

MS-222, propofol ve karanfil yağının *Daphnia magna*'larda anestezi etkisinin kalp atım oranlarına göre değerlendirilmesi

Evaluation of the anesthetic effect of MS-222, propofol and clove oil in *Daphnia magna* according to heart rate

ÖZET

Günümüzde Avrupa Birliği (EU), Amerikan Test ve Malzeme Kurumu (ASTM), Uluslararası Standardizasyon Teşkilatı (ISO), Ekonomik Kalkınma ve İş birliği Örgütü (OECD) gibi pek çok kuruluş; bazı kimyasal maddelerin, ilaçların gerek çevreye gerekse canlılara olan etkilerini *in vivo* koşullarda araştırılması amacıyla *Daphnia magna* adı verilen sucül omurgasız canlıdan yararlanılmaktadır. Su ürünleri yetiştiriciliğinde karanfil yağı, MS 222 ve propofol yaygın bir şekilde kullanılan anestezi maddeleridir. Ancak bu anestezi maddelerin tatlı su ortamında bulunan kabuklu canlılar için etkileri hakkında çok fazla bilgi yoktur. Yapılan bu çalışmada, anestezi etkisi olan, MS-222, propofol ve karanfil yağının su piresi olarak bilinen *Daphnia magna*'larda kısa süredeki kalp atım sayısında oluşturduğu farklar ve hayatta kalma etkisi araştırılmıştır. Anestezi maddeler 0.1-0.01-0.001 ml/L olarak uygulanmış ve çalışmanın 1., 3., ve 5. saatlerinde su piresinin kalp atım sayıları ve ölüm oranları değerlendirilmiştir. Deneme süresince elde edilen verilere göre kullanılan üç farklı anestezi maddenin kalp atım sayıları ve ölüm oranları üzerindeki etkileri bakımından anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Çalışmanın sonucu olarak düşük oranlarda bile bu üç farklı anestezi maddenin tatlı su ortamlarında bulunan omurgasız canlılar için toksik bir etki yaratabileceği ve ekolojik dengeyi etkileyebileceği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Anesteziyoloji, karanfil yağı, MS 222, propofol, su piresi, toksikoloji

ABSTRACT

Today, many organizations such as the European Union (EU), American Testing and Materials Agency (ASTM), International Organization for Standardization (ISO), Economic Development and Cooperation Organization (OECD); An aquatic invertebrate called *Daphnia magna* is used to investigate the effects of certain chemicals and drugs on both the environment and living things *in vivo*. Clove oil, MS 222 and propofol are commonly used anesthetics in aquaculture. However, there is not much information about the effects of these anesthetic agents for crustaceans in the freshwater environment. In this study, the effects of MS-222, propofol, and clove oil, which have anesthetic effects, in the short-term heart rate and survival effect of *Daphnia magna*, known as the water flea, were investigated. Anesthetic agents were administered as 0.1-0.01-0.001 ml/L, and heart rate and death rates of water fleas were evaluated at the 1st, 3rd, and 5th hours of the study. According to the data obtained during the trial, there was a significant difference in the effects of three different anesthetic agents on heart rate and death rates ($p<0.05$). As a result of the study, it has been seen that these three different anesthetic substances can create a toxic effect for invertebrates in freshwater environments and affect the ecological balance, even at low rates.

Keywords: Anesthesiology, clove oil, daphnia, MS 222, propofol, toxicology

How to cite this article

Yaşar, TÖ., Yağcılar, Ç. (2023). Evaluation of the anesthetic effect of MS-222, propofol and clove oil in *Daphnia magna* according to heart rate. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques*, 8(2), 129-136. <https://doi.org/10.31797/vetbio.1310435>

Research Article

Tuba Özge Yaşar^{1a}
Çetin Yağcılar^{2b}

¹Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Cerrahi Anabilim Dalı, Tekirdağ, Türkiye

²Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Hidrobiyoloji, Anabilim Dalı Tekirdağ, Türkiye

ORCID-

^a [0000-0003-2778-5779](https://orcid.org/0000-0003-2778-5779)

^b [0000-0002-4683-820X](https://orcid.org/0000-0002-4683-820X)

Correspondence

Tuba Özge Yaşar

dr.tozgeyasar@gmail.com

Article info

Submission: 06-06-2023

Accepted: 15-07-2023

Publication: 30-08-2023

e-ISSN: 2548-1150

doi prefix: 10.31797/vetbio

<http://dergipark.org.tr/vetbio>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License



GİRİŞ

Phyllopoda sınıfından planktonik bir organizma olan *Daphnia magna*; antibiyotikler, antidepresanlar, antiinflamatuvar ilaçlar, beta-blokerler, lipid düzenleyiciler ve gibi birçok ilacın toksikolojik etkilerini belirlemek için kullanılmaktadır (Ebert, 2005; Tkaczyk vd., 2021). *Daphnia magna*; Avrupa Birliği, OECD, ASTM ve ISO gibi önemli organizasyonlar tarafından da sıklıkla toksisite testleri için tercih edilen organizmalardır (Ferraz, 2021).

Çeşitli ilaç çalışmalarında kullanılan *Daphnia magna* tatlısu kaynaklarında yaşar ve “su piresi” olarak da bilinmektedir. Oldukça küçüktürler ve 0.2-0.3 mm arasında değişen ebatlara sahiptir. Bu canlılar, akvaryum balıklarının beslenmesinde tercih edilmektedirler. Ayrıca gübreli toprak havuzlarda özel olarak yetiştirilen mersin balığı, sazan balığının da başlıca yemini oluşturmaktadır (Bat vd., 2008).

Son yıllarda, modern su ürünleri yetiştiriciliğinde anti-stres amaçlı olarak balıkların yakalanması, taşınması, suni üremesi, ameliyat prosedürlerine yardımcı olmak için farklı türde anestezipler kullanılmaktadır (Roubach vd., 2005). Anestezipler, merkezi sinir sistemi üzerinde, balığın solungaçlardan emilen ve atardamarlara giren anestezi bir solüsyona eklenmesi ile meydana gelir. Anestezipler ve metabolitler balığın tatlı suya geri bırakılması ile solungaçlar yardımıyla vücuttan atılması sayesinde, bu anestezi etkisi ortadan kalkar (Ross ve Ross, 1999).

Birkaç anestezi madde, avantaj ve dezavantajları ile balıkların anestesizinde etkili olduğunu kanıtlamıştır (Velişek vd., 2006). Şimdiye kadar, ABD ve Birleşik Krallık'ta yemlik balıklarda kullanılmak üzere yalnızca MS-222 (trikain metansülfonat) tescil edilmiştir (Coyle vd., 2004).

Sedatif ve anestezi etkili olan Propofol (2,6 diizopropil fenol), ultra kısa etkili bir sedatif ajandır (Kay ve Stephenson 1980). Propofolün, yeşil iguanalar (Knotkova vd., 2005) gibi sürüngenlerde ve *Acipenser oxyrinchus De soti* (Fleming vd., 2003) gibi bazı balık türlerinde ve benekli bambu köpekbalıklarında (*Chiloscyllium plagiosum*) anestezi oluşturmak için kullanıldığı bildirilmiştir (Miller vd., 2005). Trikain metansülfonat (MS-222), 1967'de piyasaya sürülmesinden bu yana dünya çapında poikilotermiler içinde en yaygın kullanılan anestezi ajanlarından biri olmuştur. Başlangıçta kokaine yerel bir analjezik alternatifi olarak üretilmiştir ve bu şekilde insanlarda kullanılmıştır. MS-222, suda yaşayan hayvanlar için de bir anestezi madde olarak kullanılabilirliği kısa sürede anlaşılmıştır. MS-222, kristalimsi beyaz bir toz halindedir. Tatlı suda ve deniz suyunda kolaylıkla çözünür (Brown, 1993; Coyle vd., 2004; Daniel, 2009; EMEA, 1999; Maricchiolo ve Genovese, 2011; Treves-Brown, 2000; Ortuno vd., 2002).

Eugenia caryophyllata bitkisinin gövde, yaprak ve tomurcuklarından damıtma yoluyla elde edilen karanfil yağının etken maddesi yaklaşık %85-95 eugenol (4-allyl- methoxyphenol $C_{10}H_{12}O_2$), %5-15 isoeugenol ve methyleugenol'dur (FDA, 2002; Kanyılmaz vd., 2007). Eugenol'ün prostaglandin H sentezini bloke etmesi, ileti engelleyici nörotransmitter olan GABA'ya (gama aminobütirik asit) agonist ve iletimde rol oynayan glutamat'a (N-metil-D- aspartat) antagonist etkisi ile, merkezi sinir sisteminde uyarıların kesintiye girmesi ile karanfil yağının anestezi etkisi meydana gelir (Yang vd., 2003; Pongprayon vd., 1991).

Yapılan bu çalışmada, anestezi etkisi olan, MS-222, propofol ve karanfil yağının su piresi olarak bilinen *Daphnia magna*'larda kısa süredeki kalp atım sayısında oluşturduğu farklar ve hayatta kalma etkisi araştırılmıştır.

MATERYAL VE METHOD

Bu çalışmada sucul omurgasız su piresi olarak bilinen *Daphnia magna* kullanılmıştır. *D. magna* 2020 yılından beri su ürünleri laboratuvarımızda kültüre alınan ve üretimi yapılan canlı olup, su koşulları olarak ortalama 24°C su sıcaklığı ve 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık ışık periyodunda tutulmaktadır.

Deneysel organizmalar ve kimyasallar

Çalışma için seçilen canlılar ana kültür tanklarından alınıp 40x40x20 cm büyüklüğünde plastik malzemeden yapılmış tanka yerleştirilerek 3 gün boyunca *Chlorella sorokiniana* mikroalgi ile günde iki defa beslemeleri yapılmıştır. Çalışma da su ürünleri sektöründe kullanılan üç farklı anestezi madde MS 222 (Finquel, Argent Laboratuvarı), Propofol (BBraun, Almanya) ve Karanfil yağı denenmiş ve bunların *D. Magna* 'lar için olumsuz etkileri saptanmaya çalışılmıştır. Bu anestezi maddeler üç farklı doz uygulanmış (0,1-0.01-0.001 ml/L) ve bunların *D. magna* üzerindeki kısa süreli etkileri değerlendirilmek için 1-3-5 saat aralıklarındaki kalp atım sayıları ölçülmüştür.

Her bir 20*10*20 cm büyüklüğündeki plastik kaplara 1litre su konulmuştur. Su sıcaklığı ortalama $24 \pm 1^\circ\text{C}$ tutulmuştur. Kullanılan anestezi ürünlerin suya herhangi bir pH değişikliği oluşturmamış ortalama 8.7 pH elde edilmiştir. Kullanılan karanfil yağı yerel bir aktardan alınarak 1:9 oranında %99.8 lik etanol ile seyreltilerek kullanılmıştır. MS 222 dozu, Western Chemical, Inc.'nin Pet ve Tropikal su canlılarına göre kullanımı esas alınarak hesaplanmıştır. Su pireleri canlı mikroalg kültürü *Chlorella sorokiniana* ile beslenmesi yapılmıştır.

Deneysel kurulum

Uygulanan çalışma düzeneğinde 20*10*20 cm büyüklüğünde plastik malzemeden yapılmış kutular kullanılmıştır. Çalışma 3 farklı anestezi madde kullanılarak, 3 tekrür olarak dizayn edilmiştir. Her bir grup da 24 adet canlı olup

toplam 72 adet *Daphnia magna* kullanılmıştır. Her bir anestezi madde için 0.1–0.01 ve 0.001 ml/L olarak dozlar uygulanmış olup her bir anestezi madde için canlıların boy ve en ölçümleri mikroskop yardımıyla oküler metre ile yapılmıştır. Ayrıca uygulanan dozların canlı üzerinde etkilerinin belirlenmesi amacıyla dakikadaki kalp atım sayıları belirlenmiştir.

Kalp atım oranı

Bu uygulama için başlangıçta 1. saatte, 3. saatte ve 5. saatteki kalp atım sayıları SOİF marka mikroskop yardımıyla Sony marka fotoğraf makinası ile 6 sn süre ile görüntü kaydı alınmış ve görüntüler Windows Media Player ile yavaşlatılarak kalp atım sayıları belirlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. *Daphnia magna* mikroskop görüntüsü. Kırmızı dairede kalbi görülmekte.

İstatistik analizler

Verilerin istatistik analizinde IBM SPSS Statistics 25.0 paket programı kullanılmış olup, bağımsız grupların karşılaştırmasında Tek yönlü ANOVA testi ve gruplar arasındaki farklılığın tespiti amacıyla karşılaştırmalar Scheffe testi ile yapılmıştır ($p < 0.05$). Tekrarlı ölçümlerin analizinde Genel Lineer Model üzerinden Tekrarlı Ölçümler için ANOVA testi yapılmıştır ($p < 0.05$). Uygulanan farklı anestezi maddelerin oluşturduğu ölüm oranları ölçüm için belirlenen saatlerde ortamdan uzaklaştırılmıştır. Hayatta kalma oranları "Microsoft excel" programı ile tablo oluşturularak belirtilmiştir.

BULGULAR

Tablo 1'e göre, 0.1 ml/L dozda 1. saatte karanfil yağı grubunda kalp atım oranı, MS-222 ve propofol grupları ile kıyaslandığında yaklaşık iki kat fazla olduğu görüldü. Aynı dozda 5. saatte karanfil yağının etkisinin 3. saate göre yaklaşık 2.5 kat fazla olduğu dikkat çekmiştir. Ancak Propofol ve MS-222 gruplarında 5. saatteki etkisinin

Tablo 1. *Daphnia magna* üzerinde farklı dozlarda uygulanan bitkisel ve kimyasal kökenli anestezi maddelerinin kalp ritmi üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması

Doz mL/L	Kalp Atımı Ölçüm Saatleri	Anestezi Madde						P value
		Karanfil Yağı		MS-222		Propofol		
		n	$\bar{x} \pm$ SEM	n	$\bar{x} \pm$ SEM	n	$\bar{x} \pm$ SEM	
0.1	0. saat	24	321.29 \pm 2.64 ^a	24	321.67 \pm 2.60 ^a	24	322.08 \pm 2.82 ^a	0.979
	1. saat	24	46.46 \pm 1.96 ^a	18	20.56 \pm 1.89 ^b	18	26.67 \pm 2.29 ^b	<0.001
	3. saat	20	25.50 \pm 1.85 ^a	13	13.85 \pm 1.40 ^b	15	19.13 \pm 1.19 ^b	<0.001
	5. saat	18	67.22 \pm 3.11 ^a	9	10.00 \pm 0.00 ^b	13	15.38 \pm 1.44 ^b	<0.001
0.01	0. saat	24	325.83 \pm 3.18 ^a	24	321.67 \pm 3.50 ^a	24	317.08 \pm 3.16 ^a	0.176
	1. saat	24	161.67 \pm 3.17 ^a	21	53.57 \pm 2.27 ^b	22	44.55 \pm 2.25 ^b	<0.001
	3. saat	24	196.25 \pm 2.99 ^a	19	41.05 \pm 2.75 ^b	20	24.50 \pm 1.70 ^b	<0.001
	5. saat	24	245.21 \pm 5.23 ^a	17	30.88 \pm 1.73 ^b	19	24.21 \pm 1.92 ^b	<0.001
0.001	0. saat	24	321.67 \pm 2.23 ^a	24	322.08 \pm 2.82 ^a	24	320.83 \pm 3.51 ^a	0.953
	1. saat	24	266.25 \pm 4.92 ^a	24	113.75 \pm 2.61 ^b	24	135.00 \pm 2.49 ^c	<0.001
	3. saat	24	302.92 \pm 2.52 ^a	24	99.17 \pm 2.33 ^b	24	122.92 \pm 2.04 ^c	<0.001
	5. saat	24	326.25 \pm 2.68 ^a	24	91.25 \pm 1.93 ^b	24	110.83 \pm 2.09 ^c	<0.001

^{a-c}: Aynı satırda farklı harflerle kodlanan değerler arasındaki fark istatistik olarak anlamlıdır.

Tablo 2. Tekrarlı ölçümlerde çoklu karşılaştırma sonuçları

Anestezi Madde		Ortalama Fark (i-j)	Sx	p value ^a	Fark için %95 güven aralığı ^b	
i	j				Alt sınır	Üst sınır
Karanfil Yağı	MS-222	97.205	1.321	<0.001	94.008	100.403
	Propofol	93.776	1.155	<0.001	90.982	96.571
MS-222	Karanfil Yağı	97.205	1.321	<0.001	-100.403	-94.008
	Propofol	-3.429	1.373	0.041	-6.751	-0.107

^a: Ortalama fark 0.05 düzeyinde anlamlıdır. ^b: Çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi

Çalışmamızda 0.001 ml/L dozda ise Propofol grubunda diğerlerine göre daha etkili olduğu anlaşılmıştır. Karanfil yağı grubunda ise neredeyse önemli bir değişiklik oluşmamıştır. Tekrarlı ölçüm sonuçlarına göre (Tablo 2) tüm deneme süresi dikkate alındığında kullanılan

giderek arttığı, kalp atım oranlarındaki azalış ile anlaşılmıştır. Çalışmamızda 0.01 ml/L dozda denenen anestezi maddelerde, en büyük değişim 5. saatte Propofol grubunda görülmüştür. Propofol, diğer anestezi maddelere göre kalp atım oranında bariz düşüş meydana getirmiştir. Karanfil yağı grubunda ise çalışmanın 0. saati ile 5. saati arasındaki fark giderek azalmıştır.

Tablo 1. *Daphnia magna* üzerinde farklı dozlarda uygulanan bitkisel ve kimyasal kökenli anestezi maddelerinin kalp ritmi üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması

Doz mL/L	Kalp Atımı Ölçüm Saatleri	Anestezi Madde						P value
		Karanfil Yağı		MS-222		Propofol		
		n	$\bar{x} \pm$ SEM	n	$\bar{x} \pm$ SEM	n	$\bar{x} \pm$ SEM	
0.1	0. saat	24	321.29 \pm 2.64 ^a	24	321.67 \pm 2.60 ^a	24	322.08 \pm 2.82 ^a	0.979
	1. saat	24	46.46 \pm 1.96 ^a	18	20.56 \pm 1.89 ^b	18	26.67 \pm 2.29 ^b	<0.001
	3. saat	20	25.50 \pm 1.85 ^a	13	13.85 \pm 1.40 ^b	15	19.13 \pm 1.19 ^b	<0.001
	5. saat	18	67.22 \pm 3.11 ^a	9	10.00 \pm 0.00 ^b	13	15.38 \pm 1.44 ^b	<0.001
0.01	0. saat	24	325.83 \pm 3.18 ^a	24	321.67 \pm 3.50 ^a	24	317.08 \pm 3.16 ^a	0.176
	1. saat	24	161.67 \pm 3.17 ^a	21	53.57 \pm 2.27 ^b	22	44.55 \pm 2.25 ^b	<0.001
	3. saat	24	196.25 \pm 2.99 ^a	19	41.05 \pm 2.75 ^b	20	24.50 \pm 1.70 ^b	<0.001
	5. saat	24	245.21 \pm 5.23 ^a	17	30.88 \pm 1.73 ^b	19	24.21 \pm 1.92 ^b	<0.001
0.001	0. saat	24	321.67 \pm 2.23 ^a	24	322.08 \pm 2.82 ^a	24	320.83 \pm 3.51 ^a	0.953
	1. saat	24	266.25 \pm 4.92 ^a	24	113.75 \pm 2.61 ^b	24	135.00 \pm 2.49 ^c	<0.001
	3. saat	24	302.92 \pm 2.52 ^a	24	99.17 \pm 2.33 ^b	24	122.92 \pm 2.04 ^c	<0.001
	5. saat	24	326.25 \pm 2.68 ^a	24	91.25 \pm 1.93 ^b	24	110.83 \pm 2.09 ^c	<0.001

^{a-c}: Aynı satırda farklı harflerle kodlanan değerler arasındaki fark istatistik olarak anlamlıdır.

Tablo 2. Tekrarlı ölçümlerde çoklu karşılaştırma sonuçları

Anestezi Madde		Ortalama Fark (i-j)	Sx	p value ^a	Fark için %95 güven aralığı ^b	
i	j				Alt sınır	Üst sınır
Karanfil Yağı	MS-222	97.205	1.321	<0.001	94.008	100.403
	Propofol	93.776	1.155	<0.001	90.982	96.571
MS-222	Karanfil Yağı	97.205	1.321	<0.001	-100.403	-94.008
	Propofol	-3.429	1.373	0.041	-6.751	-0.107

^a: Ortalama fark 0.05 düzeyinde anlamlıdır. ^b: Çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni düzeltmesi

anestezi maddelerinin kalp atım sayıları üzerindeki etkileri bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık oluşmuştur (p<0.05). Karanfil yağı ile MS-222 ve Propofol arasında oluşan fark, MS-222 ile Propofol arasındakinden daha fazladır.

Tablo 3. *Daphnia magna* farklı dozlarda uygulanan karanfil yağı, MS-222 ve propofolün kalp ritmi değişkenliği üzerindeki temel etkiler

Etki	KO	sd	F	p value	η^2
Anestezik Madde	167496.28	2	4327.32	<0.001	0.982
Doz	144751.30	2	3739.70	<0.001	0.979
Anestezik Madde x Doz	22647.513	4	585.11	<0.001	0.936
Hata	38.71	160	-	-	-

p: Tekrarlı ölçümlerde ANOVA; $p < 0.05$

Kalp atımı üzerinde anestezik madde, doz ve bunların etkileşimlerinin (Tablo 3) temel etkilerinin istatistik anlamda önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Bağımlı değişkendeki varyansın ne kadarının belirli bir bağımsız

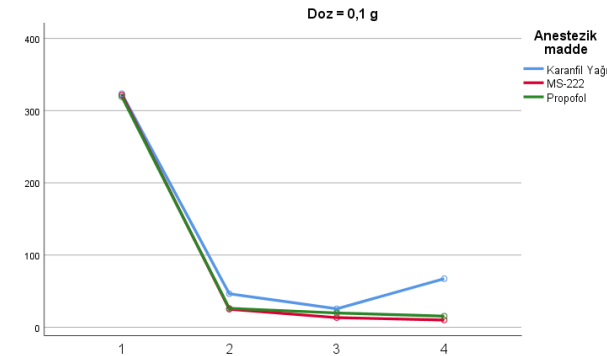
değişkenle açıklandığını gösteren değer olan eta kare (η^2) değerlerinin yüksek çıkması da dikkat çekicidir. Zaman, anestezik madde, doz ve bunların etkileşimleri (Tablo 4) istatistik olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$).

Tablo 4. *Daphnia magna* farklı dozlarda uygulanan karanfil yağı, MS-222 ve propofolün kalp ritmi değişkenliği üzerinde etkisi olan faktörler arasındaki etkileşimler

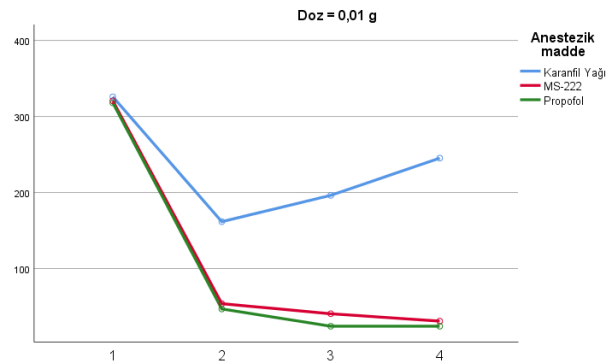
Etki	KO	sd	F	p	η^2	Mauchly's Test of Sphericity
Zaman	1756455.69	3	9427.58	<0.001	0.983	0.180
Zaman x Anestezik Madde	864432.66	6	463.92	<0.001	0.853	
Zaman x Doz	65057.68	6	349.19	<0.001	0.814	
ZamanxDozxAnestezik Madde	11979.29	12	64.30	<0.001	0.616	
Hata	186.31	480	-	-	-	

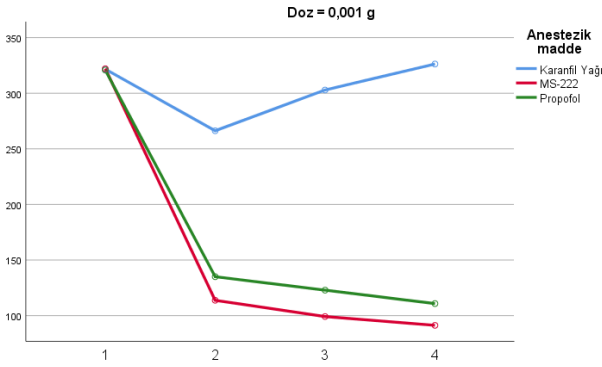
p: Tekrarlı ölçümlerde ANOVA; $p < 0.05$

Daphnia magna'da gözlenen kalp atım sayılarındaki zaman göre seyir profili farklı dozlarda değişkenlik göstermiştir (Şekil 2, 3, 4). Yüksek dozda anestezik madde etkilerinin benzer olduğu gözlenirken, düşük doza inildikçe Karanfil yağının belirgin şekilde MS-222 ve Propofol'den farklılaştığı tespit edilmiştir.

**Şekil 2.** Zamana bağlı kalp atım sayıları

Araştırmada ölüm oranı en fazla MS-222 grubunda en az ise Karanfil yağı grubunda gözlenmiştir (Şekil 5). Uygulanan farklı anestezik maddelerin oluşturduğu ölüm oranları ölçüm için belirlenen saatlerde ortamdan uzaklaştırılmıştır. Ölüm oranları bakımından gruplar arasında MS-222 grubunda en fazla, Karanfil yağı grubunda ise en az kayıp gözlenmiştir.

**Şekil 3.** Zamana bağlı kalp atım sayıları

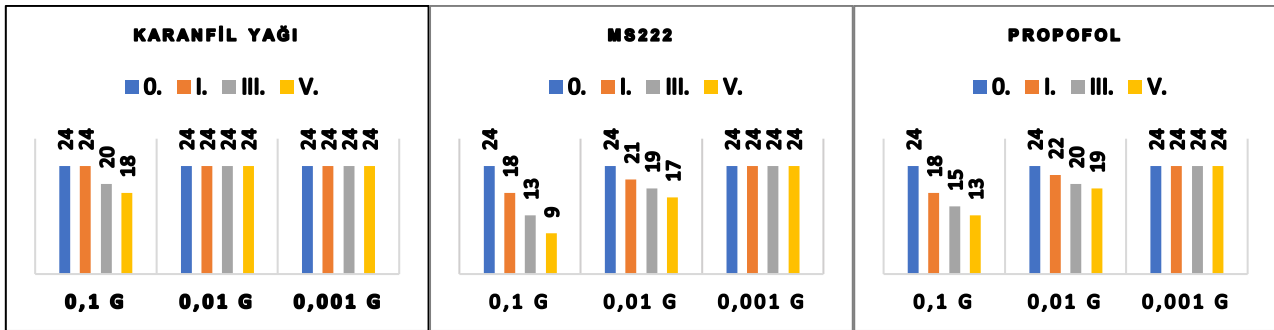


Şekil 4. Zamana bağlı kalp atım sayıları

TARTIŞMA

Daphnia'nın şeffaf olan kabuğu sayesinde basit bir ışık mikroskobu ile kalbi rahat görülebilmekte ve kalp atım sayısı

belirlenebilmektedir (Tkaczyk vd., 2021). Anestezik maddeler uygulanan dozlar bazında ve her ölçüm dönemi ayrı olarak ele alınarak karşılaştırıldığında (Tablo 1), araştırma başlangıcında benzer olan kalp atım sayılarının 0,1 ve 0,01 ml/L dozunda karanfil yağının MS-222 ve Propofol'den farklılaştığı; 0,001 ml/L dozunda ise tüm grupların farklı etkilerinin olduğu gözlenmiştir. Özellikle karanfil yağının zamana bağlı olarak etkisinin azalmasının yağda çözülerek aktif hale getirilmiş olması, araştırma süresi içinde suyun değiştirilmemiş olması, oksijen verilmemesi ve uçucu olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 5. Hayatta kalma oranları

Tekrarlı ölçümler dikkate alınarak yapılan analizlerde (Tablo 2, 3, 4), zamanın, uygulanan dozun ve uygulanan anestezik maddenin kalp atımı üzerinde ayrı ayrı ve interaksiyonları ile etkili olduklarını göstermiştir. Yani her bir anestezik maddenin diğerinden ayrı etkisi olduğu, uygulanan dozlara göre farklı sonuçların gözlemlendiği ve süreye bağlı olarak anestezik etkisinde farklılıklar oluştuğu tespit edilmiştir. Özellikle yüksek dozda etkinin daha fazla olması nedeniyle MS-222 ve Propofol gruplarında kalp atımında doğrusal bir azalış ortaya çıkması beklenen bir sonuç olmakla beraber karanfil yağının uzun süreli etki göstermesi için suyun belli aralıklarla yenilenmesi gerektiği söylenebilir.

Bownik (2015)'e göre balık anestezisinde kullanılan karanfil yağının daha düşük dozları *Daphnia magna* için kalp atım sayılarında düşüşe neden olabilmektedir.

Ölüm oranları bakımından gruplar arasında MS-222 grubunda en fazla, Karanfil yağı

grubunda ise en az kayıp gözlenmiştir. Félix vd. (2018) ifade ettiği üzere zebra balıkları embriyolarında yapılan çalışmada MS 222 anestezik maddenin 20 dakikalık kısa süreli etkisinde embriyoların mortalite oranında artış olduğunu vurgulamıştır. Aynı şekilde Jiang vd. (2023)'ne göre yaptıkları çalışmada intravenöz anesteziklerden olan propofolün sucul organizma olan zebra balıklarında potansiyel bir risk oluşturduğu görülmüştür. Doz esas alındığında 0.001 ml/L dozunda hiçbir grupta ölüm gözlenmemiş, 0.01 ml/L dozunda MS-222 ve Propofol gruplarında benzer sayıda ölüm gözlenirken, Karanfil yağı grubunda hiç ölüm görülmemiştir. 0.1 ml/L grubunda ise tüm gruplarda ölüm gözlenmiştir.

SONUÇ

Çalışmada kullanılan karanfil yağı, etanol ile 1:9 oranında seyreltilerek kullanılmıştır. Etanol, uçucu bir etkiye sahiptir. Çalışmanın 1-3 ve 5.

saatlerindeki etkisi etanolün buharlaşması ve suyun değiştirilmemesi, oksijen kapasitesinin arttırılmaması ile karanfil yağının canlı üzerindeki anestetik etkisinin azalmasına sebep olduğu düşünülmüştür. MS-222 ise denekler üzerinde güçlü bir anestetik özelliğe sahip olmuştur. Propofol, diğer maddelere kıyasla orta seviyede etki gösterdiği belirlenmiştir. Böylelikle sucul organizmalar için MS-222 ve propofolün kullanımı potansiyel bir risk oluşturabileceği, karanfil yağının ise gösterdiği etkinin diğer kimyasal anestetiklere göre daha az olduğu görülmüştür.

AÇIKLAMALAR

Çıkar çatışması: Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

- Bat, L., Satılmış, H. H., Şahin, F., Üstün, F., Özdemir, Z. B. & Ersanlı, E. (2008).** Plankton Bilgisi ve Kültürü p.172 Nobel Yayın Dağıtım Ltd.,Şti. Ankara, Türkiye
- Bownik, A. (2015).** Clove essential oil from *Eugenia caryophyllus* induces anesthesia, alters swimming performance, heart functioning and decreases survival rate during recovery of *Daphnia magna*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 15(1), 157-166. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v15_1_17
- Brown, L. A. (1993).** Fish Medicine p.79-90 W. B. Saunders Co., Philadelphia, PA, USA
- Coyle, S. D., Durborow R. M. & Tidwell, J. H. (2004).** Anesthetics in Aquaculture. p.6 SRAC Publication No. 3900, Texas
- Daniel, P. (2009).** Available chemotherapy in Mediterranean fish farming: use and needs. In: Options Méditerranéennes, The use of veterinary drugs and vaccines in Mediterranean aquaculture. C. Rogers and B. Basurco (Eds). Series A: Mediterranean Seminars, Zaragoza, CIHEAM / FAO, ISSN: 1016-121-X
- Ebert, D. (2005).** Ecology, Epidemiology, and Evolution of Parasitism in *Daphnia*. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=B ooks>
- EMA. (The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) (1999).** Committee for Veterinary Medicinal Products, Tricaine Mesilate, Summary Report. 1-4 April 1999, pp. 4 Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_Report/2009/11/W_C500015660.pdf (accessed on 27 April 2011)
- FDA. (2002).** Guidance for Industry, Status of Clove Oil and Eugenol for Anaesthesia of Fish, FDA Center for Veterinary Medicine June, 11, 2002.
- Félix, L. M., Luzio, A., Themudo, M., Antunes, L., Matos, M., Coimbra, A. M., & Valentim, A. M. (2018).** MS-222 short exposure induces developmental and behavioural alterations in zebrafish embryos. *Reproductive Toxicology*, 81, 122-131. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2018.07.086>
- Ferraz, C. A. P. (2021).** Ecotoxicity of plant extracts. https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/11490/1/8_478_18305.pdf
- Fleming, G. J., Heard, D. J., Floyd, R. F., Riggs, A. (2003).** Evaluation of propofol and medetomidine-ketamine for short-term immobilization of Gulf of Mexico sturgeon (*Acipenser oxyrinchus desotii*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 34:153–158
- Jiang, N., Li, X., Wang, Q., Baihetiyaer, B., Fan, X., Li, M. & Wang, J. (2023).** Ecological risk assessment of environmentally relevant concentrations of propofol on zebrafish (*Danio rerio*) at early life stage: Insight into physiological, biochemical, and molecular aspects. *Chemosphere*, 137846.
- Kanyılmaz, M., Sevgili, H., Erçen, Z. & Yılayaz, A. (2007).** Karanfil Yağının Balık Anesteziği Olarak Kullanımı, Akdeniz Su Ürünleri Araştırma, Üretim ve Eğitim Enstitüsü, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Türkiye
- Kay, B., Stephenson, D. K. (1980).** ICI 35868 (Diprivan): A new intravenous anesthetic. A comparison with althesin. *Anaesthesia*, 35, 1182–1187. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2044.1980.tb05075.x>
- Knotkova, Z., Pejrilova, S., Trnkova, S., Matouskova, O. & Knotek, Z. (2005).** Influence of reproductive season upon plasma biochemistry values in green iguanas. *Acta Veterinaria Brno*, 74, 515–520.
- Maricchiolo, G. & Genovese, L. (2011).** Some contributions to knowledge of stress response in innovative species with particular focus on the use of the anaesthetics. *The Open Marine Biology Journal* 5, 24–33.
- Miller, S. M., Mitchell, M. A., Heatley, J. J., Wolf, T., Lapuz, F. & Smith, J. A. (2005).** Clinical and cardiorespiratory effects of propofol in the spotted bamboo shark (*Chiloscyllium plagiosum*). *Journal of Zoo and Wildlife Animal Medicine* 36, 673–676. <https://doi.org/10.1638/04034.1>
- Ortuno, J., Esteban, M. A., & Meseguer, J. (2002).** Effects of four anaesthetics on the innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish & Shellfish Immunology* 12, 49–59. <https://doi.org/10.1006/fsim.2001.0353>

- Pongprayoon, U., Baekstrom, P., Jacobsson, U., Lindstrom, M. & Bohlin, L. (1991).** Compound Sinhibiting Prostaglandin Insynthes Isolated from Ipomoea pes-caprae. *Planta Medica*, 57, 515-518.
- Ross, L. G. & Ross, B. (1999).** Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals, 2nd edn. P. 159. Blackwell Science Ltd., Oxford.
- Roubach, R., Gomes, L. C., Fonseca, F. A. L. & Val, A. L. (2005).** Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). *Aquaculture Research* 36, 1056–1061. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01319.x>
- Tkaczyk, A., Bownik, A., Dudka, J., Kowal, K. & Slaska, B. (2021).** *Daphnia magna* model in the toxicity assessment of pharmaceuticals: Areview. *Science of The Total Environment*, 763, 143038. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143038>
- Treves-Brown, K. M. (2000).** Applied fish pharmacology. p.309 Kluwer Acad. Publishers, Dordrecht, London.
- Yang, B. H., Piao, Z. G., Kim, Y.B., Lee, C. H., Park, K. & Kim, J. S. (2003).** Activation of Vanilloid Receptor 1 (VR1) by eugenol. *Journal of Dental Research*, 82, 781-785. <https://doi.org/10.1177/154405910308201004>