













Melatonin'in Tatlısu İstakozu (*Pontastacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) Yavrularında Gelişim, Hayatta Kalma Oranı ve Bağışıklık Yanıtı Üzerindeki Etkisi

Remziye ÖZKÖK^{1*} , Mevlüt AKTAŞ² , Kamile Gonca EROL¹ , Behire Işıl DİDİNEN³ , Mustafa CEYLAN³ , Soner ÇETİNKAYA⁴ , Oğuz Yaşar UZUNMEHMETOĞLU¹ , Şakir ÇINAR¹ , Nuran ÇAVDAR⁵ , Mehmet PAZAR¹ 

¹T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Eğirdir-Isparta

²İskenderun Teknik Üniversitesi Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Fakültesi, İskenderun-Hatay

³Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Isparta

⁴T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Akdeniz Su Ürünleri Araştırma, Üretim ve Eğitim Enstitüsü Müdürlüğü, Antalya

⁵T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü, Ankara

ÖZ

Bu çalışmanın amacı melatoninin, *Pontastacus leptodactylus* yavrularının (II-IV. dönem) gelişim, hayatta kalma oranı ve bağışıklık yanıtı (total hemosit sayısı) üzerindeki etkilerini araştırmaktır. Melatonin dozları 0, 0,5, 1, 2, 4 mg / kg oranında deneme yemine ilave edilerek 4 tekerrürlü 5 ayrı grup şeklinde deneme grupları oluşturulmuştur. Denemeler, II. Dönem *P. leptodactylus* yavruları ile kurulmuş ve 60 gün süre ile besleme yapılmıştır. Deneme süresince günde bir kez %50 oranında su değişimi ve sürekli bir havalandırma sağlanmıştır. Stok yoğunluğu her deneme tekerrürü için 20 yavru olarak belirlenmiştir. Yavrular, günde bir kez canlı ağırlıklarının %5'i oranında beslenmiştir. Yavruların başlangıç ortalama ağırlık ve total boyları 34 ± 4 mg ve $11,6 \pm 0,4$ mm olarak belirlenmiştir. Deneme sonunda en yüksek ortalama total boy $22,0 \pm 3,6$ mm olarak 2 mg/kg melatonin içeren grupta, en iyi ortalama canlı ağırlık 216 ± 116 mg olarak 4 mg/kg melatonin grubunda, en iyi yaşama oranı $44,4 \pm 13,9$ olarak 2 mg / kg melatonin doz grubunda ve en yüksek ortalama total hemosit miktarı ise $2,27 \pm 0,49 \times 10^6$ hücre/ml olarak yine 2 mg/kg melatonin doz grubunda elde edilmiştir. Bununla birlikte gruplar arasındaki farklar istatistik açıdan önemli bulunmamıştır ($p > 0,05$). Sonuç olarak, bu çalışmada *P. leptodactylus* yavrularının gelişim, hayatta kalma oranı ve bağışıklık yanıtı üzerinde melatonin katkılı yemler ile beslemenin önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Kerevit, *P. leptodactylus*, melatonin, hayatta kalma oranı, gelişim

MAKALE BİLGİSİ

ARAŞTIRMA MAKALESİ

Geliş : 02.07.2020

Düzeltilme : 29.10.2020

Kabul : 04.11.2020

Yayım : 26.08.2020

DOI:10.17216/LimnoFish.761841

* SORUMLU YAZAR

remziyeozkok@gmail.com

Tel : +90 246 313 34 60

Fax : +90 246 313 34 63



Effect of Melatonin on Development, Survival Rate and Immune Response in the Juveniles of Freshwater Crayfish (*Pontastacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823)

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of melatonin on growth, survival and immune response (total hemocyte counts) of *Pontastacus leptodactylus* juveniles (stage II-IV). With this aim, five separate groups with 4 replicates were formed by adding melatonin at the doses of 0, 0.5, 1, 2, 4 mg/kg to the trial feed. The experiments was conducted using stage II *P. leptodactylus* juveniles which fed for 60 days. During the experiments, a 50% water change once a day and continuous ventilation was provided. Stock density was determined as 20 juveniles for each replicate tank. The juveniles were fed at rate of 5% of their body weight once a day. The average initial weight and total length of juveniles were 34 ± 4 mg and 11.6 ± 0.4 mm, respectively. At the end of the experiment, the maximum average total length (22.0 ± 3.6 mm) was in the group fed with 2 mg/kg melatonin containing diet, the best average live weight (216 ± 116 mg) was in the group fed with 4 mg/kg melatonin containing diet, the highest survival rate ($44.4 \pm 13.9\%$) was in the 2 mg/kg melatonin group and the highest average total hemocyte count ($2.27 \pm 0.49 \times 10^6$ cells/ml) was in the 2 mg/kg melatonin group. However, the differences between the groups were not statistically significant ($p > 0.05$). As a result of this study, it was determined that feeding with melatonin supplemented feed have no significant effect on growth, survival and immune response of *P. leptodactylus* juveniles.

Keywords: Crayfish, *P. leptodactylus*, melatonin, survival rate, growth

Alıntılama

Özkök R, Aktaş M, Erol KG, Didinen BI, Ceylan M, Çetinkaya S, Uzunmehmetoğlu OY, Çınar Ş, Çavdar N, Pazar M. 2021. Melatonin'in Tatlısu İstakozu (*Pontastacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) Yavrularında Gelişim, Hayatta Kalma Oranı ve Bağışıklık Yanıtı Üzerindeki Etkisi LimnoFish. 7(2): 108-114. doi: 10.17216/LimnoFish.761841

Giriş

2017 yılında dünyada toplam su ürünleri üretimi 92,5 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Bu üretimin 15,2 milyon tonluk bölümünü kabuklu üretimi (avcılık ve yetiştiricilik) oluşturmaktadır. Kabuklu üretiminin 8,4 milyon tonu yetiştiricilikten, 6,8 milyon tonu avcılıktan elde edilmiştir. 15,2 milyon tonluk toplam kabuklu üretiminin ise yaklaşık 1,2 milyon tonluk bölümünü sadece tatlısu istakozları oluşturmuştur. Bu üretiminin sadece 86 bin tonu avcılıktan elde edilirken, çok büyük bir bölümü yetiştiricilikten sağlanmıştır (FAO 2019). Ülkemizde kerevit üretimi sadece doğal stoklardan avcılığa dayanmaktadır ve 2018 yılında 524 ton olarak gerçekleşmiştir (TÜİK 2019).

Türkiye'deki doğal kerevit türü (*P. leptodactylus*), yüksek tüketici talebi nedeniyle Avrupa'daki en önemli tatlı su istakozu türlerindedir (Harlioğlu vd. 2012). Astacid kerevitlerin kültürü çoğunlukla yarı entansif sistemlerde yapılmakta ve edile edilen II. dönem yavrular doğal toprak havuzlara ya da suni havuzlara stoklanmaktadır. Bununla birlikte, ılık su kerevitleriyle kıyaslandığında Astacid kerevitlerde yavrulardaki hayatta kalma oranları çok düşüktür (Mazlum 2007). Bu nedenle, *P. leptodactylus*'larda yavruların hayatta kalma oranlarının ve gelişimlerinin artırılması konusundaki çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Son yıllarda su ürünlerinde büyümeyi ve yaşama oranını arttırmaya yönelik yapılan çalışmalarda; hormonlar, antibiyotikler, iyonoforlar, probiyotikler ve prebiyotikler yem katkı maddeleri olarak kullanılmaktadır. Dekapod krustaselerinde yapılan çalışmalarda, melatonin ve serotonin gibi biyolojik aminlerin üreme ve glikoz dengesi dahil olmak üzere birtakım fizyolojik aktivitelerin düzenlenmesinde etkili oldukları tespit edilmiştir (Fingerman 1997; Reddy ve Pushpalata 2007).

Balıklarda, epifiz bezinde triptofandan ve retinadan sentezlenen melatonin hormonu, biyolojik saatin düzenlenmesi ve mevsimsel değişikliğe olan adaptasyon gibi birçok fonksiyona sahiptir (Kırım vd. 2006). Melatoninin, ot sazı (Kazuka vd. 1988), deniz levreği (Sánchez-Vázquez vd. 1997) ve kerevit (*Procambarus clarkii*)'de mevsimsel üreme aktivitesini düzenlediği bildirilmiştir (Agapito vd. 1995). Yine *P. clarkii*'de aktiviteyi ve metabolit seviyelerini etkilediği, bununla birlikte etkilerin hayvanların aktivite evresi ve melatonin uygulamasının zamanlaması ile değişebileceği, omurgalılarda olduğu gibi omurgasızlarda da ritmik süreçleri yöneten karmaşık sistemin bir bileşeni olabileceği bildirilmiştir (Tilden vd. 2003). Ayrıca balıklarda, pineal bezden salgılanan melatoninin, immün fonksiyonlar için temel bir eser element olan

çinko seviyelerini düzenlediği ileri sürülmektedir (Kırım vd. 2006). Melatoninin çipura (*Sparus aurata*)'da bağışıklık ile ilgili genlerin (mainly IL-1b and IRF-1) olumlu yönde düzenlenmesini sağladığı bildirilmiştir (Cuesta vd. 2008). Yengeç (*Eriocheir sinensis*) de gelişim ile ilgili genlerin ekspresyonunu artırarak uzuv rejenerasyonu sağlayabildiği, sindirim enzim aktivitesini artırdığı, bağışıklık tepkisini güçlendirdiği, özellikle antioksidan kapasiteyi güçlendirdiği bildirilmiştir (Zhang vd. 2018). Kabuklulardaki doğuştan gelen immün sistem, infeksiyöz mikroorganizmalara karşı temel savunma mekanizmasıdır. Bu savunma sisteminde kan hücreleri hemositler önemli bir rol oynamaktadır (Lee ve Söderhäll 2002). Hemositler kaya istakozlarında veya diğer istakozlarda stres veya sağlık durumunun değerlendirilmesinde yararlı araçlar olabilir (Jussila vd.1997).

Bu çalışmada melatoninin *P. leptodactylus* yavrularının gelişim, hayatta kalma oranı ve bağışıklık sistemi (total hemosit sayısı) üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışma, 2016 yılında Eğirdir Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü bünyesinde yer alan Kerevit Araştırma Merkezi kuluçkahanesinde yürütülmüştür. Yumurtalı kerevitler, 2016 yılı Nisan ve Mayıs aylarında Eğirdir Gölü'nden kerevit sepetleri ile yakalanmış ve 2-3 hafta boyunca kapalı devre sistemdeki kültür koşullarına adapte edilmiştir. Anaçlar bu aşamada günde bir kez çiğ patates, alabalık peleti ve çiğ balık etiyle beslenmiştir. Yumurtalı anaçların adaptasyonunda 280 x 60 x 60 cm ebatlara sahip polyester tanklar kullanılmış, tanklara saklanma ihtiyaçlarını karşılamak için 8 cm çapında ve 12 cm uzunluğunda PVC borular yerleştirilmiştir.

Yavrular mayıs ayı sonu ile haziran ayının ilk haftası boyunca elde edilmiştir. Bu aşamada anaç ve yavruların yaklaşık olarak 15 gün birlikte kalmaları sağlanmıştır. Haziran ayının ilk haftasından sonra yavrular bağımsız yaşam evresine (II. dönem) geçmişlerdir. Dışardan besleme bu dönemde başlamış ve yavrular ilk olarak dondurulmuş *Artemia nauplii*, *Daphnia* sp. ve *Chironomus* sp. ile 15 gün boyunca beslenmiştir. *Daphnia* sp. ve *Chironomus* sp., açık alandaki tanklarda üretilmiş ve belli aralıklarla süzülüp hasat edilerek, -20 °C 'de saklanmıştır. Bu dönemde denemeye başlamadan önce yavruların yavaş yavaş granül yemlere alışmaları sağlanmıştır. Ardından, başlangıç ortalama ağırlıkları 34 ± 4 mg ve total boyları $11,6 \pm 0,4$ mm olan, yumurtadan çıkarak I. döneme geçen, 8-10 gün içinde kabuk değiştirip II. döneme ulaşarak annelerini tamamen terkeden ve beslenmeye başlayan (Balık, 1993) II. dönem

yavrular ile deneme başlatılmıştır. Deneme süresince yem artıkları, kopan uzuv parçaları, ölü yavrular ve dışkılar ortamdaki sifonlama ile uzaklaştırılmıştır.

Deneme yemlerinin hazırlanması

Deneme yemleri, bir yem firması tarafından soğuk ekstrüzyon tekniği ile üretilmiştir. Melatonin, karides yemine, üretim aşamasında ilave edilmiştir. Deneme yemleri, %55 ham protein, %10 ham yağ, %9 ham kül, %1,4 ham selüloz ve 1,76 ham lif içermektedir. Hammadde kaynağı olarak balık, buğday ve krill unları, balık yağı ve hidrolizatı, bazı mikro algler, vitamin ve mineral premiksleri kullanılmıştır. Deneme yemlerinin hazırlanmasına geçilmeden önce melatonin hormonunun; (N-[2-(5-methoxy-1H-indol-3-yl) ethyl]), etil alkol ile çözünmesi sağlanmış, yeterli düzeyde distile su ilave edilerek homojen bir karışım elde edilmiş ve daha sonra, yeme ilave edilerek her bir doz grubu (0, 0,5, 1, 2 ve 4 mg melatonin/kg yem) için 5 farklı deneme yemi üretilmiştir. Deneme yemleri, granül şeklinde olup ebatları 800-1200µ olarak ayarlanmıştır. Deneme süresince yavru kerevitler, günde bir kez canlı ağırlıklarının %5'i oranında (Mazlum vd. 2011) beslenmiştir.

Deneme planı

Deneme tam tesadüfe bağlı deneme planına göre oluşturulmuş olup, 4 tekerrürlü 5 grup olarak planlanmıştır: Grup 1 (Kontrol, melatoninsiz yem), grup 2 (0,5 mg melatonin /kg yem), grup 3 (1 mg melatonin /kg yem), grup 4 (2 mg melatonin /kg yem), grup 5 (4 mg melatonin /kg yem) 60 gün boyunca sürdürülen denemede 60 x 40 x 30 cm ebatlarına sahip şeffaf plastik kaplar kullanılmış olup, her birine barınak malzemesi olarak delikli tuğlalar yerleştirilmiştir. Deneme boyunca, günde bir kez %50 oranında su değişimi ve havalandırma sağlanmıştır. Stoklama yoğunluğu her tekerrür için 20 yavru, olarak ayarlanmış olup tüm denemede toplam 400 adet yavru kullanılmıştır.

Yavrularda ağırlık ve total boy ölçümleri

Denemenin başlangıcında, 30. ve 60. (deneme sonu) günlerde yavrularda ağırlık ve total boy ölçümü yapılmıştır. Total boy (TL) ölçümü: (rostrumun ucundan telsonun son uzantısına kadar olan kısım), dijital kumpas ile ağırlık ölçümleri ise 0,001 g hassasiyetindeki terazi ile yapılmıştır.

Yavrularda yaşama oranlarının tespiti

Denemenin 30. ve 60. günlerinde yavrulardaki hayatta kalma (yaşama) oranı belirlenmiştir. Yaşama oranı, aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$YO (\%) = \frac{Ns}{Nb} \times 100$$

YO = Yaşama Oranı

Ns = Deneme sonundaki kerevit sayısı

Nb = Deneme başlangıcındaki kerevit sayısı

Bağışıklık yanıtı üzerine olan etkilerin tespiti

Deneme sonunda her tekerrür için 4-5 yavrudan ayrı ayrı olmak üzere her gruptan yaklaşık 20 adet yavrunun kanı (hemolenf) ayrı ayrı alınarak hemolenfteki toplam hemosit miktarları belirlenmiştir. Yavrulardan hemolenf örnekleri alınmadan önce, stresi engellemek için, yavruların bulunduğu su, buz aküsü ile soğutulmuştur. Hemolenf örnekleri kerevit yavrularının 2. yürüme bacaklarının tabanından alınmış (Sepici-Dinçel vd. 2013) ve her örnek sadece bir yavrudan 1 ml'lik enjektör yardımıyla elde edilmiştir. Hemositlerin parçalanmasını ve pıhtılaşmayı engellemek için enjektöre önce 0,9 ml %4'lük formalin çekilmiş, daha sonra üzerine 0,1 ml hemolenf alınmış ve karıştırılmıştır. Daha sonra, bu karışımda (formalin+hemolenf) ışık mikroskopunda Thoma lamı ile toplam hemosit sayımı yapılmıştır (Miller ve Stanley 2000; Evans 2003; Ward vd. 2006). Hemositler mikroskop altında sayılmış ve toplam hemosit sayısı (THC) formülle hesaplanmıştır

$$\text{THC Toplam} \\ \text{hemosit sayısı /ml} = \frac{\text{Toplam hücre} \\ \text{sayısı} \times 2 \times 10 \times 1000}{16}$$

(Sepici-Dinçel vd. 2013).

Su kalitesi parametrelerini ölçümü

Deneme süresince su sıcaklığı (termometre ile), çözünmüş oksijen (Oksijen metre ile) ve pH (PH metre ile) günlük olarak, amonyak, nitrat ve nitrit miktarı (Spektrofotometrik yöntemle) haftada bir kez ölçülmüştür.

Verilerin değerlendirilmesi

Verilerin normal dağılımı Kolmogrov Smirnov testi ile analiz edilmiştir. Normal dağılım gösteren parametrik verilerde grupların karşılaştırılması Tek Yönlü Anova testi, normal dağılım göstermeyen non-parametrik veriler ise Kruskal-Wallis sıralamalı tek-yönlü varyans analizi ile yapılmıştır. Gruplar arasında farklar için verinin normal dağılım sonucuna göre Duncan veya Tukey çoklu karşılaştırma testleri uygulanmıştır (Özdamar 2011). Ağırlık, boy ve hayatta kalma ile ilgili sonuçlar, ortalama ± standart sapma ($\bar{X} \pm SS$), toplam hemosit sayıları ise ortalama ± standart hata ($\bar{X} \pm SH$) şeklinde verilmiştir. Tüm istatistik testlerde önem seviyesi $\alpha=0,05$ olarak kabul edilmiştir. Veriler IBM SPSS Statistics v.25 ve Microsoft Excel 2013 paket programları ile işlenmiş ve değerlendirilmiştir.

Bulgular

Melatoninin gelişim üzerindeki etkisi

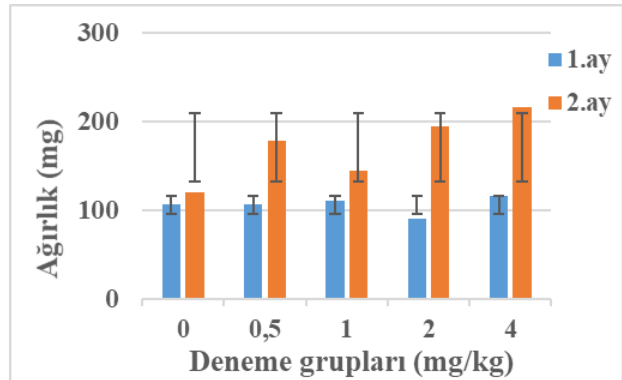
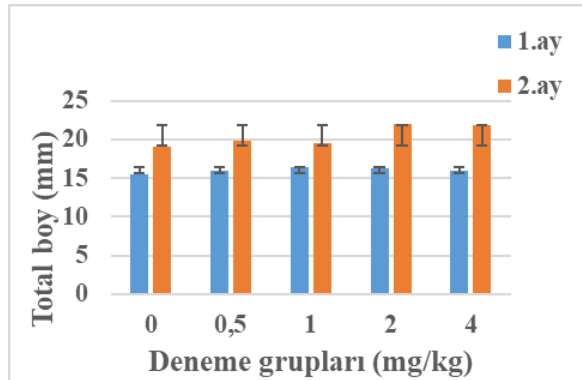
Denemenin 30. ve 60. günlerinde yapılan ölçümlerde boy ve ağırlık değerleri açısından gruplar arasında istatistik açıdan önemli bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo1, Şekil 1).

Tablo 1. Melatonin dozlarına göre yavrularda aylık ortalama total boy (mm) ve ağırlık (mg) değerleri
Table 1. Average monthly total height (mm) and weight (mg) values of offspring according to melatonin doses

Melatonin Doz Grupları (mg/kg)	Ortalama Total Boy (mm)			Ortalama Ağırlık (mg)		
	Başlangıç Boyu	30. gün	60. gün	Başlangıç Ağırlığı	30. gün	60. gün
	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$	$\bar{X} \pm SS$
Kontrol	11,6 ± 0,4 ^b	15,5 ± 1,9 ^a	19,1 ± 2,4 ^a	34 ± 3 ^b	107 ± 38 ^a	120 ± 38 ^a
0,5	11,6 ± 0,4 ^b	15,9 ± 1,9 ^a	19,9 ± 2,4 ^a	34 ± 3 ^b	107 ± 37 ^a	178 ± 60 ^a
1	11,6 ± 0,4 ^b	16,4 ± 2,0 ^a	19,6 ± 0,1 ^a	34 ± 3 ^b	110 ± 48 ^a	144 ± 06 ^a
2	11,6 ± 0,4 ^b	16,3 ± 2,2 ^a	22,0 ± 3,6 ^a	34 ± 3 ^b	90 ± 38 ^a	195 ± 93 ^a
4	11,6 ± 0,4 ^b	15,9 ± 2,2 ^a	21,9 ± 3,7 ^a	34 ± 3 ^b	116 ± 34 ^a	216 ± 116 ^a

Boy ve ağırlık bazında aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0,05$). Aynı sütunda tek bir ölçüm gününde (Başlangıç, 30 ve 60. günler) deneme gruplarına ait ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir ($p > 0,05$).

The difference between the means shown in different letters on the same line is statistically significant ($p < 0,05$) on the basis of height and weight. The difference between the means of the experimental groups on a single measurement day (beginning, 30th and 60th days) in the same column is not statistically significant ($p > 0,05$).



Şekil 1. Yavrularda melatonin dozlarına göre aylık ortalama total boy (mm) ve ağırlık (mg) değerleri

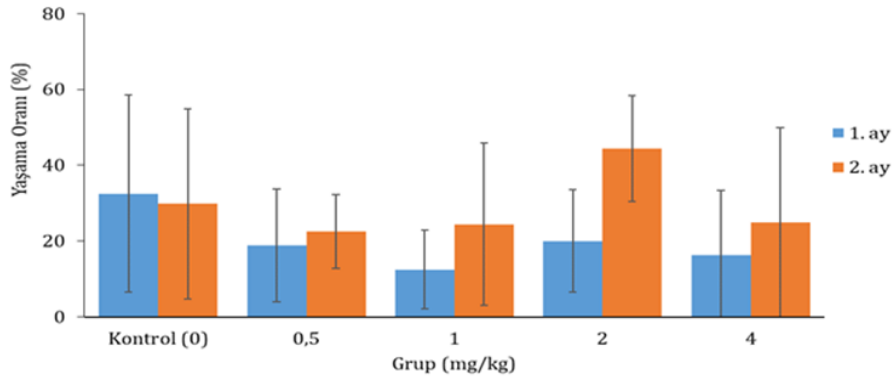
Figure 1. Average monthly total height (mm) and weight (mg) values according to melatonin doses in offspring

Melatoninin hayatta kalma oranları hayatta kalma oranlarında olumlu bir üzerindeki etkisi etkisinin olmadığı bulunmuştur ($p > 0,05$)
 Kerevit yavrularında yeme melatonin ilavesinin (Tablo 2, Şekil 2).

Tablo 2. Farklı dozda melatoninli yemlerle beslenen yavrularda aylık yaşama oranları (%)

Table 2. Monthly survival rates (%) of offspring fed different doses of melatonin containing feeds

Melatonin Doz Grupları (mg/Kg)	1. Ay	2. Ay
Kontrol (0)	32,5 ± 26,0	29,8 ± 25,1
0,5	18,8 ± 14,9	22,5 ± 9,8
1	12,5 ± 10,4	24,4 ± 21,4
2	20,0 ± 13,5	44,4 ± 13,9
4	16,3 ± 17,0	25,0 ± 25,0



Şekil 2. Melatonin doz gruplarına göre yavrularda aylık hayatta kalma oranları (%)

Figure 2. Monthly survival rates (%) in offspring according to melatonin dose groups

Melatoninin bağışıklık sistemi (toplam hemosit sayısı) üzerindeki etkisi

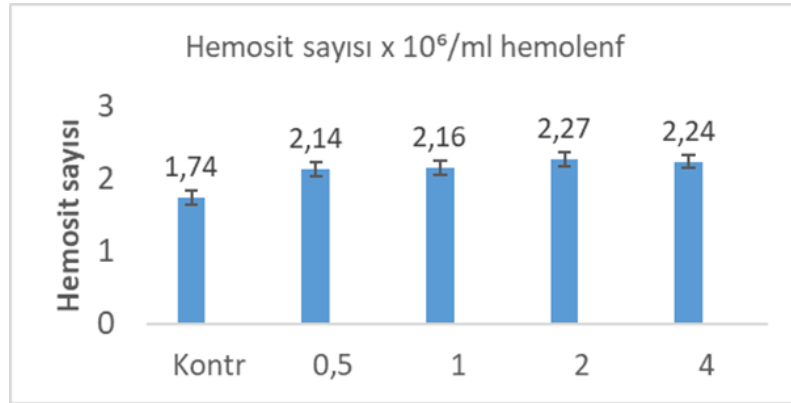
Deneme sonunda deneme gruplarında belirlenen

toplam hemosit sayıları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 3, Şekil 3).

Tablo 3. Gruplara göre hemolenfteki toplam hemosit değerleri ($\times 10^6$ hücre / ml)

Table 3. Total hemocyte values in hemolymph by groups ($\times 10^6$ cells / ml)

Melatonin Deneme Grupları (mg/kg)	Total Hemosit Sayıları $\bar{X} \pm SH$
Kontrol Grubu	1,74 \pm 0,34
0,5	2,14 \pm 0,39
1	2,16 \pm 0,73
2	2,27 \pm 0,49
4	2,24 \pm 1,06



Şekil 3. Deneme sonunda hemolenfteki total hemosit sayıları ($\times 10^6$ hücre/ml)

Figure 3. Total hemocyte counts in hemolymph at the end of the trial ($\times 10^6$ cells / ml)

Deneme süresince tespit edilen su kalitesi parametreleri

Deneme süresince su sıcaklığı, çözülmüş oksijen

ve pH günlük olarak, amonyak, nitrat ve nitrit miktarı haftada bir kez ölçülmüş ve ortalama değerler Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. Deneme boyunca tespit edilen su kalitesi parametreleri (Ortalama \pm SS)

Table 4. Water quality parameters during the trial (Mean \pm SD)

pH	Sıcaklık (C°)	Oksijen (mg/l)	NO ₃ -N (mg/l)	NO ₂ -N (mg/l)	NH ₄ -N (mg/l)
8,37 \pm 0,14	20,3 \pm 2,01	7,6 \pm 1,14	4,26 \pm 1,84	0,03 \pm 0,02	0,07 \pm 0,04

Tartışma ve Sonuç

Çalışmada yeme farklı dozlarda ilave edilen melatoninin, kerevit yavrularının deneme sonu final ağırlık ve total boyları üzerinde önemli bir etkisi bulunmamış olup gruplar arasında ortaya çıkan farkların istatistiki açıdan önemli olmadığı görülmüştür ($p > 0,05$). Singh vd. (2012) ise melatoninin nil tilapialarında 25 µg/L dozunda 3 hafta boyunca yetiştiricilik suyuna ilavesini takiben, spesifik gelişim oranı üzerinde baskılayıcı bir etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde, havuz balıklarında (*Carassius auratus*) da 10 µg/g vücut ağırlığı/g dozunda melatonin kullanımının vücut ağırlığında azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (López-Olmeda vd. 2006; De Pedro vd. 2008).

Kabuklulardaki doğuştan gelen immün sistem, enfeksiyöz mikroorganizmalara karşı temel savunma mekanizmasıdır. Bu sistem patojenler de dahil olmak üzere yabancı materyalleri tanımak, yok etmek için hızlı ve etkin bir sistemdir ve erken aşamada enfeksiyonları sınırlamaya yardımcı olan ilk savunma hattıdır. Bu savunma sisteminde kan hücreleri hemositler önemli bir rol oynamaktadır (Lee ve Söderhäll 2002). Hemolenfteki toplam hemosit sayısı (THC), diferansiyel hemosit sayısı (DHC), hemolenf pıhtılaşma süresi, bakteriyemi ve lizozomal membran stabilitesi bağışıklık tepkisinin göstergesi olarak değerlendirmek için araçlar olarak kullanılabilir (Sang ve Fotadar 2009). Hemositler kaya ıstakozlarında veya diğer ıstakozlarda stres veya sağlık durumunun değerlendirilmesinde yararlı araçlar olabilir (Jussila vd.1997).

Çalışmamızda, yeme melatonin ilavesinin kerevit yavrularında hemosit sayıları üzerinde önemli bir etkisi bulunmamıştır ($p > 0,05$). Buna karşın yengeçlerde (*Eriocheir sinensis*) de bağışıklık tepkisini güçlendirdiği bildirilmiştir (Zhang vd. 2018). Benzer şekilde, Randall vd. (1991), gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) melatoninin immün sistem ve özellikle hücrel bağışıklığı direkt ve indirekt yollarla etkilediğini belirtmişlerdir. Ayrıca yine melatoninin çipuralarda (*Sparus aurata*) bağışıklık ile ilgili genlerin (mainly IL-1b and IRF-1) olumlu yönde düzenlenmesini sağladığı bildirilmiştir (Cuesta vd. 2008). Çalışmada bağışıklık tepkisi ile ilgili sadece toplam hemosit sayısına bakılabilmektedir. Oysa bağışıklık tepkisinin diğer göstergeleri olan diferansiyel hemosit sayısı, hemolenf pıhtılaşma süresi, bakteriyemi ve lizozomal membran stabilitesi gibi immün sistem yanıtlarının da gelecek çalışmalarda ortaya çıkarılması yararlı olabilir.

Sonuç olarak, kerevit yavrularının (II-IV. dönem) yemlerine 0,5, 1, 2, 4 mg/kg oranında melatonin ilavesi yapılarak beslemenin ağırlık ve boy kazancı, hayatta kalma oranı ve bağışıklık tepkisi

(Total hemosit sayısı) üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı saptanmıştır. Özellikle gelişim ve sağ kalım üzerindeki etkilerinin ortaya çıkmasına engel olarak kerevitlerde görülen ve önemli bir sorun teşkil eden kanibalizmin rolünü düşündürmektedir. Bununla birlikte, gelecekte yapılacak çalışmalarda melatoninin kerevitlerde kısaç rejenerasyonu, sindirim enzim aktiviteleri, antioksidan kapasitesi ve biyoregülatör üzerindeki etkilerinin araştırılması yararlı olacaktır.

Teşekkür

Bu çalışmayı TAGEM/HAYSUD/2015/A11/P-01/3 proje numarası ile destekleyen Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'ne teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Agapito MT, Herrero B, Pablos MI, Miguel JL, Regio JM. 1995. Circadian rhythms of melatonin and serotonin-N-acetyltransferase activity in *Procambarus clarkii*. *Comp Biochem Physiol*. 112(1):179-185.
doi: 10.1016/0300-9629(95)00071-E
- Balık S. 1993. Tatlısu İstakozu Yetiştiriciliği, Doktora Ders Notları, Ege Üni. Su Ürün.Fak., İzmir
- Cuesta A, Cerezuola R, Esteban MÁ, Meseguer J. 2008. In vivo actions of melatonin on the innate immune parameters in the teleost fish gilthead seabream. *J Pineal Res*. 45(1):70-78.
doi: 10.1111/j.1600-079X.2008.00557.x
- De Pedro N, Martínez-Alvarez RM, Delgado MJ. 2008. Melatonin reduces body weight in goldfish (*Carassius auratus*): effects on metabolic resources and some feeding regulators. *J Pineal Res*. 45(1):32-39.
doi: 10.1111/j.1600-079X.2007.00553.x
- Evans LH. 2003. Pilot study of disease conditions in all potential rock lobster aquaculture species at different growth stages. UK: Curtin University of Technology. Project No: 1998/304.
- FAO 2019. Fao-Fishery Statistical Collections. Fisheries and aquaculture information and statistics branch; [Erişim Tarihi: 25 Ekim 2019. Erişim Adresi <http://www.fao.org/fishery/statistics/global-aquaculture-production/en>
- Fingerman M. 1997. Roles of neurotransmitters in regulating reproductive hormone release and gonadal maturation in decapod crustaceans. *Invertebr Reprod Dev*. 31(1-3):47-54.
doi: 10.1080/07924259.1997.9672562
- Harlioğlu MM, Kutluyer, F, Gür S. 2012. An investigation on the sperm number and reproductive parameters of males in wild caught freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus*, Eschscholtz). *Anim Biol*.62(4):409-418.
doi: 10.1163/157075612X638559
- Jussila J, Jago J, Tsvetnenko E, Dunstan B, Evans LH. 1997. Total and differential haemocyte counts in western rock lobsters (*Panulirus cygnus* George)

- under post-harvest stress. *Mar Freshwater Res.* 48(8):863-868.
doi: [10.1071/MF97216](https://doi.org/10.1071/MF97216)
- Kezuka H, Furukawa K, Aida K, Hantu I. 1988. Daily cycles in plasma melatonin levels under long or short photoperiod in common carp. (*Cyprinus carpio*). *Gen Comp Endocr.* 72(2):296-302.
doi: [10.1016/0016-6480\(88\)90212-2](https://doi.org/10.1016/0016-6480(88)90212-2)
- Kırım B, Bayir A, Sirkeçoğlu N, Aras NM. 2006. Balıklarda pineal bez ve melatonin hormonunun fonksiyonları. *EgeJFAS.* 23(1/1):105-107.
- Lee SY, Söderhäll K. 2002. Early events in crustacean innate immunity. *Fish Shellfish Immun.* 12(5):421-437.
doi: [10.1006/fsim.2002.0420](https://doi.org/10.1006/fsim.2002.0420)
- López-Olmeda JF, Madrid JA, Sánchez-Vázquez FJ. 2006. Melatonin effects on food intake and activity rhythms in two fish species with different activity patterns: Diurnal (goldfish) and nocturnal (tench). *Comp Biochem Phys A.* 144(2):180-187.
doi: [10.1016/j.cbpa.2006.02.031](https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.02.031)
- Mazlum Y. 2007. Stocking density affects the growth, survival, and cheliped injuries of third instars of narrow-clawed crayfish, *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823 juveniles. *Crustaceana.* 80(7):803-815.
doi: [10.1163/156854007781363114](https://doi.org/10.1163/156854007781363114)
- Mazlum Y, Yılmaz E, Genç MA, Guner Ö. 2011. A preliminary study on the use of mannan oligosaccharides (MOS) in freshwater crayfish, *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823 juvenile diets. *Aquacult Int.* 19:111-119.
doi: [10.1007/s10499-010-9345-4](https://doi.org/10.1007/s10499-010-9345-4)
- Miller JS, Stanley DW. 2000. Investigation an immune response to bacterial infection. In: Karcher, S.J. editör. 21st Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE). Lincon: University of Nebraska. p. 135-145.
- Özdamar K. 2011. Paket programlar ile istatistiksel veri analizi 1 (Vol. 1). Eskişehir: Kaan Kitabevi 603 s.
- Randall C, Thrush M, Bromage N. 1991. Absence of an endogenous component regulating melatonin secretion in the rainbow trout. In: Arent J, Pévet P, editors. *Advances in Pineal Research*, Vol. 5. London: John Libbey. p 279-81.
- Reddy PS, Pushpalatha T. 2007. Effect of serotonin on hemolymph glucose regulation in the fresh water edible crab, *Oziotelphusa senex senex*. *Aquaculture.* 266(1-4):274-278.
doi: [10.1016/j.aquaculture.2007.02.023](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.02.023)
- Sánchez-Vázquez FJ, Iigo M, Madrid JA, Zamora S, Tabata M. 1997. Daily cycles in plasma and ocular melatonin in demand-fed sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *J Comp Physiol B.* 167:409-415.
doi: [10.1007/s003600050090](https://doi.org/10.1007/s003600050090)
- Sang HM, Fotedar R. 2009. Dietary supplementation of mannan oligosaccharide improves the immune responses and survival of marron, *Cherax tenuimanus* (Smith, 1912) when challenged with different stressors. *Fish Shellfish Immun.* 27(2):341-348.
doi: [10.1016/j.fsi.2009.06.003](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.06.003)
- Sepici-Dinçel A, Alparslan ZN, Benli AÇK, Selvi M, Sarıkaya R, Özkul İA, Erkoç F. 2013. Hemolymph biochemical parameters reference intervals and total hemocyte counts of narrow clawed crayfish *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). *Ecol Indic.* 24:305-309.
doi: [10.1016/j.ecolind.2012.07.002](https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.07.002)
- Singh R, Singh AK, Tripathi M. 2012. Melatonin induced changes in specific growth rate, gonadal maturity, lipid and protein production in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758). *Asian Austral Anim.* 25(1):37-43.
doi: [10.5713/ajas.2011.11139](https://doi.org/10.5713/ajas.2011.11139)
- Tilden AR, Brauch R, Ball R, Janze AM, Ghaffari AH, Sweeney CT, Yurek JC, Cooper, RL. 2003. Modulatory effects of melatonin on behavior, hemolymph metabolites, and neurotransmitter release in crayfish. *Brain research.* 992(2), 252-262.
doi: [10.1016/j.brainres.2003.08.053](https://doi.org/10.1016/j.brainres.2003.08.053)
- TÜİK 2019. Su Ürünleri İstatistikleri; [Erişim Tarihi: 18 Ekim 2019]. Erişim Adresi <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=97&locale=tr>
- Ward RJS, MacChrohan CR, White KN. 2006. Influence of aqueous aluminium on the immune system of the freshwater crayfish *Pacifasticus leniusculus*. *Aquat Toxicol.* 77(2):222-228.
doi: [10.1016/j.aquatox.2005.12.006](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.12.006)
- Zhang C, Yang XZ, Xu MJ, Huang GY, Zhang Q, Cheng YX, He L, Ren HY. 2018. Melatonin promotes cheliped regeneration, digestive enzyme function, and immunity following autotomy in the chinese mitten Crab, *Eriocheir sinensis*. *Fron Physiol.* 9:269.
doi: [10.3389/fphys.2018.00269](https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00269)