



**FARKLI KONSANTRASYONLARDAKİ BENZOKAİNİN
SAZAN BALIĞININ (*CYPRINUS CARPIO* L., 1758)
BAZI KAN PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mahmut ÖZCAN

**Anabilim Dalı: Su Ürünleri Temel Bilimleri
Danışman: Doç. Dr. Asiye BAŞUSTA**

ARALIK-2017

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI KONSANTRASYONLARDAKİ BENZOKAİNİN SAZAN BALIĞININ
(*CYPRINUS CARPIO* L., 1758) BAZI KAN PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Biyolog Mahmut ÖZCAN
(092127102)

Anabilim Dalı: Su ürünleri Temel Bilimleri

Danışman: Doç. Dr. Asiye BAŞUSTA

ARALIK-2017

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI KONSANTRASYONLARDAKİ BENZOKAİNİN SAZAN BALIĞININ (*CYPRINUS
CARPIO* L., 1758) BAZI KAN PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mahmut ÖZCAN
(092127102)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 08.12.2017

Tezin Savunulduğu Tarih : 27.12.2017

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Asiye BAŞUSTA

Diğer Jüri Üyeleri: Prof. Dr. Metin ÇALTA

Yrd. Doç. Dr. Engin ŞEKER

ARALIK-2017

ÖNSÖZ

Öncelikle tez konusunu seçerken isteklerimi göz önünde bulundurup bana yardımcı olan tez danışmanım; Doç. Dr. Asiye BAŞUSTA ve tez verilerin değerlendirilmesinde Prof. Dr. Nuri BAŞUSTA, Yrd. Doç. Dr. Engin ŞEKER ve Yrd. Doç. Dr. Mikail ÖZCAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Kaynak aramak için yardım talep ettiğim, Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dekanlığına ve Dekanı Prof. Dr. Metin ÇALTA 'ya ve bu teze SÜF.17.02. No'lu proje ile destek veren Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimine, tüm eğitim – öğretim, hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen her zaman yanımda olan sevgili aile üyelerim, babam - annem ve kardeşime, sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilir, sevgi ve saygılarımı sunarım.

Mahmut ÖZCAN
ELAĞIĞ – 2017

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ŞEKİLLER LİSTESİ	IV
TABLolar LİSTESİ.....	V
ÖZET.....	VI
SUMMARY.....	VII
KISALTMALAR LİSTESİ	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL ve METOT	7
2.1. Materyal	7
2.2. Metot	7
2.2.1. Deney grupları	7
2.2.2. Kan Örneklerinin Hazırlanması	8
2.2.3. Eritrosit (RBC) Miktarının Belirlenmesi	8
2.2.4. Lökosit (WBC) Miktarının Belirlenmesi.....	8
2.2.5. Hemoglobin Miktarının Tayini	9
2.2.6. Hematokrit ve Lökosit Tayini.....	9
2.2.7. Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV)	9
2.2.8. Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MHC)	9
2.2.9. Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu (MCHC)	10
2.2.10. Fagositik Oran ve İndeks	10
2.2.11. Adherent Düzeyi (NBT Pozitif Hücre Aktivasyonu).....	11
2.2.12. İstatistiksel Analiz	11
3. BULGULAR	12

3.1 Benzokain Uygulanan Grupların Hematokrit Değerleri	12
3.2 Benzokain Uygulanan Grupların Lökosit Değerleri.....	13
3.3 Benzokain Uygulanan Grupların Eritrosit Değerleri	14
3.4. Benzokain Uygulanan Grupların Lökosit Değerleri	15
3.5. Benzokain Uygulanan Grupların Hemoglobin Değerleri	16
3.6. Benzokain Uygulanan Grupların Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV) Değerleri	17
3.7. Benzokain Uygulanan Grupların Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MCH) Değerleri	18
3.8. Benzokain Uygulanan Grupların Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu (MCHC) Değerleri.....	19
3.9. Benzokain Uygulanan Grupların Fagositik Oran ve İndeks Değerleri.....	20
3.10. Benzokain Uygulanan Grupların Adherent Düzeyi (NBT Pozitif Hücre Aktivasyonu) Değerleri	21
3.11. Benzokain Uygulanan Grupların Total Protein Değerleri	22
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	23
5. ÖNERİLER.....	27
KAYNAKLAR.....	28
ÖZGEÇMİŞ	36

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Benzokainin kimyasal formülü (URL-2)	3
Şekil 3.1. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların hematokrit ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.	12
Şekil 3.2. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların Lökosit değeri ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.	13
Şekil 3.3. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların Eritrosit ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.	14
Şekil 3.4. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların Lökosit ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.	15
Şekil 3.5. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların Hemoglobini ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.	16
Şekil 3.6. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV) ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.	17
Şekil 3.7. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MCH) ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.	18
Şekil 3.8. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu (MCHC) ile benzokain miktarı arasındaki ilişki. ..	19
Şekil 3.9. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların Fagositik Oran ve İndeks ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.	20
Şekil 3.10. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların Adherent Düzeyi (NBT Pozitif Hücre Aktivasyonu) ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.	21
Şekil 3.11. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan total protein ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.	22

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1.1 Benzokain, balık türlerine göre anestezi dozu, bayılma ve uyanma süresi (Ackerman vd., 2005; Neiffer ve Stamper 2009).	4
Tablo 3.1. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda ortalama hematokrit değerleri.	12
Tablo 3.2. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda ortalama Lökosit değerleri.	13
Tablo 3.3. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda ortalama Eritrosit değerleri.	14
Tablo 3.4. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda ortalama Lökosit değerleri.	15
Tablo 3.5. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda ortalama Hemoglobin değerleri.	16
Tablo 3.6. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV) değerleri.	17
Tablo 3.7. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MCH) değerleri.	18
Tablo 3.8. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu (MCHC) değerleri.	19
Tablo 3.9. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda Fagositik Oran ve İndeks değerleri.	20
Tablo 3.10. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda Adherent Düzeyi (NBT Pozitif Hücre Aktivasyonu) değerleri.	21
Tablo 3.11. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda total protein değerleri.	22

ÖZET

Gerek üretim ve yetiştirme kültür şartlarında, gerekse laboratuvar çalışmalarında, pek çok işlem için anestezi canlı balıklara elle müdahale ve balık nakilleri balıkçılık uygulamalarının oldukça önemli bir bölümünü teşkil etmektedir. Bu amaçla sazan balığına uygulanan Benzokain (ethyl aminobenzoate)'in letal olmayan (25, 50, 75, 100 mg/L) dozları seçilerek örneklerin kan ve serumunda meydana gelebilecek biyokimyasal değişimleri araştırıldı. Bu çalışmada ortalama 30 gr ağırlığında ve 4,9 cm boyunda Pullu sazan (*Cyprinus carpio*) kullanıldı. Araştırma 3 tekrarlı olarak uygulandı. Çalışma boyunca toplam 150 adet balık üzerinde çalışıldı. Benzokain'in 25 ve 50 mg/L dozlarda uygulandığı gruplarda kan Hematokrit ve Lökosit, Eritrosit ve Lökosit, Hemogloblin, Fagositik oran, Adherent düzeyi, MCV gibi kan parametrelerinde kontrol grubu ile fark gözlenmezken, 75 ve 100 mg/L dozlarda artış görülmüştür. Kontrol grubuna göre 25, 50, 75 ve 100 mg/L dozlardaki benzokain'in serum total protein değerinde herhangi bir değişim saptanmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Sazan Balığı, *Cyprinus carpio*, Benzokain, Kan Parametreleri

SUMMARY

The effect of Benzocaine in different concentrations on some blood parameters of Carp (*Cyprinus carpio* L., 1758)

Not only in growth and production conditions, but also in the laboratory, anesthesia is an important procedure required in many types of works including the times when an intervention with hands is needed and when the fish are prepared for shipping. Because of the fact that anesthesia with benzocaine is widely common, we wanted to investigate the biochemical changes in the blood and the serum of *Cyprinus carpio* L triggered by the application of un-lethal (25, 50, 75, 100 mg/L) doses of benzocaine (ethyl aminobenzoate). For this purpose, we picked the common carp (*Cyprinus carpio*) which were roughly in 30 g weight and 4,9 cm in length. All measurements were performed in triplicates. During the study, in total, 150 fish were examined. In the groups upon which 25 and 50 mg/L doses of benzocaine were applied, there was no difference in blood levels of Hematocrit, leukocytic, Erythrocyte, Leucocyte, Hemoglobin, Adherent, Phagocytic ratio, and MCV compared to the control group while in the doses of 75 and 100 mg/L an increase in all these parameters was observed. Additionally, there has been no change in serum protein levels when the fish were exposed to 25, 50, 75 ve 100 mg/L doses of benzocaine.

Key Words : Carp, *Cyprinus carpio*, Benzocaine, Blood Parameters

KISALTMALAR LİSTESİ

Benzokain	: Ethyl aminobenzoate
ETDA	: Etylendiamintetraacetic acid
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations
FDA	: Amerikan ulusal ilaç yönetimi
MCHC	: Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu
MCV	: Ortalama Eritrosit Hacmi
MHC	: Major histocompatibility antigen
MHC	: Ortalama Eritrosit Hemoglobini
MS-222	: Tricain-S
NBT	: Adherent düzeyi
RBC	: Eritrosit
WBC	: Lökosit

1. GİRİŞ

Su ürünleri yetiştiriciliği, dünya besin gereksiniminin önemli kısmını karşılayan bir endüstridir ve FAO tarafından dünyada en hızlı büyüyen gıda sektörü olarak belirtilmiştir (Francis vd., 2001). Dünya balıkçılık üretiminin yaklaşık % 30'unu su ürünleri yetiştiriciliği karşılamakta ve yılda % 10'dan fazla artarak büyümektedir (Anonymous, 2011).

Deniz ve iç sularda yer alan canlılar içinde insan gıdası olarak kullanılan en önemli kaynakların başında balıklar gelmektedir. Balıklar çok önemli protein kaynağı olmaları yanı sıra, avcılığı ve yetiştiriciliği ile de birçok insana geçim kaynağı olmakta ayrıca ülkeler arasında ticaretin gelişmesine de katkıda bulunmaktadır (Çiftçi ve Okumuş, 2002).

Sazan, ülkemizdeki tatlısu kaynaklarımızda en çok bulunan bir balık türüdür. Özellikle Eğirdir, Beyşehir, Uluabat, Manyas, Akşehir, İznik, Gölarmara gibi doğal göller ile sonradan balıklandırılan birçok baraj gölü ve göletlerimizde sazan balığı mevcuttur. Yapılan istatistiklere göre, yıllık tatlı su balık üretimimizin yaklaşık % 40'ını teşkil etmekte bu durum; ülkemizin su kaynaklarının, sazan türünün gelişim ve yayılımı açısından uygun yaşam ortamları içerdiğini gösterir (Emre, 2004).

Sazan balıklarının sırt yüzgeçleri bastan başlayarak kuyruk kısmına kadar uzanır. Sırt yüzgeçlerinde 3 veya 4 kalın ve sert kılçık vardır. Sayıları 17'den 22'ye kadar kadar değişen kılçıklar ise nispeten daha ince ve yumuşakçadır. Ağızları baslarının tam uç kısmında olup vücutlarına oranla ufaktır. Dudakları ince bir yapıdadır. Sazan balıkları yapı bakımından kendilerine özgü bir vücut yapısına sahiptirler. Ağız kenarlarında 4 adet etten bıyıkları vardır. Ön bıyıklar kısa ve ince, arka bıyıklar ise kalın ve uzuncadır. Renkleri çok değişik olabilen sazan balıkları bölgelere ve yerlere göre kırmızı, beyaz olabildikleri gibi esas renkleri yeşile yakın açık kahverengiye yakındır. Uzunlukları 80 cm'ye ve canlı ağırlıkları 15-20 kg'a kadar ulaşabilirler (Alpbaz, 1984). Kulakları ile hava keselerini birleştiren ve adına Weber cihazı denen bir küçük kemik zincirine sahiptir (Çelikkale, 2002).

Sazan dipten beslenen omnivor ılık su balığıdır. Besinlerini bentik su canlıları, planktonlar ve bitkisel artıklarla bitki parçaları oluşturur. Kültürü yapılan sazanlara

bitkisel orjinli yemler ve karma yemler verilir. Sazan zeminde bulunan küçük su canlılarını çamurla birlikte alır. Sonra çamuru geri atar, bu nedenle zeminde çamur içinde karakteristik oyuklar açtığı gözlenir (Atay, 1990).

Erkekler 3, dişiler 3–4 yaşlarında eşeyssel olgunluğa ulaşırlar. Yumurta bırakma zamanı, su sıcaklığına bağlı olarak Nisan-Haziran arasındadır. Yumurtalar zemini bitkilerle kaplı, oldukça sakin ve sığ ortamlara bırakılır. Yumurta bırakmak için ideal olan su sıcaklığı 17–22 °C arasındadır. Dişinin yaş ve büyüklüğüne bağlı olarak bir defada bırakılan yumurta sayısı 1.000.000–1.600.000 arasında değişir. Yumurta çapı 1-1.5 mg arasındadır (Polat ve Uğurlu, 2007). Yumurtalar hardal tohumu kadar ve kül rengindedir. Yavrular rotatoria, infusaria ve mikroorganizmalarla beslenirler (Demirsoy, 1993).

Anestezi, amaçlı olarak canlıya uygulanan işlemlerle canlıdaki duyu alımının, bilincin azaltılıp yok edilmesi, refleks tepkilerinin yavaşlatılıp durdurulması ile canlıya yapılacak müdahalenin kolaylaştırılması, canlının yapılacak müdahaleden acı duymaması, canlıdaki metabolizma hızının yavaşlatılmasının sağlanmasıdır (Arda vd., 2005).

Akuakültürde ve balıkçılık araştırmalarında anestezi maddelerinin kullanımının balıkların ağırlık ve uzunluk ölçümlerinde, aşılama, markalama, patolojik analizler, kan alma, cerrahi müdahale ve nakil gibi çeşitli işlemler boyunca fiziksel yaralanmayı ve stresi minimize etmek için gerekli olduğu düşünülmektedir (Hoskonen ve Pirhonen, 2006).

Anesteziklerin balıklar üzerindeki etkisini suyun sıcaklığı, pH, tuzluluk ve mineral madde içeriği gibi çeşitli faktörler etkilemektedir. Bununla birlikte balığın büyüklüğü, ağırlığı, cinsiyeti, cinsel olgunluğu ve kondisyon gibi etmenler de göz önünde tutulmalıdır (Gilderhus, 1989). Anestetiklerin seçiminde kullanılan balık türü ve sayısı, süresi, uygulanacak yöntem, suyun sıcaklığı ve kimyasal içeriği, kimyasal maddenin toksik etkisi ve fiyatı göz; önünde bulundurulması gereken konulardır (Barış, 2001).

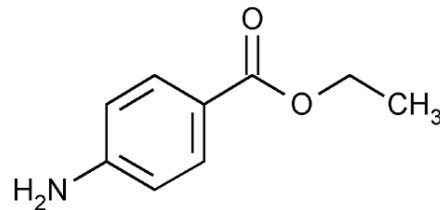
Balıklarda anestezi uygulamaları 1989 yıllarında yeni uygulanmaya başlanmıştır. Kültür balıkçılığın gelişmesiyle; gerek balıklar üzerindeki

manüplasyonları kolaylaştırmak, gerekse bölgeler ve ülkeler arası balık ve özellikle yavru balık naklinin artmasıyla birlikte balıklarda anestezi madde uygulanmaları yaygınlaşmıştır. Balık nakillerinde strese bağlı olarak büyük miktarda ölümler meydana gelebileceği gibi, balık nakillerinin işletmeye büyük maddi yük yüklemesi de balıkçılığı olumsuz yönde etkilemektedir. Balık nakillerinde ağırlığın büyük bir kısmını su oluşturur. Bu nedenle anestezi kullanmak suretiyle hem balıkları stresten kurtarmak, hem de suyun miktarını azaltarak ekonomik yükü en az düzeye indirilmesi sağlanır (Yüreklitürk, 1989).

Anesteziklerin su ürünleri sektöründe kullanımı anestezi maddelerin suya ilave edilmeleri suretiyle kullanılmaktadırlar. Bununla birlikte intraperitoneal, intramuskular, intravenöz enjeksiyonlar ve solungaçlara püskürtme gibi yöntemler de kullanılmaktadır (Serezli vd., 2005).

Su ürünleri sektöründe en çok kullanılan anestezikler; MS-222 (Tricain-S), benzocaine, kinaldin, 2-Fenoksietanol yağı, klorbütanol, metomidet, propanidit, etomidettir. Bunların yanı sıra ketamin, saffan, halaton, kloralhidrat, diazepam ve benzeri maddeler anestezi ve sedatif olarak kullanılmakta, fakat diğerlerine göre nispeten daha az kullanılmaktadır. Bunlar içinden sadece MS-222 FDA (Amerikan ulusal ilaç yönetimi) tarafından kullanılmasına yasal olarak izin verilen anesteziktir. Yeni Zelenda'da Aqui-S ismiyle yeni bir anestezi madde su ürünleri sektörüne girdiği ve kullanımının giderek yaygınlaştığı bilinmektedir (Lemm,1993; Kanyılmaz vd., 2007).

Etil Amino Benzoat, p-amino benzoik asit etil esteri, etil p-amino benzoat, 4-amino benzoik asit etil esteri'dir (Şekil 1.1). En yaygın kullanılan jenerik adı "benzokain" dir ve balık anesteziği olarak geniş ölçüde kullanılmaktadır (Gontijo vd., 2002; Coyle vd., 2004; Çetinkaya ve Şahin, 2005).



Şekil 1.1. Benzokainin kimyasal formülü (URL-2).

Kimyasal olarak trikaine benzer, moleköl ağırlığı 165.2 g olan beyaz kristalin bir tozdur. Suda çok az çözünür (0.4 g/L), aseton veya etanolde çözünür, buradan suya aktarılır. Benzokain hidroklor adında suda çözünebilen bir formu üretilmiştir (Çetinkaya ve Şahin, 2005).

Ilık su ve soğuk su balıkları için 25-100 mg/L konsantrasyonlar verilmektedir. İndüksiyon süresi geniş bir aralıkta değişim göstermekle birlikte bazen uzayabilir. Alabalıklarda 50 mg/L’de süre 3 dakikadan daha kısadır. Benzokainle anesteziye uyanma süresi; konsantrasyon, sıcaklık, balık türü ve büyüklüğüne bağlıdır. 100 mg/L’de anestezi edilen tropikal balıklarda uyanma süresi 120-150 dk iken; gökkuşağı alabalığında 8.5 dakikadır. Benzokain hidroklorür Salmonda 25-45 mg/L uygulandığında indüksiyon: 2-4 dk, uyanma: <10 dakikada gerçekleşmekte; çizgili levrekte 55-80 mg/L, sazanda 50- 100 mg/L, morinada 40 mg/L anestezi sağlamaktadır (Tablo 1.1). EC50 ve LC50 arası güven aralığı oldukça dardır (Iwama ve Ackerman 1993; Gontijo vd., 2002; Coyle vd., 2004).

Tablo 1.1. Benzokain, balık türlerine göre anestezi dozu, bayılma ve uyanma süresi (Ackerman vd., 2005; Neiffer ve Stamper 2009).

Balıklar	Anestezi dozu	Bayılma süresi	Uyanma süresi
Morina	40 mg/L	-	-
Salmonid	25-50 mg/L	3 dk	4.3-6.32 dk
levrek	55 – 85 mg/L	3 dk	< 10 dk
sazan	50 -100 mg/L	1.2 - 3.9 dk	3.1 - 2.2 dk
Tilapia	50 -100 mg/L	1.6 - 6.5 dk	2.9 -2.2 dk

Benzokain’in etkinliği üzerine su sıcaklığı etkilidir. Salmo trutta’da 7 °C’de anestezi indüksiyon süresi 12 °C’de 1.5 dk; turna balığında ise 3 dk. daha uzundur. Sertlik, alkalinite ve pH’nın ise benzokain üzerine etkisi yoktur. Benzokain trikaine

göre daha toksiktir. 17 °C’de 50 mg/L’ye 10 dk maruz bırakma Gökkuşığı alabalığında % 40, dere alabalığında % 90 ölüme yol açmaktadır. Salmon ve alabalıkta EC₅₀ ve LC₅₀ arasındaki güven aralığı 30-35 mg/L arasındadır (Çetinkaya ve Şahin, 2005). Etanol (%96) içinde 1000 mg/L’lik stok çözeltisi hazırlanır. Çalışma çözeltisinin koyu renkli bir şişede ışıktan uzak saklanması gerekir, bu çözeltinin ömrü bir yıl kadardır. Tavsiye edilen konsantrasyon bu çalışma çözeltisinden gerekli hacim alınıp 10 litre havalandırılmış suya ilave edilmesiyle elde edilir. Benzokain çözeltilerinin de trikainde olduğu gibi nötralize edilmeleri önerilmektedir (Coyle vd., 2004; Çetinkaya ve Şahin, 2005).

Benzokainin balıkçılıkta kullanımı tescil edilmemiş olup balıklarda MS-222’den daha etkin ve daha güvenli değildir. Balığı 5 dk içinde anestezi edebilen konsantrasyonlara 15 dk’dan daha uzun süre maruz bırakmak güvenli değildir, maruz bırakma süresi uzatılmamalıdır. 15 dk benzokainde tutulup sonra 24 temiz akarsuda tutulan balıklarda kaslardaki kalıntı kontrol seviyesinde veya daha altında belirlenmiştir (Çetinkaya ve Şahin, 2005).

Benzokain gibi lokal anestezikler enjeksiyonla uygulandığında, periferik sinir uçlarına olan iletimi bloke ederek etki ederler. Veterinerlik uygulamalarında oldukça yaygın olarak kullanılan benzokain, balıklarda da genel anesteziye oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu lokal anestezik koku duyusuna ait sinirleri ve yüzmede işlev gören organları geçici olarak bloke eder (Burka vd., 1997; Koç ve Sarıtaş, 2004).

Balık hematolojisi ile ilgili çalışmalar 1900 yılından sonra başlamıştır. Balık yetiştiriciliğinde hastalıkların belirlenmesi önemli bir konudur. Hastalık etmenlerinin etkilerini hematolojik bulgularla değerlendirilmesiyle erken tanısı yapılabilir. Bu nedenle balık hematolojisi, son yıllarda araştırmacıların üzerinde önemle durdukları bir konu olmuştur (Rimsh ve Adanova 1973; Lockhard ve Metner 1984).

Hematoloji, balık bilimi ile ilgili olarak balıkların fizyolojik durumlarının belirlenmesinde yararlanılan bir dilim dalıdır (Kayhan vd., 2009). Balıkların hematolojik parametreleri balık yetiştiriciliğinde balıkların fiziksel durumlarının belirlenmesinde, stres ve hastalıkların kontrolünde her geçen gün daha yaygın olarak kullanılan indikatörlerdir (Aldrin vd., 1982).

Balıklarda her türlü stres faktörleri, su kalitesindeki değişimler, kirlilik faktörleri, toksik maddeler, hastalıklar, beslenme yetersizliği gibi nedenler balığın direk fizyolojik durumunu etkilemektedir. Hematolojik parametreler balığın fizyolojik durumunu belirlemede iyi bir araçtır (Cengizler ve Sahan (Azizoglu), 2000).

Hematoloji, balığın kanındaki kan hücrelerini ve bunlarla ilgili kan parametrelerini incelemekte ve değerlendirmektedir. Hematoloji balık hastalıklarının tanısının yanı sıra, beslenme ve çevresel etmenlerin etkilerini de belirleyen bir bilim dalıdır. Hematokrit seviyesi balık sağlığında bir indikatör olarak kullanılmaktadır (Atamanalp vd., 2002).

Balıklardaki hematolojik değerler mevsime, çeşitli çevresel faktörlere, yetersiz beslenme, balık yoğunluğuna, türlere, yaş, uzunluk, ağırlık ve eşey gibi etkenlere bağlı olarak değişebilmektedir (Kocabatmaz ve Ekingen, 1984; Shakoori vd., 1994; Pagés vd., 1995; Al-Hassan vd., 1993; Bhagat ve Banerjee, 1986; Garcia vd., 1992; Joshi, 1989; Lowe-Jinde ve Niimi, 1983; Martinez vd., 1994; Murray, 1984; Sharma ve Joshi, 1986).

Kan ekstrasellüler sıvının (hücre dışı sıvısı) bir parçasıdır. Plazma adı verilen sıvı ortam içinde kan hücrelerinin (eritrosit, lökosit, trombosit) süspansiyon halinde dağıldığı, damar sisteminin içini dolduran ve kalbin pompa gücü sayesinde bu sistem içinde tüm vücudu dolayan bir dokudur. Kanın en önemli görevi organizmada normal şartların devamlılığını sağlamaktır. Çoğu memelilerde genellikle vücut ağırlığının %7-8'ini kan teşkil eder. Total kanın %45-65 plazma, %35-55 'ini ise kan hücreleri oluşturur. Balıklarda kanın hacmi diğer omurgalıların hacminden daha az olup 2-17 mL/100g arasında değişir. Eritrositler, toplam kan hacminin yaklaşık yarısına yakını oluşturur. Eritrositlerin ana görevi içerdiği hemoglobin sayesinde solungaçlardan dokulara oksijen ve dokulardan solungaçlara karbondioksit taşımalarıdır. Eritrositler suda erimiş oksijenin yaklaşık %99'unu taşımaktadırlar. Üstten görünüşleri yassı ve oval olup ender olarak ortası çukur bir disk andırır. Sarı kırmızı renktedirler ve çekirdek içerirler. Ortalama çapları türlere göre değişmekle beraber 7-36µ arasında olup 1mm³ kanda 20.000-3.000.000 arasında değişiklik gösterir. Trombositler, balıklarda çok az, lg biçiminde hücreler olup oval şekilde ve küçüktürler. Kanın pıhtılaşmasında rol oynarlar. Lökositler, oval benzeri veya elips şeklindeki kan hücreleridir. Büyüklükleri

10-33 μ arasında değişir. Bunların sayısı 1mm³ kanda 20.000-150.000 arasında değişmektedir. Savunma sisteminin bir parçası olan lökositler, farklı işlev ve yapıya sahip alt gruplara ayrılırlar. Bunlar nötrofiller, monositler, lenfositler, eozinofiller ve bazofillerdir (Başusta, 2005).

Bu  alışmada Benzokain (ethyl aminobenzoate) letal olmayan (25, 50, 75, 100 mg/L) dozları sazan balıklarında uygulanmasıyla kan ve serumunda meydana gelebilecek biyokimyasal değişimlerin saptanması amaçlanmıştır.



2. MATERİYAL ve METOT

2.1. Materyal

Bu çalışma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümünün balık hastalıkları laboratuvarında gerçekleştirildi. Araştırmada ortalama ağırlığı 29,92 g ve boyu 4,89 cm olan 150 adet pullu sazan (*Cyprinus carpio* L., 1758) kullanıldı. Balıklar Elazığ Devlet Su İşleri IX. Bölge Müdürlüğü Keban Su Ürünleri Şube Müdürlüğünden temin edildi ve Su Ürünleri Bölümü balık hastalıkları laboratuvarına canlı olarak oksijen tüpü monteli tankların bulunduğu bir kamyonetle getirildi. Tanklar çalışma öncesi dezenfekte edildi ve sonrasında içerisine su koyularak olası dezenfektan kalıntılarının temizlenmesi sağlandı. Temizlenen boş tanklara, su doldurularak hava motoruyla 24 saat boyunca oksijen verildi. Laboratuvar ortamında 250 L. lik fiberglas tanklar kullanılarak üç tekerrür olarak kontrol ve deney grupları oluşturularak çalışmada kullanılacak balıklar bırakıldı ve deneysel çalışmaya başlamadan önce balıkların hazırlanmış olan bu ortama adaptasyonları sağlandı. Araştırma süresince düzenli olarak, YSI profesyonel plus cihazı ile suyun Sıcaklık, Basınç, Oksijen Doygunluğu (%), İletkenlik, TDS (mg/L), Tuzluluk, pH gibi değerleri ölçüldü. Balıkların ortama adaptasyonu sağlanana kadar ticari bir alabalık yemi ile sabah ve akşam olmak üzere günde iki kere beslendi. Benzokain, Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi balık hastalıkları laboratuvarında temin edildi ve Mattson ve Ripley (1989) tarafından belirtilen yöntem uygulandı.

2.2. Metot

2.2.1. Deney grupları

Çalışma 4 farklı derişim ve kontrol grubu olmak üzere 5 grup üzerinde yürütülecektir. Araştırma 3 tekrarlı olarak uygulandı. Her bir doz için 10 balık kesilecek, üç tekrarlı olduğundan her bir doz için 30 balık kullanıldı. Çalışma boyunca toplam 150 adet balık üzerinde çalışıldı. Benzocain anestezi maddesinin 4 farklı derişimde için 4 tank ve birde kontrol grubu olmak üzere toplam 5 tank kullanılacaktır. Adaptasyonu sağlanan balıklar 0 (kontrol), 25, 50, 75, 100 mg/L Benzokain derişimi

içeren tanklara ayrı ayrı bırakılacaktır. Tanklarda hareketsiz hale gelen balıklar kepçe yardımıyla alınacak ve kurutma kâğıdıyla kurulandı.

2.2.2. Kan Örneklerinin Hazırlanması

Kurulama işleminden sonra bir büstirü ile kavdal yüzgeç kesildi. Dorsal aorttadan akacak kan bir kısmı içinde herhangi bir antikogulant bulunmayan deney tüpüne ve diğer kısmı ise içerisinde ETDA (Etylendiamintetraacetic acid) bulunan kan tüplerine ayrı, ayrı alındı. Tüplerin içindeki kanlar +4 derecede buzdolabında gerekli parametreler belirleninceye kadar (48 saat sürece) saklandı. Bu şekilde elde edilen plazmanın; hematokrit, lökokrit, eritrosit, lökosit, hemoglobin, fagositik oran ve indeks, adherent düzeyi (NBT pozitif hücre aktivasyonu), protein düzeyi, toplam immunoglobulin, ortalama eritrosit hacmi, ortalama eritrosit hemoglobini, ortalama eritrosit hemoglobini konsantrasyonu seviyelerine bakıldı.

2.2.3. Eritrosit (RBC) Miktarının Belirlenmesi

Eritrosit hücrelerinin belirlenmesi için, EDTA'lı tüpe alınan kandan, eritrosit pipetinin 0,5 çizgisine kadar çekilip, üzerine sulandırma amacı ile 101 çizgisine kadar Natt-Herrick solüsyonu ilave edildi. Daha sonra pipet içinde karışan kan ve solüsyon, hücre sayımı için Thoma lamına alınarak, ışık mikroskobunun $\times 40$ büyütmesinde incelendi. Eritrosit hücrelerinin sayımı sırasında thoma lamında bir görüş alanındaki karelerden sol ve sağ üst köşe, sol ve sağ alt köşeler ile ortadan 16'lık küçük bir kare olmak üzere 5 alan sayılıp, 1mm^3 kandaki eritrosit sayısı belirlendi ve ($\times 10^6/\text{mm}^3$) olarak ifade edildi. Buna göre toplam 80 küçük karede sayılan hücre miktarı belirlendi (Konuk, 1981; Hoffmann ve Lommel, 1984; Kocabatmaz ve Ekingen, 1984; İmren ve Turan, 1985; Siwicki ve Anderson, 1993).

2.2.4. Lökosit (WBC) Miktarının Belirlenmesi

Lökosit hücrelerinin belirlenmesi için, EDTA'lı tüpe alınan kandan, lökosit pipetinin 1 çizgisine kadar çekilen kan üzerine 101 çizgisine kadar Natt-Herrick solüsyonu çekilip, karıştırıldı. Thoma lamındaki 16 büyük kare üzerine düşen (toplam 256 küçük kare) lökositlerin tamamı sayılıp ve ($\times 10^3 \text{ mm}^3$) olarak ifade edildi. Elde

edilen toplam lökosit miktarları formülize edilerek 1mm^3 kandaki toplam lökosit miktarları saptandı (Konuk, 1981; Hoffmann ve Lommel, 1984; Kocabatmaz ve Ekingen, 1984; İmren ve Turan, 1985; Siwicki vd., 1994).

2.2.5. Hemoglobin Miktarinin Tayini

Çalışmada Cyanmethemoglobin metodu kullanıldı. Buna göre 0,02 ml kan örneği 5 ml drabkin solüsyonuyla karıştırıldı ve yavaş hareketlerle alt üst edildi. Homojen bir karışım sağlandı. Hemoglobinin Cyanmethemoglobine tam olarak dönüşmesi için 10 dk. beklendi, daha sonra dipteki çökelti bir kürdanla çıkarılarak atıldı. Spektrofotometrede 540 nm’de transmittans (%T) değeri ölçülerek elde edilen değere karşılık gelen hemoglobin miktarı standart tablodan bakılarak tespit edildi ve $\text{g}/100\text{ cm}^3$ olarak yazıldı (White vd., 1976; Çiltaş 2000; Nazıroğlu, 2001; Girgin ve Şen, 2003).

2.2.6. Hematokrit ve Lökosit Tayini

Hematokrit tayini için mikrohematokrit yöntem kullanıldı. Hematokrit tayininde kanın pıhtılaşması istenmediğinden heparinli kılcal pipetlere (mikrohematokrit pipetler) $\frac{3}{4}$ ‘üne kadar kan doldurarak, diğer ucu cam macunıyla kapatıldı. Her balık örneği için 4 adet hematokrit pipet hazırlandı. Hazırlanan pipetler 11.000 rpm hızda 5 dakika çevrildi. Santrifüjden sonra hematokrit ve lökosit miktarı hematokrit cetvel üzerine konularak okundu ve yüzdeleri hesaplandı (Konuk, 1981; Siwicki ve Anderson, 1993; Başusta, 2005).

2.2.7. Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV)

Eritrosit indeksleri olan MCV (Ortalama alyuvar hacmi), eritrosit, hematokrit ve hemoglobin değeri bulunduğundan sonra hesap edildi. MCV, eritrositlerin ortalama hacimlerini gösterir. Anemi sınıflandırılmasında önem taşır. MCV değeri aşağıdaki formül ile hesap edildi (Konuk, 1981; İmren ve Turan, 1985; Dörücü ve Girgin, 2001).

$$\text{MCV } (\mu\text{m}^3) = \text{Hct } (\%) \times 10 / \text{RBC } (10^6 / \text{mm}^3)$$

$$\text{MCV: Eritrositlerin Ortalama Hacmi } (\mu\text{m}^3)$$

$$\text{Hct: Hematokrit Değeri } (\%)$$

RBC: Eritrosit Sayısı ($10^6/\text{mm}^3$)

2.2.8. Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MCH)

MCH (Ortalama eritrosit hemoglobini) değerleri; eritrosit, hematokrit ve hemoglobin değeri bulunduktan sonra hesap edildi. MCH, Kırmızı kan hücrelerinde bulunan ortalama hemoglobin miktarını vermektedir. MCH değeri aşağıdaki formül ile hesaplandı (Konuk, 1981; İmren ve Turan, 1985; Altun, 1996; Dörücü ve Girgin, 2001).

$$\text{MCH (g / hücre)} = \text{Hb(g/100 ml)} \times 10 / \text{RBC}(10 / \text{mm}^3)$$

MCH: Eritrositlerde bulunan ortalama hemoglobin ($\mu\text{g/hücre}$)

Hb: Hemoglobin Miktarı (g/100 ml)

RBC: Eritrosit Sayısı ($10^6/\text{mm}^3$)

MCHC (pg)=Hemoglobin x 10 / mm^3 'deki eritrosit sayısı

2.2.9. Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu (MCHC)

MCHC (Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu) değeri; eritrosit, hematokrit ve hemoglobin değerleri bulunduktan sonra hesap edildi. MCHC, ortalama eritrosit hemoglobin yoğunluğunu vermektedir. MCHC değeri aşağıdaki formül ile hesaplandı (Konuk, 1981; İmren ve Turan, 1985; Altun, 1996; Dörücü ve Girgin, 2001).

$$\text{MCHC (g / 100 ml)} = \text{Hb (g / 100 ml)} \times 100 / \text{Hct (\%)}$$

MCHC: Eritrosit Başına Düşen Ortalama Hemoglobin Konsantrasyonu (g/100 ml)

Hb: Hemoglobin Miktarı (g/100 ml)

Hct: Hematokrit Değeri (%)

2.2.10. Fagositik Oran ve İndeks

Deneme grubu balıklar ile kontrol grubu balıkların fagositik oran ve indekslerini belirleyebilmek için Anderson ve Jeney (1992)'in bildirdiği metot uygulandı. Buna göre; koyun kırmızı kan hücresi(SRBC) %3'lük gluteraldehit ile 17 saat fikse edilip kullanıma kadar $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı. Kan örnekleri mikrotiter tabaklara bırakıldı ve üzerine fikse edilmiş SRBC'nin %0.8 süspansiyonundan 1 ml ilave

edildikten sonra 30 dakika inkübe edildi. Her örnek için bir damla alınıp lam üzerinde preparatı hazırlandı ve kurutuldu. Daha sonra preparat Wright's boyası ile iki dakika boyanacak ve distile su ile yıkandı. Fagositik oran ve indeksin belirlenebilmesi için 400 büyütme mikroskopta 100 lökosit sayıldı ve SRBC yutan hücreler belirlendi.

Fagositik oran, sayılan 100 lökositte SRBC yutan hücrelerin sayısı, indeks ise SRBC yutan hücrelerin lökosit oranı olarak hesaplandı.

2.2.11. Adherent Düzeyi (NBT Pozitif Hücre Aktivasyonu)

Deneme grubu ile kontrol grubu balıkların kanlarından 50'şer mikron alınarak lamellerin üzerine damlatıldı. Bu lameller ıslatılmış bir kâğıt havlu ile nemlendirilen petri kutusuna yerleştirildi ve laboratuvar şartlarında 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Lameller Fosfat Buffer Tuzu ile yıkanıp kurutuldu. Bir lam üstüne 50 mikron %0.2 NBT solüsyonu hazırlanmış lameller bu solüsyona ters olarak kapatıldı ve oda ısısında 20-30 dakika beklendikten sonra 400 büyütme mikroskopta yapışan hücreler sayıldı (Anderson vd., 1992; Siwicki ve Anderson, 1993).

2.2.12. İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 18.0 (SPSS Inc.) paket programı kullanılarak, MANOVA tek yönlü varyans analizi, Homogeneous Subsets testi uygulandı. Grafiklerin oluşturulmasında Excel 2007 programından yararlanıldı.

3. BULGULAR

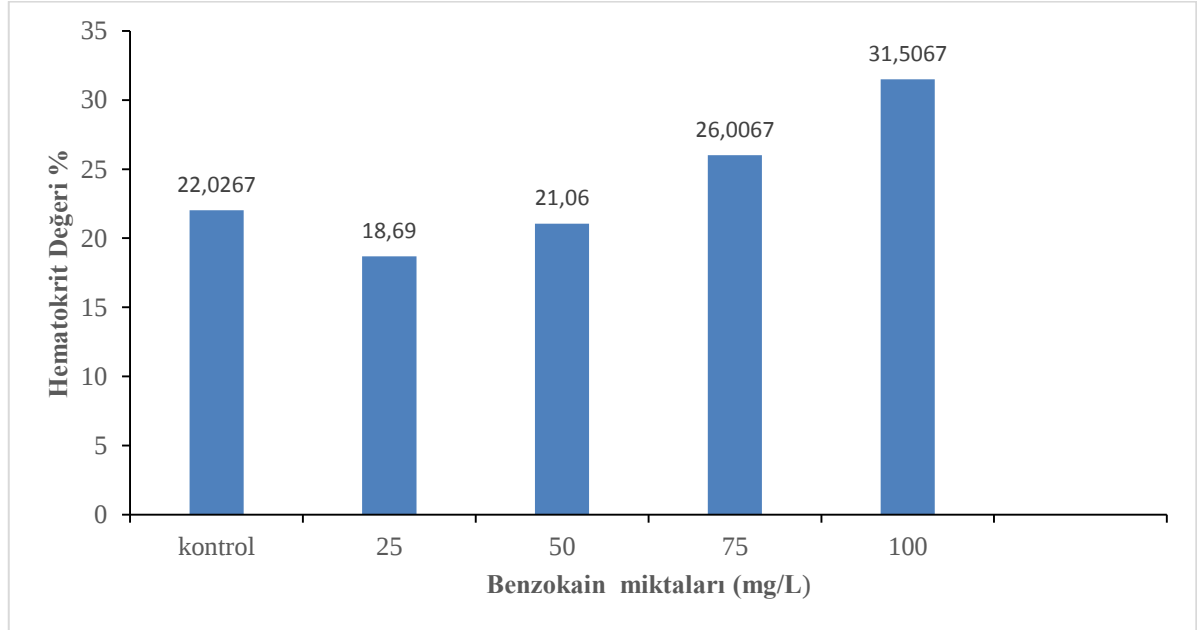
3.1 Benzokain Uygulanan Grupların Hematokrit Değerleri

Benzokain (ethyl aminobenzoate)'in letal olmayan 0 (kontrol), 25, 50, 75, 100 mg/L dozları uygulanan balıkların hematokrit seviyelerinde aşağıdaki ortalama değerler ve benzokain miktarları arası ayırım tespit edildi (Tablo 3.1; Şekil 3.1.).

Tablo 3.1. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda ortalama hematokrit değerleri.

Benzokain (mg/L)	Hematokrit Değerleri (%) X±SH
0 (kontrol)	22,0267±1,01510 ^c
25	18,6900±1,02679 ^{d,c}
50	21,0600±0,96504 ^c
75	26,0067±0,77835 ^b
100	31,5067±0,51936 ^a

X±SH: Aritmetik ortalama; ±: Standart hata



Şekil 3.1. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların hematokrit ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.

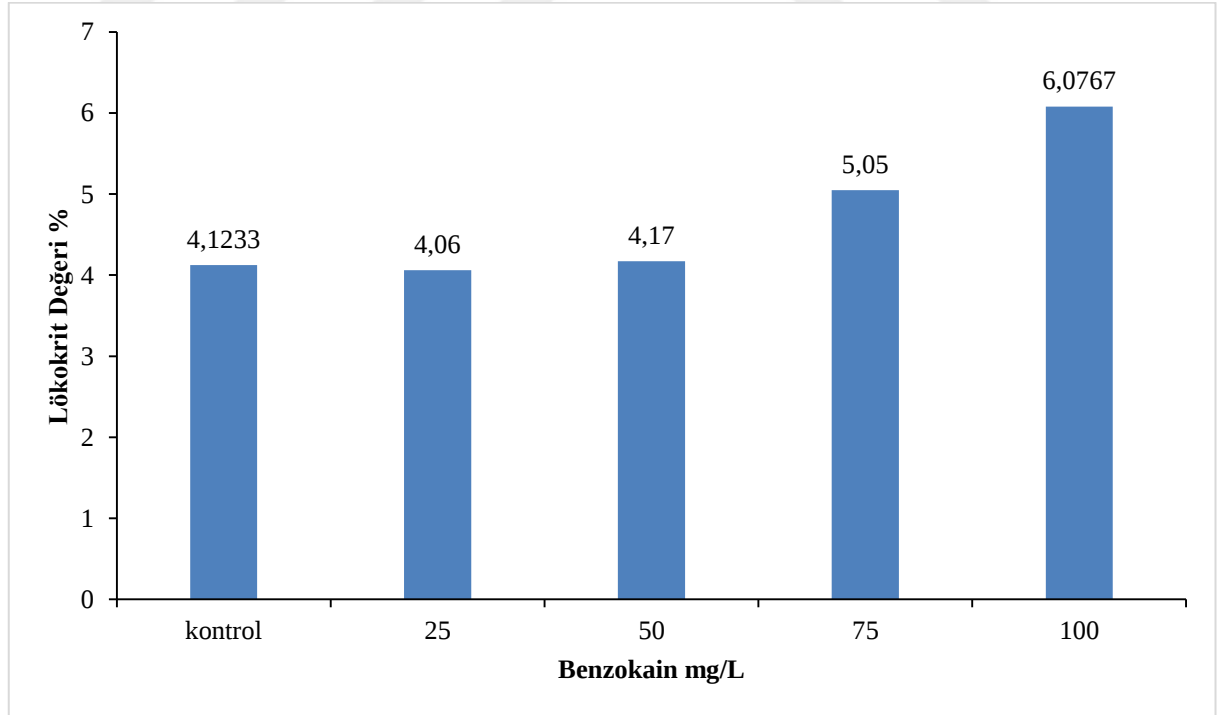
3.2 Benzokain Uygulanan Grupların Lökosit Değerleri

Benzokain (ethyl aminobenzoate)'in letal olmayan 0 (kontrol), 25, 50, 75, 100 mg/L dozları uygulanan balıkların Lökosit seviyelerinde aşağıdaki ortalama değerler ve benzokain miktarları arasındaki ayırım tespit edildi (Tablo 3.2; Şekil 3.2.).

Tablo 3.2. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda ortalama Lökosit değerleri.

Benzokain (mg/L)	Lökosit Değerleri (%) X±SH
0 (kontrol)	4,1233±0,05132 ^c
25	4,0600±0,05568 ^c
50	4,1700±0,08544 ^c
75	5,0500±0,04000 ^b
100	6,0767±0,03055 ^a

X±SH: Aritmetik ortalama; ±: Standart hata



Şekil 3.2. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların Lökosit değeri ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.

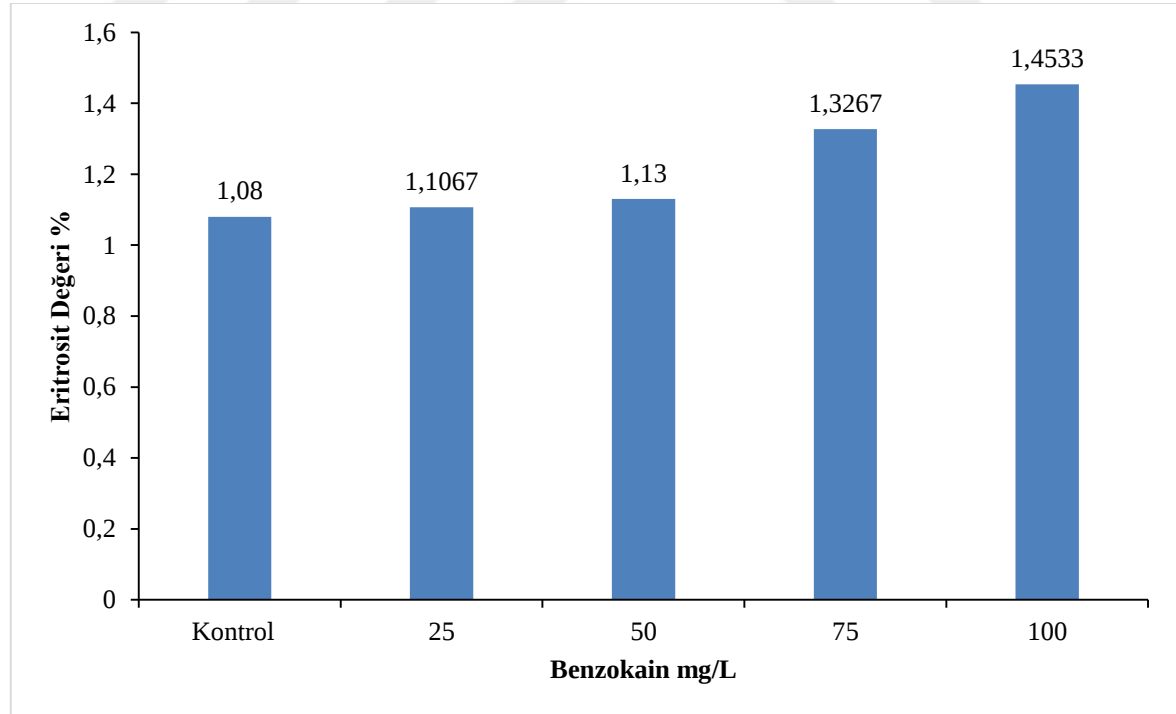
3.3 Benzokain Uygulanan Grupların Eritrosit Değerleri

Benzokain (ethyl aminobenzoate)'in letal olmayan 0 (kontrol), 25, 50, 75, 100 mg/L dozları uygulanan balıkların Eritrosit seviyelerinde aşağıdaki değerler tespit edildi (Tablo 3.3; Şekil 3.3.).

Tablo 3.3. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda ortalama Eritrosit değerleri.

Benzokain (mg/L)	Eritrosit Değerleri (%) X±SH
0 (kontrol)	1,0800±0,3606 ^c
25	1,1067±0,1528 ^c
50	1,1300±0,2000 ^c
75	1,3267±0,1528 ^b
100	1,4533±0,3512 ^a

X±SH: Aritmetik ortalama; ±: Standart hata



Şekil 3.3. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların Eritrosit ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.

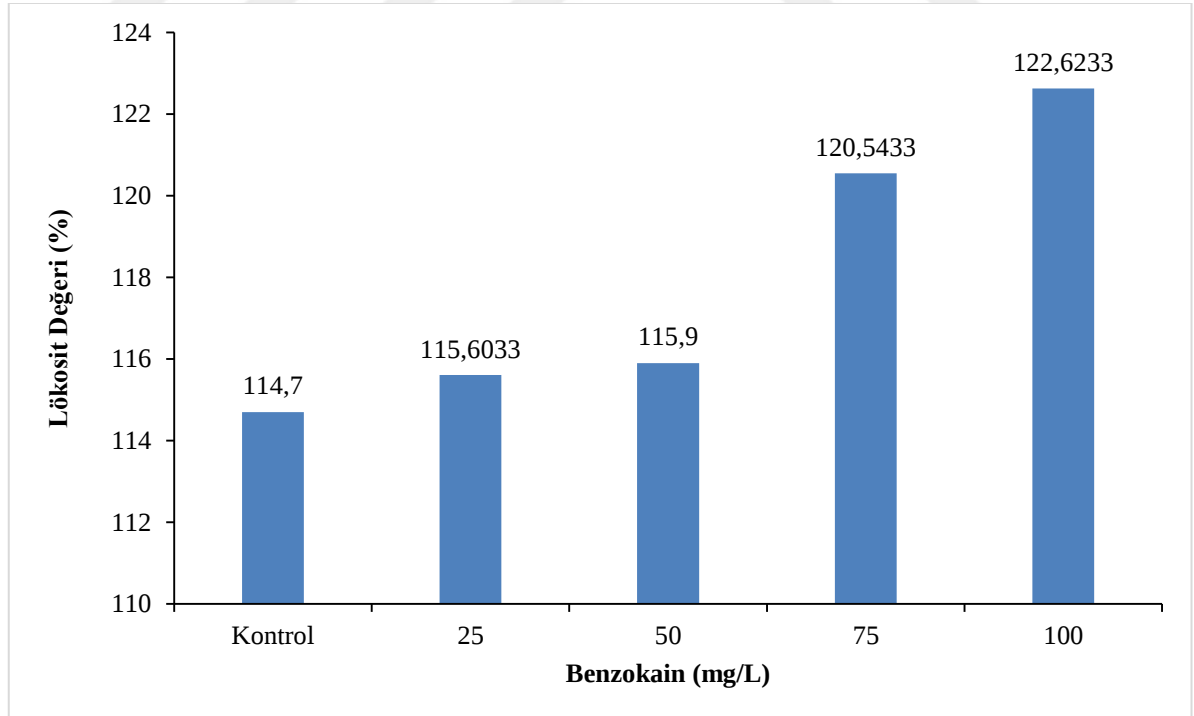
3.4. Benzokain Uygulanan Grupların Lökosit Değerleri

Benzokain (ethyl aminobenzoate)'in letal olmayan 0 (kontrol), 25, 50, 75, 100 mg/L dozları uygulanan balıkların Lökosit seviyelerinde aşağıdaki değerler tespit edildi (Tablo 3.4; Şekil 3.4.).

Tablo 3.4. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda ortalama Lökosit değerleri.

Benzokain (mg/L)	Lökosit Değerleri (%) X±SH
0 (kontrol)	114,7000±1,71555 ^b
25	115,6033±2,8184 ^b
50	115,9000±0,5000 ^b
75	120,5433±0,4933 ^a
100	122,6233±1,0017 ^a

X±SH: Aritmetik ortalama; ±: Standart hata



Şekil 3.4. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların Lökosit ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.

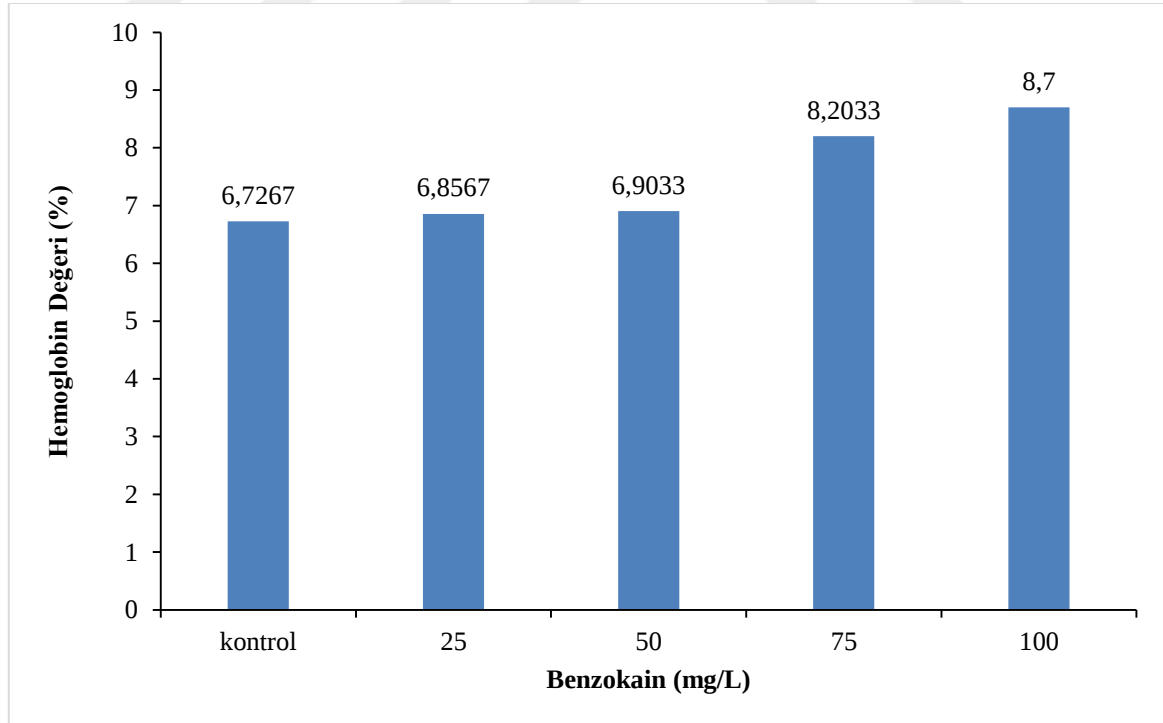
3.5. Benzokain Uygulanan Grupların Hemoglobin Değerleri

Benzokain (ethyl aminobenzoate)'in letal olmayan 0 (kontrol), 25, 50, 75, 100 mg/L dozları uygulanan balıkların Hemoglobin seviyelerinde aşağıdaki değerler tespit edildi (Tablo 3.5; Şekil 3.5.).

Tablo 3.5. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda ortalama Hemoglobin değerleri.

Benzokain (mg/L)	Hemoglobin Değerleri (%) X±SH
0 (kontrol)	6,7267±0,07638 ^c
25	6,8567±0,10017 ^c
50	6,9033±0,04041 ^c
75	8,2033±0,06028 ^b
100	8,7000±0,04583 ^a

X±SH: Aritmetik ortalama; ±: Standart hata



Şekil 3.5. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların Hemoglobin ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.

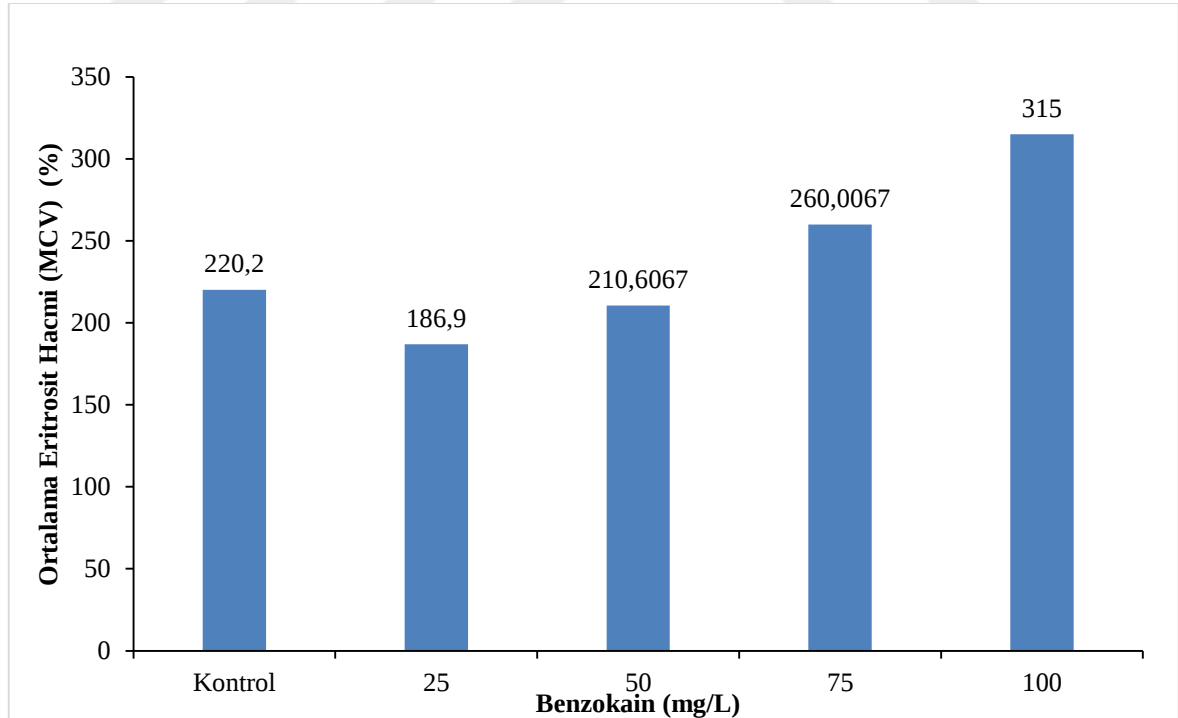
3.6. Benzokain Uygulanan Grupların Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV) Değerleri

Benzokain (ethyl aminobenzoate)'in letal olmayan 0 (kontrol), 25, 50, 75, 100 mg/L dozları uygulanan balıkların Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV) seviyelerinde aşağıdaki değerler tespit edildi (Tablo 3.6; Şekil 3.6.).

Tablo 3.6. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV) değerleri.

Benzokain (mg/L)	Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV) (%) X±SH
0 (kontrol)	220,2000±0,36056 ^c
25	186,9000±0,07550 ^e
50	210,6067±0,02517 ^d
75	260,0067±0,37541 ^b
100	315,0000±0,11358 ^a

X±SH: Aritmetik ortalama; ±: Standart hata



Şekil 3.6. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV) ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.

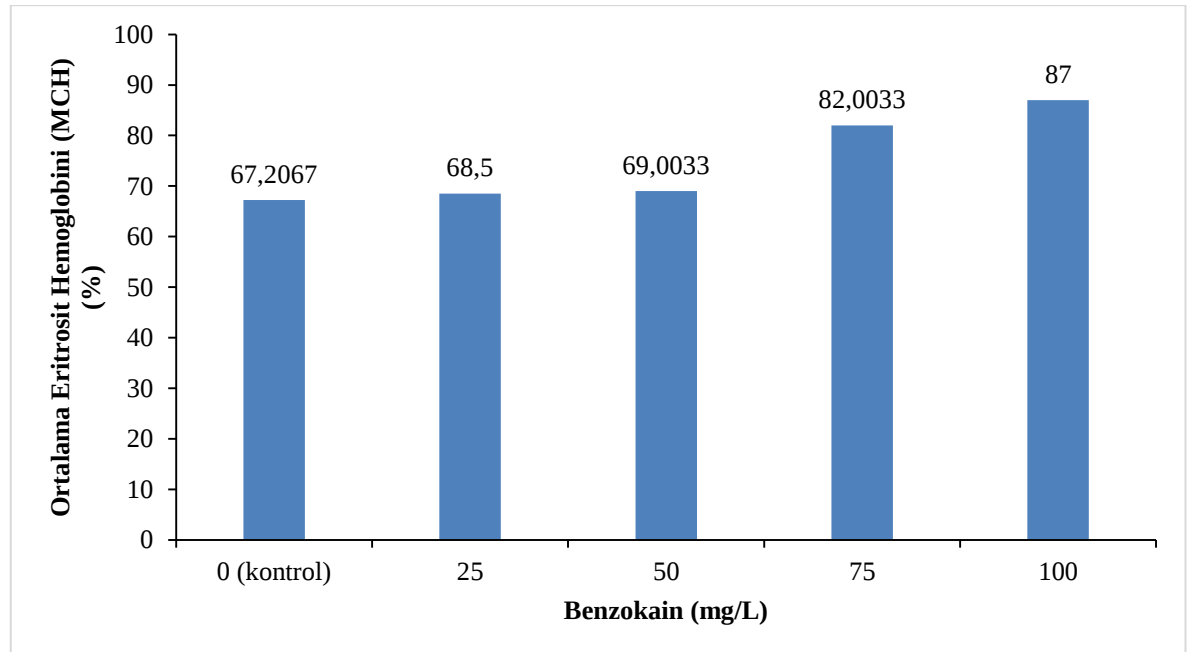
3.7. Benzokain Uygulanan Grupların Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MCH) Değerleri

Benzokain (ethyl aminobenzoate)'in letal olmayan 0 (kontrol), 25, 50, 75, 100 mg/L dozları uygulanan balıkların Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MCH) seviyelerinde aşağıdaki değerler tespit edildi (Tablo 3.7; Şekil 3.7.).

Tablo 3.7. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MCH) değerleri.

Benzokain (mg/L)	Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MCH) (%) X±SH
0 (kontrol)	67,2067±0,03055 ^d
25	68,5000±0,57297 ^c
50	69,0033±0,12741 ^c
75	82,0033±0,10786 ^b
100	87,0000±0,12288 ^a

X±SH: Aritmetik ortalama; ±: Standart hata



Şekil 3.7. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MCH) ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.

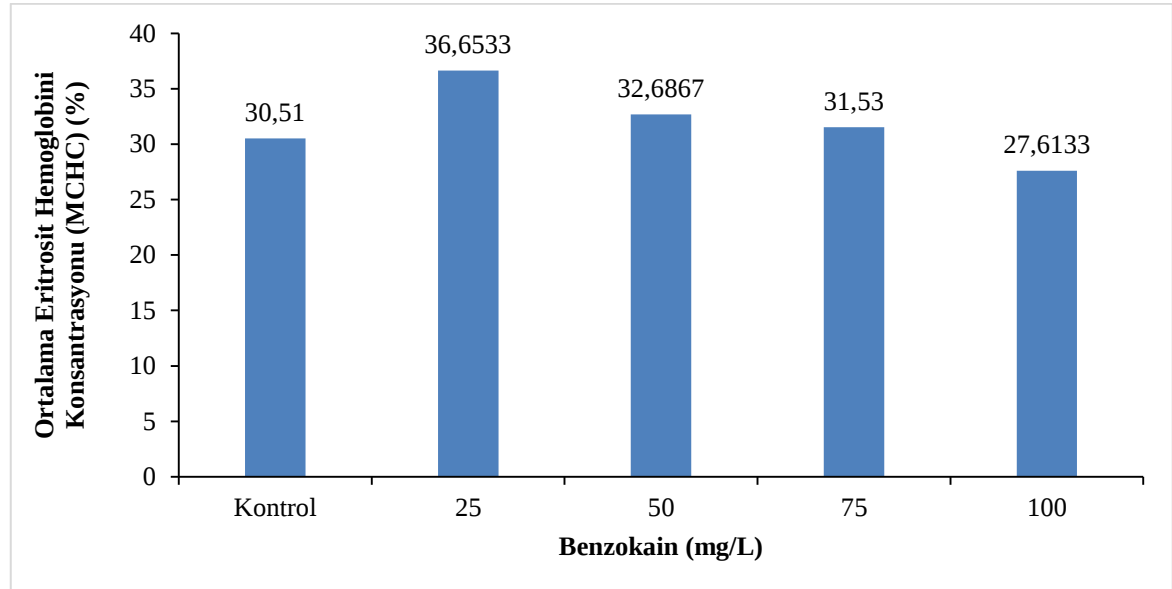
3.8. Benzokain Uygulanan Grupların Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu (MCHC) Değerleri

Benzokain (ethyl aminobenzoate)'in letal olmayan 0 (kontrol), 25, 50, 75, 100 mg/L dozları uygulanan balıkların Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu (MCHC) seviyelerinde aşağıdaki değerler tespit edildi (Tablo 3.8; Şekil 3.8.).

Tablo 3.8. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu (MCHC) değerleri.

Benzokain (mg/L)	Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu (MCHC) (%) X±SH
0 (kontrol)	30,5100±0,7810 ^d
25	36,6533±1,1240 ^c
50	32,6867±1,9655 ^b
75	31,5300±1,4177 ^a
100	27,6133±1,2662 ^e

X±SH: Aritmetik ortalama; ±: Standart hata



Şekil 3.8. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu (MCHC) ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.

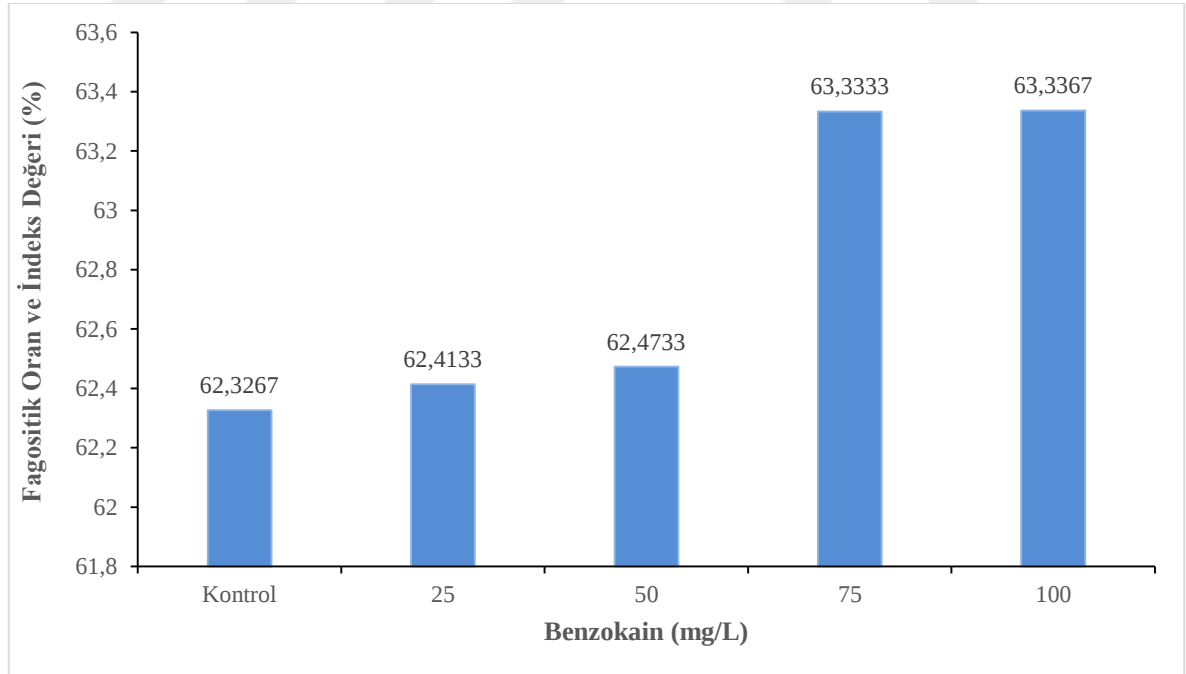
3.9. Benzokain Uygulanan Grupların Fagositik Oran ve İndeks Değerleri

Benzokain (ethyl aminobenzoate)'in letal olmayan 0 (kontrol), 25, 50, 75, 100 mg/L dozları uygulanan balıkların Fagositik Oran ve İndeks Değerleri seviyelerinde aşağıdaki değerler tespit edildi (Tablo 3.9; Şekil 3.9.).

Tablo 3.9. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda Fagositik Oran ve İndeks değerleri.

Benzokain (mg/L)	Fagositik Oran ve İndeks Değerleri (%) X±SH
0 (kontrol)	62,3267±0,4163 ^c
25	62,4133±0,5859 ^{cb}
50	62,4733±0,4933 ^b
75	63,3333±0,4509 ^a
100	63,3367±0,6658 ^a

X±SH: Aritmetik ortalama; ±: Standart hata



Şekil 3.9. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların Fagositik Oran ve İndeks ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.

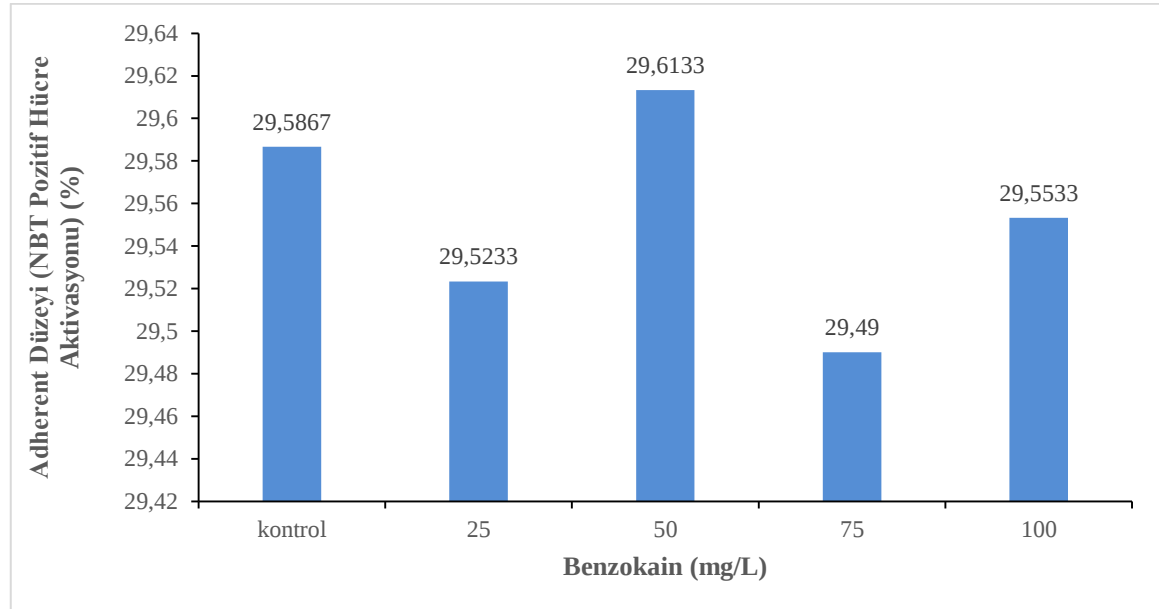
3.10. Benzokain Uygulanan Grupların Adherent Düzeyi (NBT Pozitif Hücre Aktivasyonu) Değerleri

Benzokain (ethyl aminobenzoate)'in letal olmayan 0 (kontrol), 25, 50, 75, 100 mg/L dozları uygulanan balıkların Adherent Düzeyi (NBT Pozitif Hücre Aktivasyonu) seviyelerinde aşağıdaki değerler tespit edildi (Tablo 3.10; Şekil 3.10.).

Tablo 3.10. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda Adherent Düzeyi (NBT Pozitif Hücre Aktivasyonu) değerleri.

Benzokain (mg/L)	Adherent Düzeyi (NBT Pozitif Hücre Aktivasyonu) (%) X±SH
0 (kontrol)	29,5867±0,8145 ^a
25	29,5233±0,4041 ^a
50	29,6133±0,2082 ^a
75	29,4900±0,5568 ^a
100	29,5533±0,2517 ^a

X±SH: Aritmetik ortalama; ±: Standart hata



Şekil 3.10. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan balıkların Adherent Düzeyi (NBT Pozitif Hücre Aktivasyonu) ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.

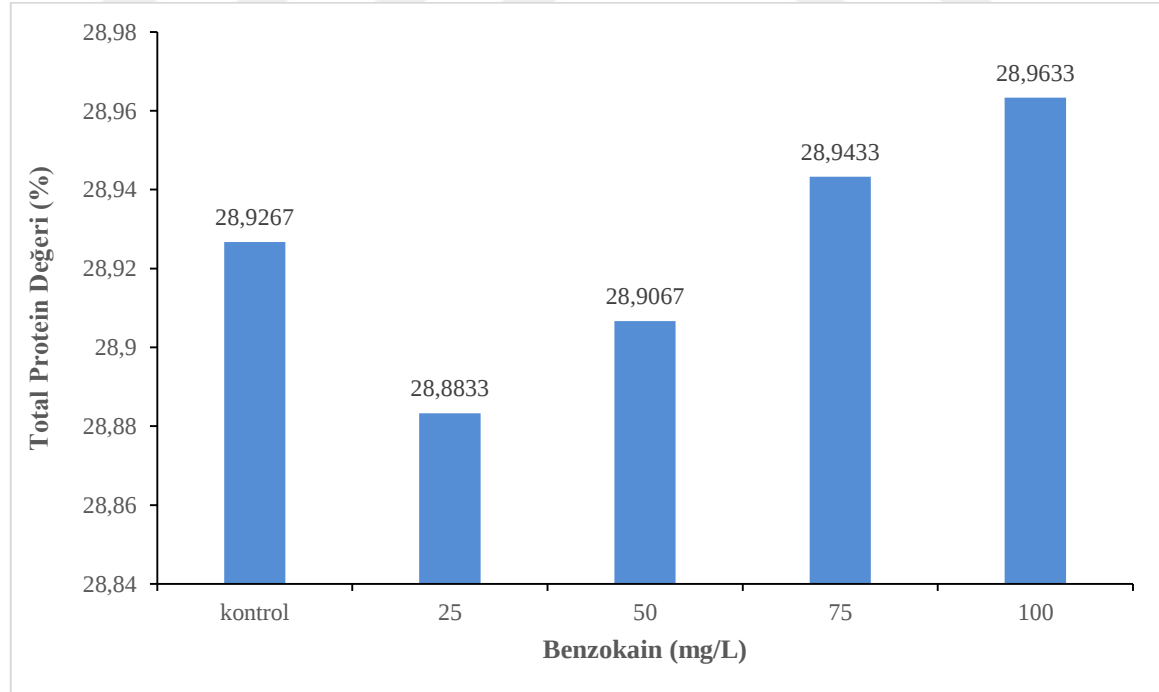
3.11. Benzokain Uygulanan Grupların Total Protein Değerleri

Benzokain (ethyl aminobenzoate)'in letal olmayan 0 (kontrol), 25, 50, 75, 100 mg/L dozları uygulanan balıkların total protein seviyelerinde aşağıdaki değerler tespit edildi (Tablo 3.11; Şekil 3.11.).

Tablo 3.11. Benzokain uygulanan deney ve kontrol grubu balıklarda total protein değerleri.

Benzokain (mg/L)	Total Protein Değerleri (%) X±SH
0 (kontrol)	28,9267±0,1528 ^{ba}
25	28,8833±0,3055 ^b
50	28,9067±0,3786 ^{ba}
75	28,9433±0,3055 ^{ba}
100	28,9633±0,2517 ^a

X±SH: Aritmetik ortalama; ±: Standart hata



Şekil 3.11. Benzokain'in çeşitli derişimlerinin etkisinde kalan total protein ile benzokain miktarı arasındaki ilişki.

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu araştırmada; öncelikli olarak sazan balığına uygulanan Benzokain (ethyl aminobenzoate)'in letal olmayan (25, 50, 75, 100 mg/L) dozları seçilerek örneklerin kan ve serumunda meydana gelebilecek biyokimyasal değişimleri araştırıldı. Hematokrit ve Lökosit, Eritrosit ve Lökosit, Hemogloblin, Fagositik oran, Adherent düzeyi, MCV ve serum total protein değerleri incelendi.

Sazan balığı ile yapılan bu çalışmada Benzokain (ethyl aminobenzoate)'in 25, 50, 75 ve 100 mg/L derişilerin etkisinde kalan balıklarda mortaliteye rastlanılmamıştır. Anestezik maddenin derişimine, çeşidine ve balık türüne göre değişiklik göstermektedir (Mattson ve Ripley, 1989).

Balıkların sağlık kontrollerinde ilk başvuru hematokrit parametresi düzenli olarak tayin edilebilmektedir (Siwicki ve Anderson,1993). Kandaki şekilli elemanların plazmaya olan oranını ifade eder. Bu çalışmanın amaçlarından biri de benzocainin çeşitli derişimlerin etkisinden kalan balıkların hematokrit düzeyini saptamaktır. Kontrol grubu dikkate alındığında 25 ile 50 mg/L derişimleri hem kendi aralarında hemde kontrol grubu ile istatistiki ayrım göstermemiştir. Ancak 75 ve 100 mg/L derişimler istatistiki açıdan önemli ayrıma sahiptir. Bu bulgular ışığında anestezik maddenin 100 mg/L ve bunun üzerindeki derişimlerinde hematokrit düzeyinin arttığı söylenebilir. Ancak hematokrit düzeyi türden türe deriştiği gibi tür içinde de farklılık gösterir. Ayrıca beslenme, mevsimsel ve çevresel faktörlerden etkilendiği de araştırmacılar tarafından kabul edilmiştir (Houston, 1997).

Lökosit değeri Kontrol grubunda 4,1233; 25 mg/L 4,0600; 50 mg/L 4,1700; 75 mg/L 5,0500; 100 mg/L 6,0767 olarak ölçülmüştür. Siwicki ve Anderson (1993), kandaki lökositlerin yüzde hacmini veren lökosit değerin, balıkların sağlığı hakkında bilgi verdiğini, normal koşullarda gökkuşağı alabalıklarında lökosit yüzdesinin 1-2 arasında olduğunu belirtmiştir. Ancak bu çalışmada lökosit yüzdesi daha yüksek bulunmuştur. Balıklarda hematolojik parametrelerin derişiminde balık türünün yanında; mevsim ve sıcaklığın, üreme dönemi ve beslenme durumunun, balık büyüklüğü ve ağırlığının, yaşı, ayrıca suyun tuzluluğunun, hastalıkların, toksik maddelerin, ağır metal ve sanayi atıkları ile stres faktörlerinin de etkili olduğu bildirilmiştir (Sandnes vd.,

1988; Shakoori 1994; Pages vd., 1995; Knoph ve Throul 1996; Luskova 1997; Das ve Mukherjee 2003).

Eritrosit değerleri (%) ortalaması kontrol grubunda 1,0800; 25 mg/L 1,1067; 50 mg/L 1,1300; 75 mg/L 1,3267; 100 mg/L 1,4533 olarak ölçölmüştür. Benzokain miktarları arası ayırımı belirtmek amacı istatistiksel analiz yapılmıştır. Cengizler ve Sahan (Azızoğlu) (2000)'nın Seyhan Baraj Gölü ve Seyhan Nehrin de Yaşayan Aynalı Sazan (*Cyprinus carpio*, Linnaeus, 1758)'larda yaptığı çalışmada Eritrosit Değerleri 0,682428- 3,168142 arasında değişim göstermiştir. Ayrıca Şeker ve Akkan (2016). Yılında sazan balıklarında yaptığı çalışmada kontrol gruplarında eritrosit değerleri 1,0 - 1,64 arasında olduğunu belirledi. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ile benzerlik göstermektedir.

Lökosit değerleri (%) ortalaması kontrol grubunda 114,7000; 25 mg/L 115,6033; 50 mg/L 115,9000; 75 mg/L 120,5433; 100 mg/L 122,6233 olarak ölçölmüştür. Benzokain miktarları arası ayırımı belirtmek amacı istatistiksel analiz yapılmıştır. Sazan balığı ve gökkuşaağı alabalığının 2-fenoksietanol ile muamelesi sonucunda anesteziden hemen sonra yapılan analizlerde lökosit miktarında önemli derecede artışın olduğu rapor edilmiştir (Velisek, 2007). Bu çalışmada ise özellikle 75 mg/L ve 100 mg/L benzokain gruplarında anesteziden sonra kontrol grubuna göre önemli dereceden artış görölmüştür.

Hemoglobin değerleri (%) ortalaması kontrol grubunda 6,7267; 25 mg/L 6,8567; 50 mg/L 6,9033; 75 mg/L 8,2033; 100 mg/L 8,7000 olarak ölçölmüştür. Benzokain miktarları arası ayırımı belirtmek amacı istatistiksel analiz yapılmıştır. Stres faktörü olarak düşünölen enfeksiyon oluşumunun balıklardaki kan parametreleri üzerine olan etkilerini belirlemek için sazan balığı (*Cyprinus carpio*) anestezi (%25'lik fenoksiethanol) edilerek kan örnekleri analizlerini yapmışlar (Güleç ve Şahan 2009). Elde edilen veriler kontrol grubu ($5,16 \pm 0,20$ g/dl) ile karşılaştırıldığında hemoglobin değerinin ($6,7267 \pm 0,07638$ g/dl) yükseldiğini belirtmişlerdir. Bu araştırma sonuçları ile bizim yaptığımız çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Eritrosit indeksleri (MCV, MHC, MCHC) hematokrit, eritrosit ve hemoglobin yoğunluğu ile ilişkili olup eritrositlerin büyüklüğü veya çapı hemoglobin miktarını belirtir. Eritrosit indeksleri anemi tiplerinin tanısında yardımcı olur. MCV değerlerinin

artması durumunda makrositer, azalması durumunda ise mikrositer anemi, MHC değerlerinin artması durumunda hiperkrom, azalması durumunda hipokrom anemi olduğu belirtilmiştir (Nazıroğlu, 2001). Ortalama eritrosit hacmi (MCV) (%) ortalaması kontrol grubunda 220,2000; 25 mg/L 186,9000; 50 mg/L 210,6067; 75 mg/L 260,0067; 100 mg/ 315,0000 olarak ölçülmüştür. Benzokain miktarları arası ayrımı belirtmek amacı istatistiksel analiz yapılmıştır. Ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) (%) ortalaması kontrol grubunda 67,2067; 25 mg/L 68,5000; 50 mg/L 69,0033; 75 mg/L 82,0033; 100 mg/ 87,0000 olarak ölçülmüştür. Benzokain miktarları arası ayrımı belirtmek amacı istatistiksel analiz yapılmıştır. Analiz sonucunda 0 (kontrol) d, 25 mg/L ve 50 mg/L c, 75 mg/L b ve 100 mg/L a harflerle gösterilen $p < 0,05$ düzeyinde istatistik ayrım vardır. Ortalama eritrosit hemoglobini konsantrasyonu (MCHC) (%) ortalaması kontrol grubunda 30,5100; 25 mg/L 36,6533; 50 mg/L 32,6867; 75 mg/L 31,5300; 100 mg/ 27,6133 olarak ölçülmüştür. Benzokain miktarları arası ayrımı belirtmek amacı istatistiksel analiz yapılmıştır. Bizim bu çalışmamızda MCV ve MCH değerleri 100 mg/L Benzokain grubunda bir artış vardır. Makrositer ve hiperkrom anemi olma ihtimali vardır.

Fagositosis, hücreler yardımıyla istilacı mikroorganizmaları içine alan, öldüren ve daha sonra sindiren bir mekanizmadır. Fagositosis, hücre yüzeyine partikülün tutunması, bir fagozom oluşumu ile bu partikülü yutma ve daha sonra fagozom içinde partikülün parçalanması şeklinde üç temel aşamada gerçekleşir. Balıklarda fagositik olan monosit/makrofaj ve granülositler (nötrofiller ve bazı durumlarda eosinofiller) antijenik partikülleri etkisiz hale getirerek sindirebilen hücrelerdir (Siwicki vd., 1985; Ainsworth, 1992; Secombes ve Fletcher, 1992; Secombes, 1994). Balıklarda fagositosisin, istilacı mikroorganizmalara karşı savunmada rol oynayan önemli bir mekanizma olduğu kabul edilmektedir (Mac Arthur ve Fletcher, 1985). Fagositik oran ve indeks değerleri (%) ortalaması kontrol grubunda 62,3267; 25 mg/L 62,4133; 50 mg/L 62,4733; 75 mg/L 63,3333; 100 mg/ 63,3367 olarak ölçülmüştür. Benzokain miktarları arası ayrımı belirtmek amacı istatistiksel analiz yapılmıştır. Yonar, (2002) Sülfamerazin uygulanan gökkuşağı alabalığında fagositik aktivitenin istatistiksel olarak önemli olmayan bir artış gösterdiğini bildirmiştir. Bu çalışmada da benzer artış belirlenmiştir.

Adherent düzeyi (NBT Pozitif Hücre Aktivasyonu) (%) ortalaması kontrol grubunda 29,5867; 25 mg/L 29,5233; 50 mg/L 29,6133; 75 mg/L 29,4900; 100 mg/L 29,5533 olarak ölçülmüştür. Benzokain miktarları arası ayrımı belirtmek amacı istatistiksel analiz yapılmıştır. Aydın, (2006) ve Sarıhan, (2005) yaptığı çalışmalarda kontrol grubu ile diğer gruplar arasında fagositik aktivitede artış olduğunu belirlemiştir. Ancak bizim yaptığımız çalışmada gruplar arasında istatistiksel olarak önemli artış görülmemiştir.

Ortalama total protein (%) ortalaması kontrol grubunda 28,9267; 25 mg/L 28,8833; 50 mg/L 28,9067; 75 mg/L 28,9433; 100 mg/L 28,9633 olarak ölçülmüştür. Benzokain miktarları arası ayrımı belirtmek amacı istatistiksel analiz yapılmıştır. Yapılan bu çalışmada benzokainin çeşitli derişiklerinin etkisi altında kalan deneklerin serum protein düzeyleri araştırılmıştır. Kontrol grubu baz alındığında denenen derişiklerin tamamında önemli kabul edilecek istatistiki ayrıma rastlanmamıştır. Elde edilen veriler anestetik madde etkisindeki balıkların serumunda total protein düzeyinin değişmediğini göstermektedir. Bu bulgular daha önce yapılan çalışmalar ile benzerlik göstermektedir (Bourne, 1984; Lockhard ve Metner, 1984; Kocabatmaz ve Ekingen, 1984; Wilson ve Taylor, 1993).

5. ÖNERİLER

Benzokain (ethyl aminobenzoate) 25 mg/L ve 50 mg/L dozları kullanıldığında balıkların hematolojik parametreleri üzerine olumsuz etkileri olmadığı belirlenmiştir. Özellikler her anestezik madde için optimal dozlar tercih edilmedir.

Balıkların sağlık kontrollerinde ilk başvuru hematolojik parametreler düzenli olarak tayin edilmesi gerekir. Bunu için standart hematolojik yöntemler belirlenmeli ve rutin duruma getirilmelidir.



KAYNAKLAR

- Ackerman, P.A., J.D. Morgan and J.K. Iwama 2005.** Anesthetics, Appendix to CCAC guidelines on: the care and use of fish in research, teaching and testing. Canadian Council on Animal Care: Ottawa CA, [Available electronically at http://www.ccac.ca/en/CCAC_Programs/Guidelines_Policies/GDLINES/Fish/Fish2520Anesthetics2520-136:149-152.2520ENG.pdf (accessed June 2007).
- Ainsworth, A.J., 1992.** Fish Granulocytes: Morphology, Distribution and Function. Annual Review of Fish Diseases, 2: 123-148.
- Aldrin, J.F., Messenger, J.L. and Laurencin, F.B., 1982.** “La Biochimie Clinique en Aquaculture. Interet et Perspective”, CNEXO Actes Colloq., 14: 291-326.
- Al-Hassan, L.A.J., Ahmed, H.K., and Majeed, S.A., 1993.** Some haematological parameters in relation to the biology of the fish *Acanthopagrus latus*. J. Environ. Sci. Health, 28 (7): 1599-1611.
- Alpbaz, A., 1984.** Su Ürünleri Yetiştiriciliği, Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Yayın No: 398, Bornova, Ege Üniversitesi Matbaası, 270 s.
- Anderson, D.P., Jeney, G., 1992.** Immunositumulant added to injected *Aeromonas salmonicida* bacterin the enhance the defence mechanisms and protection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Veterinary Immunology and immunopathology 30,419-429
- Anderson, D.P., Moritoma, T. and de Grooth, R., 1992.** Neutrophil, glass adherent, nitroblue tetrazolium assay gives early indication of immunization effectiveness in rainbow trout. Vet. Immunol, Immunopathol., 30, 419–429 pp.
- Anonymous. 2011.** FAOSTAT, <http://www.faostat.fao.org>. Erişim Tarihi: 01.06.2011. Atamanalp, M., Keleş M. S., Haliloğlu H. İ. ve Aras M. S., 2002. The effects of cypermethrin (A Synthetic Pyrethroid) on some biochemical parameters (Ca, P, Na and TP) of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Turkish J. of Veterinary and Animal Sciences, (26), 1157-1160.

- Arda, M., Seçer, S., ve Sarieyyüpoğlu, M., 2005.** Balık Hastalıkları Medisan Yayın serisi: 61, II. Baskı Ankara 230 s.
- Atamanalp, M., Keleş M. S., Haliloğlu H. İ. ve Aras M. S., 2002.** The effects of cypermethrin (A Synthetic Pyrethroid) on some biochemical parameters (Ca, P, Na and TP) of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Turkish J. of Veterinary and Animal Sciences, (26), 1157-1160.
- Atay, D., 1990.** Balık Üretimi. Tarım Orman ve Köy isleri Bakanlığı, Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü, Yayın No:2 , Eğırdır, 340 s.
- Aydın, R., 2006.** Chitosa uygulanan tilapia (*Oreochromis niloticus*) bireylerinde bazı immünolojik parametrelerin etkisinin araştırılması, Çukurova Üniversitesi Fen bilimleri Ensttüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı.Yüksek Lisans Tezi.
- Barış, M., 2001.** Gökkuşığı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) anestezik maddelerden MS 222 (Ethyl ester 3-aminobenzocaid acid)’nin farklı derişimlerinin bazı kan parametreleri üzerine etkisinin araştırılması. Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi 44 s.
- Başusta, A.G., 2005.** “Balık Hematolojisi ve Hematolojik Metotlar”. Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri. (Ed.) M. Karataş. Nobel Basımevi. 279-300, Ankara.
- Bhagat, R.P., and Banerjee, V., 1986.** Haematology of an Indian fresh water eel, *Amphipnous cuchia* (Hamilton). Erythrocyte count and related parameters with special reference to body length, sex and season. *Physiol Ecol.*11.51-57.
- Bourne, P.K. 1984.** “The Use of MS-222 (Tricaine methanesulphanate) as an Anaesthetic for Routine Blood Sampling in Three Species of marine Teleosts” *Aquaculture*, 36:313-321.
- Burka, J. F. , Hammell, K. L., Horsberg, T. E. , Johnson, G. R., Rainnie, D. J. Speare, 1997.** Drugs in salmonid aquaculture - A review. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 20(5), 333-349.
- Cannan, R.K., 1958.** Hemoglobin (as Cyanmethemoglobin) in Blood. *Clinical Chemistry* 4, pp: 246–251

- Cengizler ve Sahan (Azizoglu) 2000.** Seyhan Baraj gölü ve Seyhan Nehrinde Yasayan Aynalı Sazan (*Cyprinus carpio*, Linnaeus, 1758)'larda Bazı Kan Parametrelerinin Belirlenmesi. Turk J Vet Anim Sci 24 : 205–214.
- Coyle, S.D., Durborow R.M., Tidweel J.H., 2004.** Anesthetics in Aquaculture. SRAC Publication No:3900. 6 s.
- Çelikkale, M.S., 2002.** İç Su Balıkları ve Yetiştiriciliği. K.T.Ü. Sürmene Deniz Bilimler ve Teknolojisi Yüksek Okulu, Cilt:2, Yayın No:2, Trabzon, 419 s.
- Çetinkaya O., Şahin A., 2005.** Balıklarda Anestezi Uygulamaları ve Başlıca Anestezikler, sayfa.237-273; Balık Biyolojisinde Araştırma Yöntemleri Editör:Karataş,M., Nobel yayın no:772.
- Çiftci, Y. ve Okumuş, İ., 2002.** Fish Population Genetics and Applications of Molecular Markers to Fisheries and Aquaculture: I-Basic Principles of Fish Population Genetics, Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,2:145-155.
- Çiltaş, A.K., 2000.** *Stenotrophomonos malthophilia*, *Brevibacillus agri*, *Micrococcus lylae* suşlarının patojenitesi ile gökkuşağı alabalığı üzerinde oluşturulan enfeksiyonların laboratuar ve klinik yönden araştırılması. Doktora Tezi. A. Ü. Fen Bil. Enst., Erzurum.
- Das, B.K. and Mukherjee S.C., 2003.** Toxicity of cypermethrin in Labeo rohita Fingerlings: Biochemical, enzymatic and haematological consequences. Comp. Biochem. Physiol., Part C, 134, 109-121.
- Demirsoy, A., 1993.** Yasamın Temel Kuralları, Meteksan A.Ş. BaskıTesisleri, Ankara, 684 s.
- Dörücü, M., ve Girgin, A., 2001.** The effect of cypermethrin on some haematological parameters of *Cyprinus carpio*. Aquaculture International 9: 183–187,
- Emre, Y., 2004.** Sazan Yetiştiriciliği. T.C. Başbakanlık Güneydoğu Anadolu Projesi Bölge Kalkınma İdaresi Başkanlığı. 15s.

- Erbucan, S., 1995.** Anestezinin balıklar üzerine etkisi. Doktora semineri. Fırat Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Elazığ.38 s.
- Garcia, M.P., Echevarria, G., Martinez, F.J and Zamora, S., 1992.** Influence of blood sample collections on the haematocrit value of two teleosts: rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 101: 733-736.
- Gilderhus, P. A., 1989.** Efficacy of Benzocaine as an Anaesthetic for Salmonid Fishes. *North American Journal of Fisheries Management*, 9:150 - 153.
- Girgin, A. ve Şen, D., 2003.** Keban baraj gölündeki *Chalcalburnus mossulensis* (Heckel, 1843)'in hematolojik parametrelerinin incelenmesi. *G. Ü Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 23 (1), 11-21.
- Gontijo Á. M.M.C., Barreto R.E., Speit G., Reyes V.A.V., Volpato G.L., Salvadori D.M.F., 2002.** Anesthesia of fish with benzocaine does not interfere with comet assay results. *Elsevier Science*. 534, 165–172
- Gontijo Á. M.M.C., Barreto R.E., Speit G., Reyes V.A.V., Volpato G.L., Salvadori D.M.F., 2002.** Anesthesia of fish with benzocaine does not interfere with comet assay results. *Elsevier Science*. 534, 165–172.
- Güleç, A.K. ve Şahan A., 2010.** Parazit enfestasyonunun aynalı sazan (*Cyprinus carpio* LINNAEUS, 1758) bireylerinde serum, glikoz, kortizol ve kan hemoglobin miktarları üzerine etkileri. *Ulusal Su Günleri 2009 Sempozyumu* 29 Eylül – 1 Ekim, Elazığ.
- Hoffmann, R., Lommel, R., 1984.** Effects of repeated blood sampling on some blood parameters in freshwater fish. *Journal of Fish Biology*, 24, 245-251.
- Hoskonen, P. and Pirhonen J., 2006.** Effects of repeated handling, with or without anaesthesia, on feed intake and growth in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 37, 409–415.

- Houston, A.H., 1997.** “Review: Are the Classical Hematological variables Acceptable Indicators of fish health?” transactions of the American Fisheries Society, U.S.A. 6(126):879-894.
- Iwama, G. K. McGeer, J. C. and Pawluk, M. P. 1989.** The Effects of Five Fish Anaesthetics on Acid-Base Balance, Hematocrit, Blood Gases, Cortisol, and Adrenaline in Rainbow trout. Can. J. Zool. 67:2065 - 2073.
- İmren, H. ve Turan, O., 1985.** Klinik Tanıda Laboratuvar. Beta Yayın Dağıtım A.Ş. 845 s.
- Kanyılmaz, M., Sevgili. H., Erçen. Z. ve Yılayaz, A. 2007.** Karanfil Yağının Balık Anestezisi Olarak Kullanımı. Türk Sucul Yaşam Dergisi. Sayı:5-8 Sayfa 671-680.
- Kayhan, F.E., Muşlu M.N., Koç N.D., 2009.** Bazı ağır metallerin sucul organizmalar üzerinde yarattığı stres ve biyolojik yanıtlar. Journal of Fisheries Sciences. 3(2),153-162.
- Knoph, M. B. and Thorud K., 1996.** Toxicity of ammonia to atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in seawater-effects on plasma osmolality, ion, ammonia, urea and glucose levels and hematological parameters. Comp. Biochem. Physiol., 113(4), 375–381.
- Kocabatmaz, M., Ekingen, G., 1984.** “Comparative Studies on Leucocytes of Some Freshwater Fish Species.” S.Ü. Veteriner Fak. Derg. Konya, 3(1):71-81.
- Kocabatmaz, M., ve Ekingen G., 1984.** Değişik tür balıklarda kan örneği alınması ve hematolojik metotların standardizasyonu. Doğa Bilim Dergisi, D1, 8, 2,149–159.
- Koç B., Sarıtaş ZK. 2004.** Veteriner Anesteziyoloji ve Reanimasyon. Ders Kitabı. Malatya Medipress Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti, pp. 266 s.
- Konuk, T., 1981.** Pratik Fizyoloji. I. Ankara: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları: 314. Ders Kitabı:215 s.

- Lemmm, C.A., 1993.** Evaluation of five anesthetics on striped bass. U.S. Department of the Interior Fish and Wild Life Service West Virginia 25430. 1-16
- Lockhard, W.L. and Metner, D.A. 1984.** “Contaminants Effects on Fisheries.” Nriagu, J.O. vol. 16:73-85.
- Lowe-Jinde, L., Niimi, A.J. 1983.** Influence of sampling on the interpretation of haematological measurements of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. Canadian Journal of Zoology, 61: 396-402.doi: 10.1139/z83-052.
- Luskova, V., Lusk S., Halacka K., 1995.** Yearly dynamics of enzyme activities and metabolite concentrations in blood plasma of *Chondrostoma nasus*. Folia Zoologica-44.
- Mac arthur, J.I., Fletcher, T.C., 1985.** Phagocytosis in fish (M.J., Manning Eds.). Fish Immunology, Acad Press NY/London. 29-46 pp.
- Martinez, F.J., Garcia-Riera, M.P., Canteras, M., , De Costa, J. and Zamora, S., 1994.** Blood parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Simultaneous influence of various factors. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 107: 95–100.
- Mattson, N.S. and Riple, T.H., 1989.** “Metomidate, a Better Anesthetic for Cod (*Gadus morhua*) in Comparsion with Benzocaine MS 22, Chlorobutanol and Phenoxyethanol.” *Aquaculture*, 83:64-89.
- Murray, S.A., 1984.** Haematological study of the bluegill *Lepomis macrochirus* RAF. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol., 78A, No: 4, 787.
- Nazıroğlu, M., 2001.** Hematopoetik sistem ve bağışıklık sistemi fizyolojisi ders notları.Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ.
- Neiffer D.L. and Stamper M.A. 2009.** Fish Sedation, Anesthesia, Analgesia, and Euthanasia:Considerations, Methods, and Types of Drugs. 50:4 343-360

- Pagés T., Gómez E., Súñer O., Viscor G. and Tort L., 1995.** Effects of Daily management stress on haematology and blood rheology of the gilthead seabream. J. Fish Biol., 46, 775-786.
- Rimsh, E.Y. and Adamova L.G. 1973.** “Blood Analisis of Herbivorous Fish (Biological principles and ways of increasing the efficiency of natural reproduction and rearing of valuabel commerical fishes)” Fish. Res. Bd. Of Canada Translation Series No. 2620, Canada.
- Sandnes, K., Lie Q., Waagbo R., 1988.** Normal ranges of some blood chemistry parameters in adult farmed atlantic *salmon*, *Salmo salar*. Journal of Fish Biology, 32, 129-136.
- Sarihan, F., 2005.** Tilapia (*Oreochromis niloticus*)’ larda levamisol ve *Streptococcus iniae* Uygulamasından sonra olusan immun yanıtın izlenmesi. Doktora tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Secombes, C.J., 1994.** Enhancement of fish phagocyte activity. Fish and Shellfish Immunology, 4: 421-436.
- Secombes, C.J., Fletcher, T.C., 1992.** The role of phagocytes in the protective mechanisms of fish. Annual Review of Fish Disease, 2: 53-71.
- Serezli, R., Okumuş, İ. ve Akhan, S., 2005.** Akuakültürde Anestezinin Kullanımı. Türk Sucul Yaşam Dergisi. E. Düzgüneş, İ. Okumuş, H. Öğüt (ed). Sayfa 475-480.
- Shakoori, A.R., Iqbal M.J., Mughal A.L. and Ali S.S., 1994.** Biochemical changes induced by inorganic mercury on the blood, liver and muscles of freshwater Chinese grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. J. Ecotoxicol. Environ. Monit., 4,81-92.
- Sharma, T. and Joshi, B., 1986.** Effect of seasonal variation on some haematological values of a hillstream fish *Tor putitora*. J. Adv. Zool.,6:39-45.

- Siwicki, A. K., Anderson D. P. & Ramsey G. L., 1994.** Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout effects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 41, 125–139 pp.
- Siwicki, A.K., Studnicka, M. , Ryka, B., 1985.** Phagocytic ability of neutrophils in carp (*Cyprinus carpio*). *Bamidgeh*, 37: 123-128.
- Swicki, A.K., Anderson, D.P., 1993.** Immunostimulation in fish:Measuring the effects of stimulant by serological and immunological methods. Symposium on fish immunology lysekil, Sweden, 24p.
- Şahan, A., Cengizler, İ., 2000.** Seyhan Baraj gölü ve Seyhan Nehrinde Yasayan Aynalı Sazan (*Cyprinus carpio*, Linnaeus, 1758)’larda Bazı Kan Parametrelerinin Belirlenmesi. *Turk J Vet Anim Sci* 24 : 205–214.
- Şeker, E., Akkan, S., 2016.** Effect of Tunceli garlic (*Allium tuncelianum*) on the haematological and immunological parameters of scaly carp (*Cyprinus carpio*). *International Journal of Recent trends in science and technology.* 21 (2);122-128.
- URL-1.**<http://www.frmartuklu.net/genel-saglik/38642-genel-anestezi-nedir-ve-genel-nestezi-verme-yollari.html> Genel Anestezi Nedir ve Genel Anestezi Verme Yolları.
- URL-2.**<http://movies-kirkkylenoble.blogspot.com/2011/03/benzocaine-powder.html> benzocaine powder.
- Velisek, J., Svobodova Z., Plackova V., 2007.** Effects of 2-phenoxyethanol anaesthesia on haematological profile on common carp (*Cyprinus carpio*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Vet. Brno.*, 76, 487-492.
- White, W.L., Ericson N.M. and Stevens S.C., 1976.** Chemistry for the Clinical Laboratory (4th Ed.), CV Mosby, St Louis, p 122.
- Wilson, R., and Taylor, F., 1993.** The Physiological Responses of Freshwater Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) During Acutely Lethal Copper Exposure.” *J. Comp, Physiol. B.*, 11:38-163

Yonar, M.E., 2002. Sulfamerazinin Gökkuşığı alabalığının immun sistemi üzerine etkisinin araştırılması.Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı.Yüksek Lisans Tezi.

Yüreklitürk O. 1989. Yavru Balık Naklinde Anestezik maddelerden Kloralhidrat'ın Kullanılması. Su ürünleri Dergisi, 6.22-30.



ÖZGEÇMİŞ

Malatya ili Doğanşehir ilçesine bağlı Kurucaova kasabası'nda 10.11.1976 tarihinde doğdum. İlköğrenimimi burada, orta öğrenimimi ise Sürgü kasabasında tamamladım. İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi'ne 1999 yılında kayıt yaptırdım ve 2003 yılında mezun oldum. İnönü Üniversitesi 2003 yılında tezsiz yüksek lisansa başladı ve 2004 yılında bitirdim. Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Temel Bilimler Anabilim dalı'nda 2009 yılında Yüksek Lisans'ı başladım. Halen Temel Bilimler Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa devam etmekteyim.

Yüksek Lisans öğrencisi
Mahmut ÖZCAN