

## Yemlerine Vitamin A ve E İlave Edilen Alabalıklarda (*Oncorhynchus mykiss*) Seminal Plazmanın Biyokimyasal Bileşiminin Saptanması

Handan GÜNDÜZ<sup>1</sup>

İbrahim DOĞAN<sup>2</sup>

Suat EKİN<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van Sağlık Yüksekokulu, VAN.

<sup>2</sup>Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, BURSA.

<sup>3</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, VAN

### ÖZET

Ülkemizde alabalık üretimi son yıllarda oldukça gelişme göstermiştir. Bozöyük ilçesinde bir alabalık işletmesinde gerçekleştirilen bu çalışmada 1 kontrol ve 6 deneme grubu kullanıldı. Deneme gruplarını; yemlerine 50, 100 ve 150 mg/kg vitamin E katılan 3 grup ile 50, 100, 150 mg/kg vitamin E'ye ilave olarak 15000 IU vitamin A eklenen diğer 3 grup oluşturdu. Böylece 7 farklı alabalık grubunda 2-3 yaşlı toplam 70 alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) materyal olarak kullanıldı. 60 gün beslendikten sonra sperm örnekleri alındı. Seminal plazmaları santrifüj yardımıyla çıkarıldı. Seminal plazmada glukoz, toplam lipid, kolesterol ve protein, inorganik P, Ca, vitamin C, E, A ve  $\beta$ -karoten analizleri yapıldı. Vitamin E, A ve  $\beta$ -karoten, vitamin ilave edilmiş gruplarda yüksek iken; vitamin C düzeyleri değişken olarak bulundu. Diğer metabolitlerde toplam protein hariç hafif yükselmeler saptandı. Bu çalışma ile alabalık seminal plazma değerleri literatüre sunulurken, yeme vitamin E ve A ilavelerinin seminal plazmayı, dolayısıyla sperm kalitesini olumlu yönde etkileyeceği bildirildi. Türkiye'de alabalık seminal plazmasının biyokimyasal bileşimi üzerine yapılan ilk çalışmadır.

**Anahtar Kelimeler:** Alabalık, seminal plazma, biyokimyasal parametreler, vitamin E, vitamin A

**The Biochemical Composition of Seminal Plasma of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fed with Vitamin A and E Added Diets.**

### SUMMARY

Recently the production of rainbow trout has been increased in Turkey. 70 rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) have been used as research materials in a fish farm near Bozöyük. They were divided into 7 groups. One was control, the next three was only vitamin E added group, which had 50, 100 150 mg/kg Vitamin E in their diet, the other three groups had same amounts of vitamin E and additional 15000 IU vitamin A into their diets. They were fed for 60 days and then sperm samples were taken, seminal plasma of trout were separated. They were analyzed for glucose, total lipid, cholesterol, protein, inorganic P, Ca,  $\beta$ -carotene vitamin C, E, A. The levels of vitamin E, A and  $\beta$ -carotene of seminal plasma were increased in vitamin added groups. Vitamin C levels were found changeable in groups. Except protein, other metabolites were also increased in vitamin added groups. The levels some biochemical components of rainbow trout seminal plasma were introduced to scientific literature. As conclusion the addition of vitamin A and E to the diets of rainbow trout could positively effects the sperm quality and the composition of seminal plasma. This was the first report in Turkey on the biochemical composition of seminal plasma of rainbow trout.

**Key Words:** Rainbow trout, seminal plasma, biochemical parameters, vitamin E, vitamin A

### GİRİŞ

Sperma, spermatogenezis neticesinde testislerde yapılan spermatozoalar ve ek cinsiyet bezlerinin salgılarından oluşmuştur. Hayvan türlerine göre sperma özellikleri farklılık göstermektedir. Renk, miktar ve yoğunluk bunlardan bazılarıdır (1). Tüm spermanın içinde önemli kimyasal maddeleri taşıyan seminal plazma ve spermatozoa gibi iki temel bölümü vardır (2). Spermatozoa birçok organelden mahrum olmasına rağmen metabolik olarak glikolizis, trikarboksilik asit siklusu,  $\beta$ -oksidasyon, elektron transport sistemi ve heksosmonofosfat geçidine ve bu reaksiyonlar için gerekli tüm enzimlere sahiptir. Anaerobik şartlarda glukoz, fruktoz ve mannozu laktik asite dönüştürür. Seminal plazmada temel olarak kullanılan şeker fruktozdur (3). Sperma lipidlerinin çoğu fosfolipitlerdir. İnsan ve farklı hayvan türlerindeki lipid düzeyleri değişkendir (4). Koç seminal plazmasında toplam lipid  $191 \pm 10$  mg/ml, kolesterol  $864 \pm 52$  mg/ml olarak bildirilmiştir (5).

Seminal plazmada farklı proteinler bulunur. Protein düzeyleri türlere göre % 3-7 g arasında değişir. İnsanlarda seminal plazmada 3,5-5,0 g/dl protein bulunur. Albumin, globulinler, glikoprotein ve transferrin toplam proteinleri oluşturur. Memeli seminal plazmalarında elektrolit düzeyleri

(Na, K, Ca, P) farklıdır (3). Na ile Ca seminal plazmada, K ve Mg ise spermatozoada fazladır (6). Elektrolit dengesi spermanın aerobik ve anaerobik metabolizması sırasında değişebilir (7). Seminal plazmada Ca iyonize küçük moleküller şeklinde asidik bileşiklerle bileşik ve proteine bağlı halde bulunur. Seminal plazmada bazı özel proteinler (CaBP) Ca düzeyinin ayarlanmasında önemlidir (7).

Bitki ve hayvansal dokularda yaygın olarak bulunan vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol) antioksidan göreve sahiptir. Uzun zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunu engeller. Deney hayvanlarında sterilite üzerinde etkileri de gösterilmiştir (7,8). Ayrıca vitamin E eksiklikleri; üreme bozuklukları, kas dejenerasyonları ve membran bozuklukları ile karakterizedir (8,9).

Retinol olarak tanınan A vitaminin eksikliği; gece körlüğüne, epitel dejenerasyonlarına, infertiliteye, anormal bağışıklık gibi bozukluklara neden olur. L-Askorbik asit (vitamin C) konnektif doku bütünlüğü için gereksinilen ve eksikliğinde skorbüt oluşturan bir vitamindir (10). Vitamin E, A ve C'nin spermada yapısal bütünlüğü koruma ve antioksidan görevleri bulunması neticesinde kryopreservasyonda da önemli rolleri vardır (11).

Gökkuşuğu alabalıkları (*Salmo gairdnerii*, *Oncorhynchus mykiss*) kültür balıkçılığında önemli pazara sahip olan ve suni tohumlama yöntemleri kullanılarak üretilebilen balıklardır. Cinsel olgunluğa erken yaşta ulaşırlar. Ülkemizin çeşitli yörelerinde gerek küçük ve gerekse büyük işletmeler halinde alabalık yetiştiriciliği yaygınlaştırılmıştır (12).

Sunulan çalışmada diyetlerine farklı miktarda E ve A vitamini katılan alabalıklarda seminal plazma bileşimini biyokimyasal olarak incelemek hedeflenmiştir.

## MATERYAL VE METOT

Araştırmada kullanılan gökkuşuğu alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*) Bozöyük civarında bir işletmeden alındı. Yaklaşık ağırlıkları 2-3 kg olan 3 yaşlı erkek alabalıkları 3x15x1 m boyutlarındaki havuzlarda özel diyetle beslendi. Balıklar 7 gruba ayrıldı. Tüm balıkların ana diyetinin bileşimi soya unu, soya fasulyesi, razmol, mısır gluteni, et-kemik unu, buğday gluteni, pelet-bağlayıcı, tuz, vitamin premixleri ve balık yağından oluşmuştu.

**Tablo 1-** Araştırmada kullanılan balıkların sayısı ve ilave edilen vitamin düzeyleri

Gruplar	n	E vitamini ilavesi (mg/kg)	A vitamini İlavesi (IU)	Besleme süresi (gün)
I Kontrol	11	-	-	60
II Deneme	10	50	-	60
III Deneme	13	50	15000	60
IV Deneme	7	100	-	60
V Deneme	7	100	15000	60
VI Deneme	10	150	-	60
VII Deneme	12	150	15000	60

Balıklar yemi 60 gün süreyle tükettiler. Diğer gruplara Tablo 1'de bildirilen düzeyde E ve A vitamini ilave edildi. Araştırma sonunda (60.gün) alabalıktan spermalar elle sağma yöntemiyle alınarak toplandı. Klinik santrifüj ile 1500 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edildi ve seminal plazmaları çıkarıldı.

Seminal plazma örneklerinde toplam protein; Biüret, Ca; Glioxal bis, toplam lipit; Kunkelin Fenol Reaktifi, inorganik P; Modifiye Younbourg, vitamin C; Dinitrofenilhidrazin, toplam kolesterol; Leffler, vitamin E; Martinek,  $\beta$ -karoten ve A vitamini; Carr-Price, glukozun ise Folin-Wu metoduna göre miktar tayinleri yapıldı (13).

## BULGULAR

Alabalıkların seminal plazmasında incelenen parametrelerin fazla olması nedeniyle bireysel analizler yapılamadı. 2-5 alabalığın seminal plazmaları birleştirildi, yani seminal plazma miktarı az olduğundan gruplarda denek sayısından daha az sayıda analiz gerçekleştirildi. Alabalık seminal plazma analizlerinin toplu sonuçları Tablo 2'de gösterildi.

Tablo 3 incelendiği zaman seminal plazma glukoz düzeylerinin % 44.4-52.1 mg arasında değiştiği ve gruplar arasındaki değişimin önemli boyutlarda olmadığı görülmektedir. Yalnız I. ve V. grupta diğerlerine göre % 2-8 mg'lık azlık söz konusudur. Benzer durum lipitlerde de saptandı. I. ve VII. grupta en düşük toplam lipit düzeyi saptanırken gruplardaki toplam lipit % 285.7-306.0 mg arasında hesaplandı. Toplam kolesterol VII., toplam protein II. ve V., inorganik P VII., Ca I., vitamin C VI., vitamin E ve vitamin A I. ve  $\beta$ -karoten VI. grupta en düşük olarak bulundu. Vitamin A ve E ilave edilen yemleri yiyen gruplarda seminal plazma vitamin düzeylerinin yüksek olması dikkati çeken bir noktadır.

Tablo 3'de ise alabalık seminal plazmalarının yapılan analizlerinde ortalama değerler sunuldu. Karşılaştırmada

istatistiksel analizlere başvurulmamış, elde edilen değerlerin tartışması Tablo 3 üzerinde yapılmıştır

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Son yıllarda bazı vitaminlerin su ürünlerinde immunostimulant madde olarak kullanılması konusunda oldukça fazla çalışma yapılmıştır (14,15). Antioksidan vitaminlerden olan E ve C üzerinde yoğunlaşma gözlenmiş ve gerçekten de bu vitaminlerin eksikliklerinde immunosupresyon saptanmış, hastalıklara direnç azalmıştır. Vitamin A hemeothermlerde özel immunolojik cevapta önemli etkilere sahiptir. Son yıllarda vitamin A'nın Atlantik salmonlarında (*Salmo solar L.*) humoral ve hücrel immuniteyi etkilediği gösterilmiştir. (16). Balıklarda diğer memelilerde vitamin A'nın denovo sentez kapasitesinin eksik olması nedeniyle diyetlerinde bulunması gerekmektedir. Genelde alabalık diyetlerine ya direkt vitamin A veya vitamin A ön-maddeleri olan karotinoidler ilave edilerek bu eksiklik giderilir. Zaten vahşi hayattaki salmonidlerin doğal diyetinde astaksantin adlı karotinoid bulunur. Bu salmonid etlerinin doğal renginin oluşmasında önemlidir (17,18) ve tüketicinin aradığı bir özelliktir.  $\beta$ -karotinoidler lipid peroksidasyonu sırasında açığa çıkan serbest oksijen radikallerinden kurtulma işlemlerinde görev yapar.

Balıklarda vitamin A eksikliğinde anemi, hepatik fibrozis gözlenirken (19), hipervitaminoz durumlarında büyümenin durması, embriyonik ölüm ve deformiteler oluşur (20). Balıklarda esterleşmiş retinoidler halinde karaciğer ile barsakta depo edilen vitamin A düzeyi yaş, cinsiyet, üreme durumu, diyet ve dış şartlara göre değişir (21). Alabalıklarda bir seferde elde edilen ejakulat hacmi 2-5 ml, bazen 5-10 ml arasında değişmektedir (22). Santrifüj işleminden sonra elde edilen seminal plazma hacmi de çok az olmaktadır. Bu nedenle sunulan çalışmada alabalıklara ait bireysel değerler tartışılmamıştır.

Tablo 2-Alabalık seminal plazma analizlerinin toplu sonuçları.

Grup	N	n	Glukoz (%mg)	T.Lipit (%mg)	T.Kolesterol (% mg)	T.Protein (% g)	İnorg.P (%mg)	Ca (mg/dl)	Vit.C (mg/dl)	Vit.E (% mg)	Vit.A (µg/dl)	β-karoten (µg/dl)
I		4	46,0	287	10	0,63	6,75	1,95	3,30	0,64	3,92	5,04
Kontrol	11	4	41,1	283	5	0,49	9,25	2,57	3,39	0,94	2,46	3,10
		3	47,3	288	15	0,51	7,00	2,39	3,61	0,69	4,30	4,70
		4	53,0	294	15	0,40	10,25	2,55	3,07	0,84	4,69	2,71
II E <sub>50</sub>	10	3	52,8	290	15	0,39	12,75	2,55	3,68	0,84	5,61	4,65
		3	50,5	287	10	0,39	10,25	2,39	3,61	0,80	5,20	6,71
		4	47,4	294	5	0,50	8,75	2,68	3,21	0,78	6,41	4,94
III E <sub>50+A</sub>	13	5	53,3	316	10	0,60	9,50	2,70	3,26	0,95	6,22	6,20
		4	52,2	308	10	0,58	9,00	2,57	3,66	0,84	5,84	6,10
		2	51,1	296	15	0,43	9,00	2,44	3,22	0,93	4,37	4,65
IV E <sub>100</sub>	7	2	41,9	294	15	0,40	10,75	2,57	2,77	0,92	4,32	4,94
		3	47,4	296	15	0,38	9,25	2,64	2,98	0,87	4,85	4,70
		2	44,7	300	15	0,43	8,75	2,63	3,61	0,94	5,06	6,71
V E <sub>100+A</sub>	7	2	43,7	294	10	0,37	9,00	3,15	3,26	0,98	6,72	6,10
		3	44,8	294	10	0,38	9,00	3,05	2,57	0,99	6,52	5,04
		4	49,3	294	15	0,50	9,00	2,11	2,59	0,95	3,01	2,71
VI E <sub>150</sub>	10	3	46,1	283	5	0,47	10,75	2,34	2,77	0,98	4,18	2,71
		3	45,9	283	10	0,49	8,75	2,55	3,43	0,89	4,74	3,90
		4	49,2	287	5	0,63	8,00	2,94	3,48	0,97	6,92	5,04
VII E <sub>150+A</sub>	12	4	46,7	287	5	0,60	4,50	2,42	3,09	1,00	7,14	4,94
		4	51,2	283	10	0,59	6,75	2,34	3,12	1,20	5,94	6,20

Tablo 3- Alabalık seminal plazma örneklerinde bazı biyokimyasal parametrelerin ortalama değerleri.

Grup	N	Glukoz (% mg) X	T.Lipit (% mg) X	T.Kolesterol (% mg) X	T.Protein (% g) X	İnorg.P (%mg) X	Ca (mg/dl) X	Vit.C (mg/dl) X	Vit.E (% mg) X	Vit.A (µg/dl) X	β-karoten (µg/dl) X
I Kontrol	11	44,8	286,0	10,0	0,54	7,66	2,30	3,43	0,76	3,56	4,28
II E <sub>50</sub>	10	52,1	290,3	13,3	0,39	11,08	2,50	3,45	0,83	5,17	4,69
III E <sub>50+A</sub>	13	50,96	306,0	8,3	0,56	9,08	2,65	3,38	0,86	6,16	5,75
IV E <sub>100</sub>	7	46,8	295,3	15,0	0,40	9,66	2,55	2,99	0,91	4,51	4,76
V E <sub>100+A</sub>	7	44,4	296,0	11,7	0,39	8,92	2,94	3,15	0,97	6,10	5,94
VI E <sub>150</sub>	10	47,1	286,7	10,0	0,49	9,42	2,33	2,93	0,94	3,98	3,11
VII E <sub>150+A</sub>	12	49,0	285,7	6,7	0,61	6,42	2,57	3,23	1,06	6,66	5,39

Seminal plazmada 10 değişik biyokimyasal parametre analiz edildiğinden, 3-4 alabalık seminal plazmaları birleştirilmiş ve bir seminal plazma gibi değerlendirilmiştir. (Tablo 2). Böylece her gruptan 3'er numunenin analizleri yapılmıştır. Ortalama değerler Tablo 3'de sunulmuştur.

Yapılan literatür taramalarından incelenen birçok metabolitin seminal plazmadaki normal düzeylerini saptamak mümkün olmamıştır. Bu nedenle vitamin A ve E ilave edilmemiş I. gruptaki değerler temel alınıp, değerlendirmeler yapılmıştır. Glukoz düzeyleri V. grup hariç diğer gruplarda I.gruba göre yüksek olarak bulunmuştur. Toplam lipid düzeyi tüm gruplarda, VII. grup hariç, I. gruba göre daha yüksek olarak tespit edilmiştir. Genelde yemlerine ilave olarak vitamin E + A birlikte verilen gruplarda daha üst değerler saptanmıştır.

Toplam kolesterol düzeyi, VII .grup hariç tüm gruplarda yükselirken, VI. grupta I. grup ile aynı düzey bulunmuştur (% 10 mg). Toplam protein düzeylerinde III. ve VII. grup hariç tüm gruplarda azalma hesaplanırken, inorganik P düzeyi VII. grup hariç tüm gruplarda I.gruba göre yüksek olarak tespit edilmiştir. Buna karşın seminalplazma Ca düzeyi tüm gruplarda kontrollere göre yükselmiştir.

Alabalık spermatozoası piruvatı asetattan daha hızlı okside eder. Asetat yağ asitlerinden gelir. Balıklardaki temel fosfolipid ise poligliserofosfattır (4).

Alabalıklarda mevsime göre seminal plazma askorbik asit düzeyi değişmekte olup eksikliği semen kalitesini etkilemektedir. Sperm miktarı ve motilite azalmakta, vitamin C'nin erkek balık üreme sistemini etkilediği bildirilmektedir. (23). Sunulan çalışmada seminal plazma vitamin C düzeyi % 2,93-3,45 mg arasında değişmektedir. En düşük düzey VI. grupta saptanmıştır. (Tablo 3)

Antioksidan vitaminlerinden önemli bir tanesi olan vitamin E I. grup hariç diğer tüm grupların yemi farklı düzeylerde (50-100-150 mg/kg) katılmıştır. Ayrıca vitamin A ilave edilen gruplarda (III-V-VII), sadece vitamin E ilave edilenlere (II-IV-VI) göre seminal plazmadaki vitamin E düzeyleri daha yüksek olarak saptanmıştır. Yeme ilave edilen vitamin E düzeylerine göre seminal plazma vitamin E miktarları da artmıştır. II-IV ve VI. grupta sırasıyla % 0.83-0.91-0.94 mg olarak bulunurken III-V-VII. grupta % 0.86-0.97 ve 1.06 mg vitamin E düzeyleri ölçülmüştür.

Seminal plazma vitamin A ve  $\beta$ -karoten düzeyleri vitamin A ilave edilen gruplarda diğerlerine göre daha yüksek olarak saptanmıştır (Tablo 3)

Balıklarda vitamin A eksikliğinde spermatolojik aktivite azalırken testislerde atrofi gözlenmiştir. Vitamin A eksikliği olan ratlarda vitamin A'nın alkol, aldehit veya asit formlarından herhangi birinin diyetle ilave edilmesi de benzer şekilde spermatogenezisi uyarmıştır. Retinol formu eksikliğinde sperma preleptoten spermatozoid basamağından ileri gidemez. Ayrıca siçanların testisinden özel bir retinal bağlayıcı protein izole edilmiştir. Spermatozoiddeki vitamin A düzeyi tavşanlarda 2.68 mg/10<sup>8</sup> olarak bulunurken, boğada genelde akrozoma yerleşen vitamin A miktarı 224-364 ng/10<sup>9</sup> sperm hücresi, düzeyinde saptanmıştır(4).

Bu çalışma ile ülkemizde balık seminal plazmasında bazı biyokimyasal parametreler ile ilgili eksiklik giderilmeye çalışılmış, literatüre ilk normal değerler sunularak öncül bir adım atılmak istenmiştir. Ayrıca diyetlerine vitamin A ve E ilave edilen alabalıkların seminal plazmalarında bu ilavenin

yansımaları saptanarak vitamin veya diyetle ilgili eksiklikle oluşan üreme bozukluklarında yeme direkt olarak vitamin ilavesinin yapılabileceği ispatlanmıştır. Alabalık yetiştiricilerinin karşılaşılabileceği sorunlara yardım edilmiştir.

## KAYNAKLAR

**1-Mann T. (1954):** The Biochemistry of Semen, Methuen, London, 218-342.

**2-Özkoca A. (1984):** Çiftlik Hayvanlarında Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama, İst. Üni. Vet. Fak. Yayın No:3209.

**3-Hafez E.S.E. (1980):** Reproduction in Farm Animals. 4<sup>th</sup> Ed. Philadelphia, 186-201.

**4-Mann T., Lutwak-Mann. C. (1981):** Male Reproductive Function And Semen, Springer-Verlag, New York, 286-295.5-Rao B.R., Chauhan B.M., Jiram B.T., andey J.N. (1985): Studies on the lipid fraction from ram sperm, Ind. Vet. J. 62 (1). 84-85.

**6-Cragle R.G., Salisburg G.M., Van Demark N.L. (1958):** Sodium, potassium, calcium and chloride distribution in bovine semen. J. Dairy Sci. 41, 1267-1272.

**7-Lukac J., Pribanic M., Koren E. (1976):** Calcium-binding protein in bull seminal vesicle secretion and seminal plasma, J. Reprod. Fert. 48,77-81.

**8-Jenkins K.J., Hidiroglou M. (1972):** A review of selenium-vitamin E responsive problems in livestock, Canad. Anim. Sci. 52,591-620.

**9-Lewis K. (1978):** Effects of vitamin E on the immune response of sheep, horses and guinea pig, Thesis, Colorado State University.

**10-Mert N., Bildik A., Dede S., Ertekin A. (2000):** Biyokimya, Y.Y.Ü. Vet. Fak. Yayın No:1.

**11-Smirnov I.V., Davidenko V.M., Shin Karenko I.S., Ignotenko D.T. (1978):** The effects of some physical and biological factors an freezing of ram semen, Anim. Breed. Abstr, 46,9,443.

**12-Erençin Z. (1977):** Kültür Balıkçılığı, Ank. Üniv. Vet. Fak. Yayın No:330, Ank. Üniv. Basımevi

**13-Mert N. (1996):** Veteriner Klinik Biyokimya, U. Üniv. Güç. Vakfı Yayın 12, Bursa.

**14-Blazer V.S. (1992):** Nutrition and Disease Resistance in Fish, Annu. Rev. Fish. Dis. 2:309-323.

**15-Anderson D.P.(1992):** Immunostimulants, adjuvants and vaccine carriers in fish, applications to aquaculture, Anna. Rev. Fish. Dis. 2, 281-307.

**16-Thompson I., Fletcher T.C., Haulihan D.F., Secambes V.J. (1994):** Effect of dietary vitamin A intake on the immunocompetence of Atlantic Salmon (Salmo salar L.) Fish. Physiol. Biochem, 12, 513-523.

**17-Simpson K.I, Katayama T., Chichester C.O. (1981):** Carotinoids as Colorants and Vitamin A Precursors, Academic Press. New York. NY. Pp 463-538.

**18-Schiedt K, Leuenberger F.J. Vecchi M, Glinz E.(1985):** Absorption, retention and metabolic transformations of carotinoids in Rainbow Trout, Salmon and Chicken Pure Appl. Chem. 57, 685-692.

**19-Taveekijakarn P., Miyazaki T., Matsumoto M., Arai S. (1994):** Vitamin A deficiency in Cherry Salmon, J. Aquat. An. Health, 6, 251-259.

**20-Hilton J.W. (1983):** Hypervitaminosis A in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) toxicity signs and maximum tolerable levels, *J. Nutr.* 113, 1737-1745.

**21-Higashi H. (1961):** Vitamins in fish with special reference to edible parts. In; Borgstram G (editor). *Fish as Food*. Vol I, New York. Academic Press, 411-486.

**22-Fredrich F, Wieczoree L. (1981):** Studies of semen of the Rainbow Trout (*Salmo gairdneri* Rich) 1. Methods for

measuring basic semen parameters, *Zeitschrift für die Binnenfisherei der DDR.* 28 (2), 48-51.

**23-Ciereszko A, Dobrowski K. (1995):** Sperm quality and ascorbic acid concentration in Rainbow Trout semen are affected by dietary vitamin C, *Across-season Study, Biology of Reproduction* 52 (5), 982-988.