etkilerinin azaltılmasında etkili olabileceğini göstermektedir. Geleneksel yöntemlere ek olarak, balıkların sedatif ajanlarla desteklenmesi, taşıma sırasında oluşabilecek fizyolojik stresin azaltılmasına yardımcı olabilir ve adaptasyon süreçlerini kolaylaştırabilir.

Elde edilen sonuçlar, türe özgü sedasyon konsantrasyonlarının belirlenmesinin önemini vurgulamaktadır. Farklı balık türleri, farklı anestezi ajanlarına değişken tepkiler verebileceğinden, her tür için spesifik sedasyon protokollerinin geliştirilmesi faydalı olabilir. Gelecekteki araştırmaların, uzun süreli taşınma koşullarında sedasyonun etkilerini daha ayrıntılı şekilde incelemesi ve farklı türler için en uygun sedasyon parametrelerini belirlemesi yararlı olacaktır.

Ayrıca, bu tür araştırmalarda kortizol seviyelerinin değerlendirilmesinde daha az invaziv yöntemlerin (örneğin, su veya mukus örneklerinden analizler) kullanılması, stres değerlendirmelerinin doğruluğunu artırabilir. Bunun yanı sıra, su numunesi alma periyotlarının sıklaştırılmasıyla, taşınma sürecinde su kalitesindeki değişimlerin zamana bağlı olarak daha ayrıntılı bir şekilde izlenmesi sağlanabilir.

Bu çalışma, sedasyon uygulamalarının balık taşımacılığında faydalı bir yöntem olabileceğini ve geleneksel uygulamalarla birlikte değerlendirildiğinde refah açısından avantaj sağlayabileceğini göstermektedir. Karanfil yağının düşük konsantrasyonlarda dahi etkili olması, ekonomik açıdan da avantajlı bir seçenek sunmaktadır. Ancak, kullanım sırasında konsantrasyonun dikkatle ayarlanması gerekmektedir. Sedasyonun sektör genelinde daha yaygın olarak kullanılması, balıkların taşınma süreçlerini daha güvenli hale getirme potansiyeline sahiptir.

KAYNAKLAR

- Abdel-Tawwab, M., Hagra, A. E., Elbaghdady, H. A. M., & Monier, M. N. (2014). Dissolved Oxygen Level and Stocking Density Effects on Growth, Feed Utilization, Physiology, and Innate Immunity of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of Applied Aquaculture*, 26(4), 340-355. <https://doi.org/10.1080/10454438.2014.959830>
- Ackerman, Paige & Morgan, J.D. & Iwama, George. (2005). Anesthetics. Guidelines on the care and use of fish in research, teaching and testing. URL-1: https://ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Fish_Anesthetics.pdf Erişim tarihi: 08/03/2024
- Ahmed, M., & Lorica, M. (2002). Improving developing country food security through aquaculture development-lessons from Asia. *Food Policy*, 27, 125-141. [https://doi.org/10.1016/S0306-9192\(02\)00007-6](https://doi.org/10.1016/S0306-9192(02)00007-6)
- Aich, N., Ahmed, N., & Paul, A. (2018). Issues of Antibiotic Resistance in Aquaculture Industry and Its Way Forward. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(08), 26-41. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.708.004>
- Akange, E. T., & Kasan, N. A. (2024). Potential of Biofloc Technology in Aquaculture Wastewater Treatment. *Planetary Sustainability*, 2(1), 53-69. <https://doi.org/10.46754/ps.2024.01.005>
- Alagöz, K., Paruğ, Ş., Taştan, Y., Bilen, S., & Sönmez, A. Y. (2021). Spurge (*Euphorbia rigida*) exhibits anaesthetic effect in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) without altering plasma cortisol levels. *Aquaculture Research*, 52(11), 5441-5451. <https://doi.org/10.1111/are.15414>
- Anderson, W. G., Mckinley, R. S., & Colavecchia, M. (1997). The Use of Clove Oil as an Anesthetic for Rainbow Trout and Its Effects on Swimming Performance. *North American Journal of Fisheries Management*, 17, 301-307.
- Antalyalı, Ö. L. (2016). Varyans analizi (ANOVA-MANOVA). Ş. Kalaycı (Ed.), *SPSS uygulamalı çok değişkenli istatistik teknikleri*. 7. baskı. (pp. 131-182). Ankara: Asil Yayın Dağıtım Ltd. Şti.
- Arthington, A., Dulvy, N., Gladstone, W., & Winfield, I. (2016). Fish conservation in freshwater and marine realms: status, threats and management. *Aquatic Conservation-marine and Freshwater Ecosystems*, 26, 838-857. <https://doi.org/10.1002/AQC.2712>.
- Atamankimya. (2024). Etyhylene Glycol Monophenyl Ether (Phenyl cellosolve). <https://atamankimya.com/sayfalaralfabe.asp?LanguageID=1&cid=3&id=2857&id2=8995>, Erişim tarihi: 25/04/2024

- Aydın, B., & Barbas, L. A. L. (2020). Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review. *Aquaculture*, 520, 734999. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734999>
- Badiola, M., Mendiola, D., & Bostock, J. (2012). Recirculating Aquaculture Systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges. *Aquacultural Engineering*, 51, 26-35. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2012.07.004>
- Ballıkaya, G. (2016). *Akvaryum Balıklarından Melek Balığında (Pteropyllum scalare) Anestezisi ve Sedasyon Konsantrasyonlarının Belirlenmesi* [Yüksek Lisans Tezi]. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
- Barcellos, L. J. G., Woehl, V. M., Wassermann, G. F., Quevedo, R. M., Ittzes, I., & Krieger, M. H. (2001). Plasma levels of cortisol and glucose in response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard), a South American catfish. *Aquaculture Research*, 32(2), 121-123. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2001.00539.x>
- Barlow, G. W. (2000). *The Cichlid fishes: Nature's grand experiment in evolution*. Cambridge, MA: Perseus Publishing.
- Barton, B. A. (2002). Stress in Fishes: A Diversity of Responses with Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, 42(3), 517-525. <https://doi.org/10.1093/icb/42.3.517>
- 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(9), 933-939. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01753.x>
- Bekele, F. & Bekele, I. (2017). Social and Environmental Impacts on Agricultural Development. In W. Ganpat, R. Dyer, & W. Isaac (Eds.), *Agricultural Development and Food Security in Developing Nations* (pp. 21-56). IGI Global Scientific Publishing. <https://doi.org/10.4018/978-1-5225-0942-4.ch002>
- Bellwood, P. (2013). Neolithic migrations: Food production and population expansion. I. Ness (Ed.), *The Encyclopedia of Global Human Migration*. 1. baskı. Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781444351071.wbeghm810>
- Béné, C., Arthur, R., Norbury, H., Allison, E. H., Beveridge, M., Bush, S., Campling, L., Leschen, W., Little, D., Squires, D., Thilsted, S. H., Troell, M., & Williams, M. (2016). Contribution of Fisheries and Aquaculture to Food Security and Poverty Reduction: Assessing the Current Evidence. *World Development*, 79, 177-196. <https://doi.org/10.1016/j.worlddev.2015.11.007>
- Bittencourt, F., Damasceno, D. Z., Lui, T. A., Signor, A., Sanches, E. A., & Neu, D. H. (2018). Water quality and survival rate of *Rhamdia quelen* fry subjected to simulated transportation at different stock densities and temperatures. *Acta*

Scientiarum. Animal Sciences, 40(1), 37285. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v40i1.37285>

- Bodur, T., León-Bernabeu, S., Navarro, A., Tort, L., Afonso, J. M., & Montero, D. (2018). Effects of new plant based anesthetics *Origanum* sp. and *Eucalyptus* sp. oils on stress and welfare parameters in *Dicentrarchus labrax* and their comparison with clove oil. *Aquaculture*, 495, 402–408. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.021>
- Bowser, P. R. (2001). Anesthetic options for fish. In R. D. Gleed & J. W. Ludders (Eds.), *Recent advances in veterinary anesthesia and analgesia: Companion animals* (pp. 3). International Veterinary Information Service. Ithaca, NY.
- Boyd, C. E., D’Abramo, L. R., Glencross, B. D., Huyben, D. C., Juarez, L. M., Lockwood, G. S., McNevin, A. A., Tacon, A. G. J., Teletchea, F., Tomasso, J. R., Tucker, C. S., & Valenti, W. C. (2020). Achieving sustainable aquaculture: Historical and current perspectives and future needs and challenges. *Journal of the World Aquaculture Society*, 51(3), 578-633. <https://doi.org/10.1111/jwas.12714>
- Bristol. (2024). About Goldfish – The History of Goldfish, <https://www.goldfish-types.info/goldfish-info/info.htm>, Erişim tarihi: 27/05/2024
- Britt, T., Weisse, C., Weber, E., Matzkin, Z., & Klide, A. (2002). Use of pneumocystoplasty for overinflation of the swim bladder in a goldfish. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 221 5, 690-3, 645 . <https://doi.org/10.2460/JAVMA.2002.221.690>
- Brune, D., Schwartz, G., Eversole, A., Collier, J., & Schwedler, T. (2003). Intensification of pond aquaculture and high rate photosynthetic systems. *Aquacultural Engineering*, 28, 65-86. [https://doi.org/10.1016/S0144-8609\(03\)00025-6](https://doi.org/10.1016/S0144-8609(03)00025-6)
- Burt, M. G., Mangelsdorf, B. L., Rogers, A., Ho, J. T., Lewis, J. G., Inder, W. J., & Doogue, M. P. (2013). Free and Total Plasma Cortisol Measured by Immunoassay and Mass Spectrometry Following ACTH 1–24 Stimulation in the Assessment of Pituitary Patients. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 98(5), 1883-1890. <https://doi.org/10.1210/jc.2012-3576>
- Can, E., Kizak, V., Özçiçek, E., & Sehaneyildiz, C. (2017). The efficacy of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) oil as a promising anaesthetic agent for two freshwater aquarium fish species. *Isr J AquacultBamid*, 1437(69), 1–8.
- Can, E., Kizak, V., Can, Ş. S., & Özçiçek, E. (2018). Anesthetic potential of geranium (*Pelargonium graveolens*) oil for two cichlid species, *Sciaenochromis fryeri* and *Labidochromis caeruleus*. *Aquaculture*, 491, 59–64. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.03.013>
- Carter, K. M., Woodley, C. M. & Brown, R. S. A. (2011). Review of tricaine methanesulfonate for anesthesia of fish. *Rev Fish Biol Fisheries*, 21, 51-59. <https://doi.org/10.1007/s11160-010-9188-0>

- Chakrabarty, P. (2006). Systematics and historical biogeography of greater Antillean Cichlidae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39(3), 619-627. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.01.014>
- Chambel, J., Pinho, R., Sousa, R., Ferreira, T., Baptista, T., Severiano, V., Mendes, S., & Pedrosa, R. (2015). The efficacy of MS-222 as anaesthetic agent in four freshwater aquarium fish species. *Aquaculture Research*, 46(7), 1582-1589. <https://doi.org/10.1111/are.12308>
- Chatha, A., Naz, S., & Danabaş, D. (2024). Effect of Insect Feed on Fish Growth: A Review. *Asian Fisheries Science*, 37, 52-68. <https://doi.org/10.33997/j.afs.2024.37.1.004>
- Chew, K., Yap, J., Show, P., Suan, N., Juan, J., Ling, T., Lee, D., & Chang, J. (2017). Microalgae biorefinery: High value products perspectives. *Bioresource technology*, 229, 53-62. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.01.006>
- Christophe, B., Donatus, A. B., Sajid, A., Precious, M., Tanguy, P.-G., Irene, S., & Kofi, V. G. (2025). Action plan for implementation of an ecosystem-based coastal management approach in Ghana. *Journal of Coastal Conservation*, 29(1), 18. <https://doi.org/10.1007/s11852-025-01103-3>
- Cinner, J. E., Maire, E., Huchery, C., MacNeil, M. A., Graham, N. A. J., Mora, C., McClanahan, T. R., Barnes, M. L., Kittinger, J. N., Hicks, C. C., D'Agata, S., Hoey, A. S., Gurney, G. G., Feary, D. A., Williams, I. D., Kulbicki, M., Vigliola, L., Wantiez, L., Edgar, G. J., ... Mouillot, D. (2018). Gravity of human impacts mediates coral reef conservation gains. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(27). <https://doi.org/10.1073/pnas.1708001115>
- Copatti, C. E., Bolner, K. C. S., Londero, É. P., Rosso, F. L. D., Pavanato, M. A., & Baldisserotto, B. (2019). Low dissolved oxygen levels increase stress in piava (*Megaleporinus obtusidens*): Iono-regulatory, metabolic and oxidative responses. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 91(3), e20180395. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201920180395>
- Coyle, S. D., Durborow, R. M., & Tidwell, J. H. (2004). Anesthetics in Aquaculture. *SRAC Publications*, 3900, 6.
- Coyne, J. A. (2007). Sympatric speciation. *Current Biology*, 17(18), R787–R788. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.06.056>
- De Silva, S. S., & Yuan, D. (2022). *Regional review on status and trends in aquaculture development in Asia and the Pacific – 2020*: C. No. 1232/6. FAO. <https://doi.org/10.4060/cb8400en>
- Dillard, H. R. (2019). Global food and nutrition security: From challenges to solutions: Report of the international congress of plant pathology 2018, Boston, USA, 29th July – 3rd August 2018 with the title plant health in a global economy. *Food Security*, 11(1), 249-252. <https://doi.org/10.1007/s12571-019-00893-3>

- Domínguez, L. M., & Botella, Á. S. (2014). An overview of marine ornamental fish breeding as a potential support to the aquarium trade and to the conservation of natural fish populations. *International Journal of Sustainable Development and Planning*, 9(4), 608-632. <https://doi.org/10.2495/SDP-V9-N4-608-632>
- Dong, X., Qin, J., & Zhang, X. (2011). Fish adaptation to oxygen variations in aquaculture from hypoxia to hyperoxia. *Journal of Fisheries and Aquaculture*, 2(2), 23-28.
- Dulvy, N. K., Pacoureau, N., Rigby, C. L., Pollom, R. A., Jabado, R. W., Ebert, D. A., Finucci, B., Pollock, C. M., Cheok, J., Derrick, D. H., Herman, K. B., Sherman, C. S., VanderWright, W. J., Lawson, J. M., Walls, R. H. L., Carlson, J. K., Charvet, P., Bineesh, K. K., Fernando, D., Simpfendorfer, C. A. (2021). Overfishing drives over one-third of all sharks and rays toward a global extinction crisis. *Current Biology*, 31(21), 4773-4787.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.08.062>
- Ellis, T., Yildiz, H. Y., López-Olmeda, J., Spedicato, M. T., Tort, L., Øverli, Ø., & Martins, C. I. M. (2012). Cortisol and finfish welfare. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(1), 163-188. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9568-y>
- Eminçe Saygı, H. (2024). Türkiye’de balıkçılık ve su ürünleri yetiştiriciliği sektörünün mavi ekonomi bağlamında büyüme beklentileri. *Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 10(3), 187-200. <https://doi.org/10.58626/menba.1559413>
- Evers, H-G., Pinnegar, J. K., & Taylor, M. I. (2019). Where are they all from? – sources and sustainability in the ornamental freshwater fish trade. *J Fish Biol.*, 94: 909–916. <https://doi.org/10.1111/jfb.13930>
- Fajardo, C., Martinez-Rodriguez, G., Blasco, J., Mancera, J. M., Thomas, B., & De Donato, M. (2022). Nanotechnology in aquaculture: Applications, perspectives and regulatory challenges. *Aquaculture and Fisheries*, 7(2), 185-200. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.12.006>
- FAO. (2020). The state of world fisheries and aquaculture 2020: Sustainability in action. FAO. <https://www.fao.org/documents/card/en/c/ca9229en>, Erişim tarihi: 24/05/2024
- FAO. (2022). The State of World Fisheries and Aquaculture 2022: Towards Blue Transformation. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>, Erişim tarihi: 18/09/2024
- FAO. (2023). FAO & Türkiye Ortaklığı: Gıda güvenliği ve doğal kaynakların sürdürülebilir yönetimi için ortaklık, <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/cc0018tr>, Erişim tarihi: 11/06/2024
- FAO. (2024). Fisheries and Aquaculture - Statistical collections - FishStat, <https://www.fao.org/fishery/en/fishstat/collections>, Erişim tarihi: 28/05/2024

- FAU. (2024). Guidelines for the Preparation and Use of MS222 (TMS, tricaine methanesulfonate) for Animal Procedures. <https://www.fau.edu/research-admin/comparative-medicine/files/guidelines-for-the-preparation-and-use-of-ms222-final.pdf>, Erişim tarihi: 16/04/2024
- FDA. (2024). Approved Aquaculture Drugs - Tricaine methanesulfonate. <https://www.fda.gov/animal-veterinary/aquaculture/approved-aquaculture-drugs>, Erişim tarihi: 22/04/2024
- Ferhatoğlu, M. (2010). *Ege Bölgesi'ndeki Jeotermal Kaynakların Akuakültürde Kullanılabilirliği* [Doktora Tezi]. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Filice, M., Cerra, M., & Imbrogno, S. (2021). The goldfish *Carassius auratus*: an emerging animal model for comparative cardiac research. *Journal of Comparative Physiology. B, Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, *192*, 27 - 48. <https://doi.org/10.1007/s00360-021-01402-9>
- Filote, C., Santos, S., Popa, V., Botelho, C., & Volf, I. (2020). Biorefinery of marine macroalgae into high-tech bioproducts: a review. *Environmental Chemistry Letters*, *19*, 969 - 1000. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01124-4>
- Fishbase. (2024). *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758) - Goldfish, <https://fishbase.mnhn.fr/summary/carassius-auratus>, Erişim tarihi: 03/05/2024
- Florence. (2024). Anestezi Türleri Nelerdir? <https://www.florence.com.tr/guncel-saglik/anestezi-turleri>, Erişim tarihi: 20/09/2024
- Ford, T., & Beitinger, T. L. (2005). Temperature tolerance in the goldfish, *Carassius auratus*. *Journal of Thermal Biology*, *30*(2), 147-152. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2004.09.004>
- Fraser, E., & Rimas, A. (2012). Empires of Food: Feast, Famine, and the Rise and Fall of Civilizations. *Gastronomica*, *2* (1): 113–114. <https://doi.org/10.1525/gfc.2012.12.1.113>
- Free, C. M., Thorson, J. T., Pinsky, M. L., Oken, K. L., Wiedenmann, J., & Jensen, O. P. (2019). Impacts of historical warming on marine fisheries production. *Science*, *363*(6430), 979-983. <https://doi.org/10.1126/science.aau1758>
- Fricke, R., Eschmeyer, W. N., & Van der Laan, R. (Eds.). (2024). *Eschmeyer's Catalog of Fishes: Genera, species, references*. California Academy of Sciences. <https://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp> Erişim tarihi: 14/06/2024
- Gesto, M., Hernández, J., López-Patiño, M. A., Soengas, J. L., & Míguez, J. M. (2015). Is gill cortisol concentration a good acute stress indicator in fish? A study in rainbow trout and zebrafish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, *188*, 65-69. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2015.06.020>

- Ghanawi, J., Monzer, S., & Saoud, I. P. (2013). Anaesthetic efficacy of clove oil, benzocaine, 2-phenoxyethanol and tricaine methanesulfonate in juvenile marbled spinefoot (*Siganus rivulatus*). *Aquaculture Research*, 44(3), 359-366. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.03039.x>
- Gilderhus, P. A., & Marking, L. L. (1987). Comparative Efficacy of 16 Anesthetic Chemicals on Rainbow Trout. *North American Journal of Fisheries Management*, 7(2), 288-292. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1987\)7<288:CEOACO>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1987)7<288:CEOACO>2.0.CO;2)
- Gleadall, I. G. (2013). The effects of prospective anaesthetic substances on cephalopods: Summary of original data and a brief review of studies over the last two decades. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 447, 23-30. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2013.02.008>
- Gomes, L. de C. (2007). Physiological responses of pirarucu (*Arapaima gigas*) to acute handling stress. *Acta Amazonica*, 37(4), 629-633. <https://doi.org/10.1590/S0044-59672007000400019>
- Gressler, L. T., Riffel, A. P. K., Parodi, T. V., Saccol, E. M. H., Koakoski, G., Da Costa, S. T., Pavanato, M. A., Heinzmann, B. M., Caron, B., Schmidt, D., Llesuy, S. F., Barcellos, L. J. G., & Baldisserotto, B. (2014). Silver catfish *Rhamdia quelen* immersion anaesthesia with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton or tricaine methanesulfonate: Effect on stress response and antioxidant status. *Aquaculture Research*, 45(6), 1061-1072. <https://doi.org/10.1111/are.12043>
- Gupta, S., Makridis, P., Henry, I., Velle-George, M., Ribicic, D., Bhatnagar, A., Skalska-Tuomi, K., Daneshvar, E., Ciani, E., Persson, D., & Netzer, R. (2024). Recent Developments in Recirculating Aquaculture Systems: A Review. *Aquaculture Research*, 2024(1), 6096671. <https://doi.org/10.1155/are/6096671>
- Günerhan, H. (2009). *Su Ürünleri Yetiştiriciliğinde Jeotermal Enerjiden Yararlanma* [Tam metin bildiri]. IX. Ulusal Tesisat Mühendisliği Kongresi Jeotermal Enerji Semineri, İzmir. <https://www.mmoteskon.org/wp-content/uploads/teskonkitaplar/teskon2009/teskon2009-Jeotermal.pdf> Erişim tarihi: 14/12/2024
- Haas, B., Phillipov, M., & Gale, F. (2020). Media representations of seafood certification in Australia: Mobilising sustainability standards to attack or defend the value of an industry. *Marine Policy*, 120, 104126. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2020.104126>
- Harmon, T. S. (2009). Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: A review of the basics. *Reviews in Aquaculture*, 1(1), 58-66. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2008.01003.x>
- Hayashi, M., Kita, J., & Ishimatsu, A. (2004). Comparison of the acid-base responses to CO₂ and acidification in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Marine*

Pollution Bulletin, 49(11-12), 1062-1065. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.07.013>

Henriksson, P., Belton, B., Jahan, K., & Rico, A. (2018). Measuring the potential for sustainable intensification of aquaculture in Bangladesh using life cycle assessment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115, 2958 - 2963. <https://doi.org/10.1073/pnas.1716530115>

Heuer, R. M., & Grosell, M. (2014). Physiological impacts of elevated carbon dioxide and ocean acidification on fish. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 307(9), R1061-R1084. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00064.2014>

Hilborn, R., & Hilborn, U. (2012). *Overfishing: What Everyone Needs to Know*. Oxford University Press, USA.

Hilton, J.W., & Dixon, D.G. (1982). Effect of increased liver glycogen and liver weight on liver function in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson: recovery from anaesthesia and plasma 35S-sulphobromophthalein clearance. *Journal of Fish Diseases*, 5, 185-195.

Hosseini-Javaheri, N., & Buck, L. (2024). A58 Utilization of hypoxia-tolerant organisms as a model in the study of ischemic-reperfusion injury in transplant hepatology. *Journal of the Canadian Association of Gastroenterology*, 7, 38 - 38. <https://doi.org/10.1093/jcag/gwad061.058>

Hoseini, S. M., Mirghaed, A. T., & Yousefi, M. (2018). Application of herbal anaesthetics in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 0,1-15. <https://doi.org/10.1111/raq.12245>

Iversen, M., & Eliassen, R. A. (2009). The Effect of AQUI-S® Sedation on Primary, Secondary, and Tertiary Stress Responses during Salmon Smolt, *Salmo salar* L., Transport and Transfer to Sea. *Journal of the World Aquaculture Society*, 40(2), 216-225. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2009.00244.x>

Iwama, G. K., McGeer, J. C., & Pawluk, M. P. (1989). The effects of five fish anaesthetics on acid–base balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout. *Canadian Journal of Zoology*, 67(8), 2065-2073. <https://doi.org/10.1139/z89-294>

Jiang, Z. Q., & Li, R. H. (2012). Intelligent Aquaculture Monitoring System Based on Fieldbus. In *Applied Mechanics and Materials* (Vols. 263–266, pp. 427–430). Trans Tech Publications, Ltd. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amm.263-266.427>

Jiang, Y., Bolnick, D. I., & Kirkpatrick, M. (2013). Assortative mating in animals. *The American Naturalist*, 181(6), E125–E138. <https://doi.org/10.1086/670160>

Juan-Jordá, M. J., Mosqueira, I., Cooper, A. B., Freire, J., & Dulvy, N. K. (2011). Global population trajectories of tunas and their relatives. *Proceedings of the*

National Academy of Sciences, 108(51), 20650-20655.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1107743108>

Jung, S., & Cha, H. (2013). Fishing vs. Climate Change: An Example of Filefish (*Thamnaconus modestus*) in the Northern East China Sea. *Journal of Marine Science and Technology*, 21, 15-22. <https://doi.org/10.6119/JMST-013-1219-3>

Kaiser, H., & Vine, N. (1998). The effect of 2-phenoxyethanol and transport packing density on the post-transport survival rate and metabolic activity in the goldfish, *Carassius auratus*. *Aquarium Sciences and Conservation*, 2(1), 1-7. <https://doi.org/10.1007/BF00466401>

Karaatlı, M. (2016). Verilerin düzenlenmesi ve gösterimi. Ş. Kalaycı (Ed.), *SPSS uygulamalı çok değişkenli istatistik teknikleri*. 7. baskı. (pp. 3-47). Ankara: Asil Yayın Dağıtım Ltd. Şti.

Keene, J. L., Noakes, D. L. G., Moccia, R. D., & Soto, C. G. (1998). The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 29(2), 89-101. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1998.tb01113.x>

King, W., Hooper, B., Hillsgrave, S., Benton, C., & Berlinsky, D. L. (2005). The use of clove oil, metomidate, tricaine methanesulphonate and 2-phenoxyethanol for inducing anaesthesia and their effect on the cortisol stress response in black sea bass (*Centropristis striata* L.). *Aquaculture Research*, 36(14), 1442-1449. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01365.x>

Kızak, V., Can, E., Danabaş, D., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.05.013>

Kumar, S., Srivastava, P. K., Kumar, V., & Seth, C. S. (2024). Biofloc technology: A sustainable approach towards wastewater utilization and fish production. *Lakes & Reservoirs: Science, Policy and Management for Sustainable Use*, 29(1), e12449. <https://doi.org/10.1111/lre.12449>

Küçük, S., Öztürk, S., & Çoban, D. (2016). Su Ürünlerinde Kullanılan Anestezikler. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 13(2), 79-85. <https://doi.org/10.25308/aduziraat.294075>

Lambooy, B., Pilarczyk, M., Bialowas, H., Reimert, H., André, G., & Van De Vis, H. (2009). Anaesthetic properties of Propiscin (Etomidat) and 2-phenoxyethanol in the common carp (*Cyprinus carpio* L.), neural and behavioural measures. *Aquaculture Research*, 40(11), 1328-1333. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02233.x>

Lawrence, E., Henderson, I. F., & Henderson, I. F. (Ed.). (2005). *Henderson's dictionary of biology* (13. ed). Pearson/Prentice Hall.

- Lee, S., Wang, Y., Hung, S. S. O., Strathe, A. B., Fangue, N. A., & Fadel, J. G. (2014). Development of optimum feeding rate model for white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Aquaculture*, 433, 411–420. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.06.007>
- Li, M., Gong, S., Li, Q., Yuan, L., Meng, F., & Wang, R. (2016). Ammonia toxicity induces glutamine accumulation, oxidative stress and immunosuppression in juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 183-184, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2016.01.005>
- Lorenzoni, M., Corboli, M., Ghetti, L., Pedicillo, G., & Carosi, A. (2007). Growth and reproduction of the goldfish *Carassius auratus*: A case study from Italy. F. Gherardi (Ed.), *Biological invaders in inland waters: Profiles, distribution, and threats* (C. 2, pp. 259-273). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6029-8_13
- Ma, M., & Hu, Q. (2024). Microalgae as feed sources and feed additives for sustainable aquaculture: Prospects and challenges. *Reviews in Aquaculture*, 16(2), 818-835. <https://doi.org/10.1111/raq.12869>
- MacLeod, M. J., Hasan, M. R., Robb, D. H. F., & Mamun-Ur-Rashid, M. (2020). Quantifying greenhouse gas emissions from global aquaculture. *Scientific Reports*, 10(1), 11679. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68231-8>
- Maiolo, S., Parisi, G., Biondi, N., Lunelli, F., Tibaldi, E., & Pastres, R. (2020). Fishmeal partial substitution within aquafeed formulations: life cycle assessment of four alternative protein sources. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 25, 1455 - 1471. <https://doi.org/10.1007/s11367-020-01759-z>
- Martínez-Porchas, M., & Martínez-Córdova, L. R. (2009). Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress? *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 4(2), 158-178.
- Mohamed S (1999) Comparative efficacy of four anesthetics on common carp *Cyprinus carpio* L. *Acta Ichthyologica et Piscatoria* 29(2): 91-97. <https://doi.org/10.3750/AIP1999.29.2.08>
- Morton, W. (1990). Occupational phenoxyethanol neurotoxicity: a report of three cases. *Journal of occupational medicine*, 32 (1), 42-45. <https://doi.org/10.1097/00043764-199001000-00012>
- Mota, M., Sousa, R., Araújo, J., Braga, C., & Antunes, C. (2014). Ecology and conservation of freshwater fish: Time to act for a more effective management. *Ecology of Freshwater Fish*, 23(2), 111-113. <https://doi.org/10.1111/eff.12113>
- Musshoff, U., Madeja, M., Binding, N., Witting, U., & Speckmann, E. (1999). Effects of 2-phenoxyethanol on N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor-mediated ion currents. *Archives of Toxicology*, 73, 55-59. <https://doi.org/10.1007/s002040050586>

- Mylonas, C. C., Cardinaletti, G., Sigelaki, I., & Polzonetti-Magni, A. (2005). Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. *Aquaculture*, 246(1-4), 467-481. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.02.046>
- Nagarajan, D., Senthilkumar, G., Chen, C.-W., & vd. (2024). Sustainable bioplastics from seaweed polysaccharides: A comprehensive review. *Polymers for Advanced Technologies*, 35(8), e6536. <https://doi.org/10.1002/pat.6536>
- Neiffer, D. L., & Stamper, M. A. (2009). Fish Sedation, Anesthesia, Analgesia, and Euthanasia: Considerations, Methods, and Types of Drugs. *ILAR Journal*, 50(4), 343-360. <https://doi.org/10.1093/ilar.50.4.343>
- Nie, P., & Hallerman, E. (2021). Advancing the sustainability of aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 13(2), 781-782. <https://doi.org/10.1111/raq.12548>
- Ning, B., Shah, A., Ullah, S., Khan, R., Khan, M., Zaman, A., & Muhammad, K. (2024). Exploring the Role of Insects as Sustainable Feed in Aquaculture Nutrition and Enhancing Antioxidant Capacity, Growth and Immune Response. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. <https://doi.org/10.4194/trjfas24581>
- Okumuş, İ. (2019). Türkiye’de Yenilenebilir Enerji Tüketimi, Tarım ve CO2 Emisyonu İlişkisi. *Uluslararası Ekonomi ve Yenilik Dergisi*, 6(1), 21-34. <https://doi.org/10.20979/ueyd.659092>
- Olsen, M., Thorvaldsen, T., & Osmundsen, T. (2021). Certifying the public image? Reputational gains of certification in Norwegian salmon aquaculture. *Aquaculture*, 542, 736900.
- Ortuño, J., Esteban, M. A., & Meseguer, J. (2002). Effects of four anaesthetics on the innate immune response of gilthead seabream (L.). *Fish & Shellfish Immunology*, 12(1), 49-59. <https://doi.org/10.1006/fsim.2001.0353>
- Ota, K., & Abe, G. (2016). Goldfish morphology as a model for evolutionary developmental biology. *Wiley Interdisciplinary Reviews. Developmental Biology*, 5, 272 - 295. <https://doi.org/10.1002/wdev.224>
- Pankhurst, N. W. (2011). The endocrinology of stress in fish: An environmental perspective. *General and Comparative Endocrinology*, 170(2), 265-275. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2010.07.017>
- Paruğ, Ş. Ş. (2012). *Deniz Balıkları Yetiştiriciliğinde Farklı Anestezik Maddelerin Yöntem ve Uygulama Dozlarının Araştırılması* [Doktora Tezi]. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Paruğ, Ş., Jabbr, A., & Lazrag, F. A. H. (2024). Sustainable development of fisheries and aquaculture in North Africa: Current status and future prospects. *Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 10(1), 90–105. <https://doi.org/10.58626/menba.1455763>

- Pawar, H. B., Sanaye, S. V., Sreepada, R. A., Harish, V., Suryavanshi, U., Tanu, & Ansari, Z. A. (2011). Comparative efficacy of four anaesthetic agents in the yellow seahorse, *Hippocampus kuda* (Bleeker, 1852). *Aquaculture*, 311(1-4), 155-161. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.12.007>
- Person-Le Ruyet, J., Galland, R., Le Roux, A., & Chartois, H. (1997). Chronic ammonia toxicity in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, 154(2), 155–171.
- Pradeepkiran, J. (2019). Aquaculture role in global food security with nutritional value: a review. *Translational Animal Science*, 3, 903 - 910. <https://doi.org/10.1093/tas/txz012>
- Pramod, P. K., Ramachandran, A., Sajeevan, T. P., Thampy, S., & Pai, S. S. (2010). Comparative efficacy of MS-222 and benzocaine as anaesthetics under simulated transport conditions of a tropical ornamental fish *Puntius filamentosus* (Valenciennes). *Aquaculture Research*, 41(2), 309-314. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02333.x>
- Příborský, J., & Velíšek, J. (2018). A Review of Three Commonly Used Fish Anesthetics. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 26(4), 417–442. <https://doi.org/10.1080/23308249.2018.1442812>
- Rabie, M. (2013). The Development of Human Societies. In: *Saving Capitalism and Democracy*. Palgrave Macmillan (Ed), New York. https://doi.org/10.1057/9781137321312_3
- Rairat, T., Chi, Y., Hsieh, C.-Y., Liu, Y.-K., Chuchird, N., & Chou, C.-C. (2021). Determination of Optimal Doses and Minimum Effective Concentrations of Tricaine Methanesulfonate, 2-Phenoxyethanol and Eugenol for Laboratory Managements in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animals*, 11(6), 1521. <https://doi.org/10.3390/ani11061521>
- Ross, L. G., & Ross, B. (2008). *Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals*. Oxford, UK: Wiley-Blackwell.
- Saccol, E. M. H., Jerez-Cepa, I., Ourique, G. M., Pês, T. S., Gressler, L. T., Mourão, R. H. V., Martínez-Rodríguez, G., Mancera, J. M., Baldisserotto, B., Pavanato, M. A., & Martos-Sitcha, J. A. (2018). Myrcia sylvatica essential oil mitigates molecular, biochemical and physiological alterations in *Rhamdia quelen* under different stress events associated to transport. *Research in Veterinary Science*, 117, 150-160. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.12.009>
- Sadoul, B., & Geffroy, B. (2019). Measuring cortisol, the major stress hormone in fishes. *Journal of Fish Biology*, 94(4), 540-555. <https://doi.org/10.1111/jfb.13904>
- Sadoul, B., & Vijayan, M. M. (2016). Stress and Growth. C. B. Schreck, L. Tort, A. P. Farrell, & C. J. Brauner (Eds.), *Fish Physiology* (C. 35, ss. 167-205). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802728-8.00005-9>

- Soldatov, A. (2021). Functional Effects of the Use of Anesthetics on Teleostean Fishes (Review). *Inland Water Biology*, 14, 67-77. <https://doi.org/10.1134/S1995082920060139>
- Şahin, B., & Kızak, V. (2023). Farklı Su Sıcaklıklarında Gül Ağacı (*Aniba rosaeodora*) Esansiyel Yağının ve 2-fenoksietanolün Japon Balığı (*Carassius auratus*) Üzerindeki Anestezik Etkileri. *Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 9(2), 15-26.
- Sandodden, R., Finstad, B., & Iversen, M. (2001). Transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): Anaesthesia and recovery. *Aquaculture Research*, 32(2), 87-90. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2001.00533.x>
- Small, B. C. (2003). Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 218(1-4), 177-185. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00302-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00302-2)
- Small, B. C. (2004). Effect of isoeugenol sedation on plasma cortisol, glucose, and lactate dynamics in channel catfish *Ictalurus punctatus* exposed to three stressors. *Aquaculture*, 238(1-4), 469-481. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.05.021>
- Soltani, M., Pakzad, K., Taheri-Mirghaed, A., Mirzargar, S., Shekarabi, S., Yosefi, P., & Soleymani, N. (2017). Dietary Application of the Probiotic *Lactobacillus plantarum* 426951 Enhances Immune Status and Growth of Rainbow Trout (*O. mykiss*) Vaccinated Against *Yersinia ruckeri*. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11, 207-219. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9376-5>
- Sudhakar, M., Kumar, B., Mathimani, T., & Arunkumar, K. (2019). A review on bioenergy and bioactive compounds from microalgae and macroalgae-sustainable energy perspective. *Journal of Cleaner Production*. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2019.04.287>
- Summerfelt, R., & Smith, L. (1990). Anesthesia, surgery, and related techniques. İçinde C. B. Schreck & P. B. Moyle (Ed.), *Methods for Fish Biology* (ss. 213-272). *American Fisheries Society*. <https://doi.org/10.47886/9780913235584>
- Tarkan, A. S., Cucherousset, J., Ziğba, G., Godard, M. J., & Copp, G. H. (2010). Growth and reproduction of introduced goldfish *Carassius auratus* in small ponds of southeast England with and without native crucian carp *Carassius carassius*: Growth and reproduction of introduced goldfish *Carassius auratus*. *Journal of Applied Ichthyology*, 26, 102-108. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2010.01506.x>
- Tort, L., Puigcerver, M., Crespo, S., & Padrós, F. (2002). Cortisol and haematological response in sea bream and trout subjected to the anaesthetics clove oil and 2-phenoxyethanol: Physiological response to clove oil anaesthesia. *Aquaculture Research*, 33(11), 907-910. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2002.00741.x>

- Trusty, M. (2002). The benefits and risks of aquacultural production for the aquarium trade. *Aquaculture*, 205(3-4), 203-219. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00683-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00683-4)
- Trujillo-González, A., Becker, J. A., & Hutson, K. S. (2018). Parasite Dispersal From the Ornamental Goldfish Trade. *Advances in Parasitology* (pp. 239-281). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2018.03.001>
- Van Der Laan, R., Eschmeyer, W. N., & Fricke, R. (2014). Family-group names of Recent fishes. *Zootaxa*, 3882(1), 1-230. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3882.1.1>
- Velíšek, J., & Svobodová, Z. (2004). Anaesthesia of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) with 2-phenoxyethanol: Acute Toxicity and Effects on Biochemical Blood Profile. *Acta Veterinaria Brno*, 73(2), 247-252. <https://doi.org/10.2754/avb200473020247>
- Velíšek, J., Svobodová, Z., & Piačková, V. (2005). Effects of Clove Oil Anaesthesia on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Veterinaria Brno*, 74(1), 139-146. <https://doi.org/10.2754/avb200574010139>
- Velíšek, J., Svobodová, Z., & Piačková, V. (2007). Effects of 2-phenoxyethanol Anaesthesia on Haematological Profile on Common Carp (*Cyprinus carpio*) and Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Veterinaria Brno*, 76(3), 487-492. <https://doi.org/10.2754/avb200776030487>
- Vetešník, L., Papoušek, I., Halačka, K., Lusková, V., & Mendel, J. (2007). Morphometric and genetic analysis of *Carassius auratus* complex from an artificial wetland in Morava River floodplain, Czech Republic. *Fisheries Science*, 73(4), 817-822. <https://doi.org/10.1111/j.1444-2906.2007.01401.x>
- Vince, J., & Haward, M. (2019). Hybrid governance in aquaculture: Certification schemes and third party accreditation. *Aquaculture*, 507, 322-328. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.041>
- Volkoff, H., Xu, M., MacDonald, E., & Hoskins, L. (2009). Aspects of the hormonal regulation of appetite in fish with emphasis on goldfish, Atlantic cod and winter flounder: notes on actions and responses to nutritional, environmental and reproductive changes. *Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology*, 153 1, 8-12. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.12.001>
- Wagner, G. N., Singer, T. D., & Scott McKinley, R. (2003). The ability of clove oil and MS-222 to minimize handling stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum): Anaesthetic effects on handling stress. *Aquaculture Research*, 34(13), 1139-1146. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2003.00916.x>
- Walsh, C. T., & Pease, B. C. (2002). The use of clove oil as an anaesthetic for the longfinned eel (*Anguilla reinhardtii*, Steindachner). *Aquaculture Research*, 33(8), 627-635. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2002.00701.x>

- Wayson, K. A., Downes, H., Lynn, R. K., & Gerber, N. (1976). Studies on the comparative pharmacology and selective toxicity of tricaine methanesulfonate: metabolism as a basis of the selective toxicity in poikilotherms. *J Pharmacol Exp Ther.*, 198(3):695-708. PMID: 185356.
- Weber, R. A., Peleteiro, J. B., Martín, L. O. G., & 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(1-2), 147-150. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.11.024>
- Wikipedia. (2024). Japon balığı, Erişim tarihi: 11/08/2024
https://tr.wikipedia.org/wiki/Japon_bal%C4%B1%C4%9F%C4%B1
- Yasmin, R., & Islam, M. (2017). Sustainability of fisheries and aquaculture in context of emerging climate change issues. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 5, 176-187
- Yıldırım, Ş., Suzer, C., Fırat, K., Saka, Ş., Hekimoğlu, M., Çoban, D., Korkut, A. Y., Köse, İ., Antepli, O., Gökvardar, A., & Perçin, F. (2024). Impact of probiotic *Bacillus* sp. dietary supplementation on pancreatic and intestinal activities in seabream *Sparus aurata*. *Letters in Applied Microbiology*, 77(11), ovae104. <https://doi.org/10.1093/lambio/ovae104>
- Yıldız, M., Kayım, M., & Akın, S. (2013). The Anesthetic Effects of Clove Oil and 2-Phenoxyethanol on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) at Different Concentrations and Temperatures. *Iranian Journal of Fisheries Science*, 12(4), 947-961
- Yılmaz, B., 1999. *Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi*. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, Ankara.
- Zahl, I. H., Samuelsen, O., & Kiessling, A. (2012). Anaesthesia of farmed fish: Implications for welfare. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(1), 201-218. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9565-1>
- Zhang, H., Wang, Q., Dong, Y., Mei, J., & Xie, J. (2023). Effects of Tricaine Methanesulphonate (MS-222) on Physiological Stress and Fresh Quality of Sea Bass (*Lateolabrax maculatus*) under Simulated High-Density and Long-Distance Transport Stress. *Biology*, 12(2), 223. <https://doi.org/10.3390/biology12020223>



EKLER

EK A. Kastamonu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Kararı



T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : E-16498365-000-2200064951
Konu : HADYEK Karar

05.07.2022

Sayın Dr. Öğr. Üyesi Şükrü Şenol PARUĞ

23.06.2022 tarihli dilekçeniz Kastamonu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 24.06.2022 tarih ve 3 sayılı oturumunda görüşülmüştür.

TOPLANTI TARİHİ : 24.06.2022

TOPLANTI SAYISI :3

KARAR NO 16:

Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Öğretim Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Şükrü Şenol Paruğ'un yürütücülüğünde yapılacak olan "**Sazangiller (Cyprinidae) için Uzun Süreli Kapalı Ortam Transferlerine Yönelik Optimum Hafif Sedasyon Konsantrasyonlarının Davranış ve Stres İndikatörleriyle Birlikte Belirlenmesi**" isimli çalışma ile ilgili Dr. Öğr. Üyesi Şükrü Şenol Paruğ'un 23.06.2022 tarihli dilekçesi ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra adı geçen araştırma çalışmasınının 540 hayvanda yürütülmesininin oy çokluğu ile kabulüne karar verildi.

Doç. Dr. Elif DOĞAN
Kurul Başkanı

Belge Doğrulama Kodu: E3AMA74

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Takip Adresi: www.kastamonu.edu.tr/belgedogrulama

Adres: Kastamonu Üniversitesi Rektörlüğü, Kızılkent Kampüsü, Merkez, Kastamonu

Telefon No: (0 366) 2801102

e-Posta:

Keş Adresi: kastamonuuniversitesi@hs01.kep.tr

Faks No: (0 366) 2801038

İnternet Adresi: www.kastamonu.edu.tr

Bilgi için :

Elif Doğan

Kurul Başkanı

Telefon No:

(0 366) 2805110

