



Kültür Balıklarında Sperm Kalitesi: Kalite Parametrelerinin Ölçümü ve Kaliteyi Etkileyen Faktörler

İlhan AYDIN

Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Cumhuriyet Mah. Vali Adil Yazar Cad.
Kaşüstü Beldesi, Yomra-Trabzon, Tel:+90462 341 10 53, E-mail: ilhan61@gmail.com

Geliş tarihi : 10.12.2010

Kabul tarihi: 24.02.2011

Giriş

Balık yetiştiriciliğinde döllenme başarısı ve larvaların yaşaması yumurtaların ve spermelerin her ikisinin kalitesi tarafından belirlenmektedir. Ancak yetiştiriciler yumurta kalitesine daha fazla odaklanmaktadır (Rurangwa vd., 2004). İyi bir döllenme kaliteli yumurta ve sperm ile gerçekleşmektedir. Oluşan embriyonun kalitesine her iki gametin etkisi bulunmaktadır. Bununla birlikte bazen eksik şekilde embriyo kalitesi sadece yumurta kalitesi olarak ifade edilebilmektedir (Rideout vd., 2004).

Yetiştiricilikte başarıyı etkileyen önemli faktörlerin başında balıkların ürettikleri sperm hacimsel olarak miktarı, yoğunluğu ve canlılığını da içeren özellikleri gelir. Bu özellikler türler arasında büyük farklılıklar göstermektedir. Balıklarda sperm kalitesi ve fizyolojisi ile ilgili konularda fikir sahibi olmak için sperm testis yada üreme sistemi içinde olduğunda (invivo durumu) ve elde edilmesinden sonraki dönemde saklanma, seyreltilme ve dölleme (invitro durumu) gibi konularda detaylı bilgilere ulaşılması önemlidir (Billard vd., 1995).

Balık yetiştiriciliğinde sperm kalitesinin tespitinde sperm miktarı, rengi, sperm yoğunluğu (spermatozoa adet/ml), spermatokrit oranı, pH'si gibi kriterler kullanılsa da en yaygın olarak kullanılan sperm motilitesidir (Okumuş, 2005).

Sperm kalitesi balıklara uygulanan besleme rejimi, yem kalitesi ve erkek balıkların büyütülme sıcaklığı, gibi birçok dış etkene bağlı olarak

değişmektedir. Ayrıca, genel olarak ifade edilecek olursa sperm kalitesi yumurta kalitesine göre yetiştiricilik uygulamalarındaki ve çevre şartlarındaki değişimle daha az ilişkilidir (Pavlov vd., 2004).

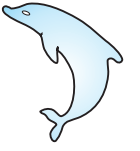
Spermler *invivo* koşullarda *invitro* koşullardan daha uzun süre canlı kalırlar. Sperm kalitesindeki değişkenlik farklı erkekler arasında gözlenebildiği gibi aynı birey için de gözlenebilir (Billard vd., 1995). Sperm oksijen takviyesi ile +4°C'de kısa süreli saklanabilir gibi seyrelticiler ve koruyucular kullanılarak uzun süre dondurularak saklanabilmektedirler.

Sperm kalitesi sperm yumurtayı başarılı bir şekilde dölleyebilmesi olarak ifade edilmektedir. Sperm kalitesinin belirlenmesinde, sperm dölleme kapasitesi ile ilişkili olan ve ölçülebilen özelliklerin kullanılabilme imkânı vardır (Rurangwa vd., 2004).

Balık Sperminin Genel Özellikleri

Dış döllenme görülen balıklarda sperm boşaltıldıklarında aktif değildir. Spermatozoa su içine bırakıldığında hareketli ve metabolik olarak aktif hale gelir. Tatlı su balıklarının birçoğunun spermatozoaları 2 dakikadan daha az süre hareketli kalırlar. Mersin balıklarında durum daha farklıdır. Mersin sperm akrosom denem yumurtaya giriş esnasında enzim üreten bir kısma sahiptirler (Rurangwa vd., 2004).





Sperm Kalitesinin Ölçülmesi

Balıklarda sperm kalitesinin ölçülmesine suni dölleme, spermin muhafazası ve çevresel kirleticilerin üremeye etkisi konularının incelenmesi için ihtiyaç duyulmaktadır. Muhtemel kalitesiz spermelerin olumsuz etkilerinden kurtulmak için bir yumurta grubuna iki farklı damızlık erkek kullanmak çözüm olarak görülmektedir (Okumuş, 2005).

Dölleme Kapasitesi

Direkt olmayan sperm kalitesi belirleme yöntemlerinden biri olan dölleme kapasitesi yumurtaların kalitelerinin standart olmayış-larından dolayı her zaman güvenilir sonuçlar vermeyebilir. Bunun yanında bazı türlerde yumurta alımı ile sperm alım dönemleri örtüşmeyebilir. Ayrıca sperm ile yumurta yoğunluğu, yumurta ile spermin muamele süresi ve dölleme yöntemi dölleme başarısını etkilemektedir. Üretim için optimum sperm yumurta yoğunluğu tercih edilirken deneysel olarak sperm kalitesinin ortaya koyulabilmesi için minimum sperm miktarı kullanılmalıdır. Diğer sperm kalite ölçütlerinin dölleme kapasitesi deneyleri ile test edilmesi önerilir (Rurangwa vd., 2004).

Spermatokrit ve Sperm Yoğunluğu

Seminal sıvı içindeki sperm konsantrasyonu sperm kalitesinin belirlenmesinde kullanılan geleneksel yöntemlerdendir. Sperm yoğunluğu (sperm hücresi/ml) belirlenmesinde hemasito-metre kullanılarak spermatozoaların sayılması ile gerçekleştirilir (Büyükhatipoğlu ve Holtz 1984). Bu metot oldukça fazla zaman alır. Sütün santrifüj edilerek beyaz kısmının hacmi ile bütünü hacmi oranlanması ile elde edilen spermatokrit oranı ve spektrofotometre ile sperm yoğunluğu hızlı bir şekilde belirlenmektedir. Sperm yoğunluğu ile spermatokrit oranı veya optik yoğunluk arasında direkt ilişki bazı türlerde belirlenmiştir (Suquet vd., 1998).

Seminal Plazmanın İçeriği

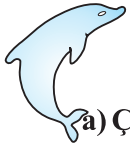
Balık sperminin kompozisyonu ile ilgili özellikle salmonlar ve sazanlarda yapılan çalışmalar 1980'lerde başlamıştır. Plazma analizleri; Sperm motilitesinin aktivasyonu yâda inhibasyonu açısından K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} gibi inorganikleri, Trigliserid, gliserol, yağ asitleri, glukoz, laktat gibi enerji metabolizmasının göstergeleri olarak organik içerikleri ve bazı enzimleri kapsamaktadır. Bu tür çalışmalar ile tüm sütün kalitesi ile ilgili fikir sahibi olursa da her bir spermatozoanın dölleme yeteneğini ortaya koymamaktadır (Rurangwa vd., 2004).

Sperm Morfolojisi

Spermin morfolojisi az sayıda türde çalışılmıştır. Kemikli balıkların haricindeki Agnatnalar ve Rus mersini gibi balıkların spermelerinin uç kısmında akrosom denilen yapılar mevcuttur. Lebistes balığında kompleks morfogenetik değişimden sonra son şekli uzun, Salmonidler, Tilapia, Kefal ve Kalkan gibi birçok türde baş kısmında lateral olarak bağlanmış flagellum ile çok primitiftir. Çekirdek oldukça polimorfik, filiform, küresel veya yaprak şeklindedir. Histonların yerini protominlerin aldığı Alabalık spermünde kromatin oldukça yoğundur. Orta parçacık lebisteslerde iyi gelişmiş ve Salmonid, Cyprinid, Kefal ve Kalkan spermünde daha küçüktür. Ekseriyetle, çekirdeğin posterior kısmında yer alır, fakat bazen anterior kısmında da bulunur (Billard vd., 1995).

Sperm Motilitesi

Spermin kalitesinin belirlenmesinde kullanılan en yaygın yöntemdir. Önceleri spermelerin canlı kalma süreleri göz önüne alınırken son zamanlarda canlı kalanların yüzdeleri ve aldıkları yol (velocity, $\mu m/s$) değerlen-dirilmektedir. Bu yöntem üç değişik şekilde uygulanmaktadır. Bunlar:



a) Çıplak göz ile mikroskopta değerlendirme:

Yaygın ve geleneksel olarak uygulanmaktadır. 1:1000 oranında seyreltilen sperm mikroskopta x10, x20 veya x40 büyütmelemler ile incelenmektedir. Uygulayıcının tecrübesine dayalı olması nedeni ile göreceli sonuçlar verebilmekte ve çalışmalar arasında farklılıklar gözlenmektedir. İstatistiksel değerlendirme imkânı zayıftır. Bu yöntemde ölçütler oluşturulmaktadır. Canlılık oranı yüzde (%) olarak, hareketliliğin durumu ise, 1, 2, 3, 4, 5 gibi rakamlar ile veya +/- gibi karakterler kullanılarak yapılmaktadır. Liu vd., (2006) tarafından mersin balıklarında aşağıdaki gibi kategorik değerlendirme yapılmıştır.

1- Ani ve oldukça hızlı hareket (++++): Spermeler çok hızlı olduğundan hareket yolları takip edilemez. 2- Hızlı hareket (+++): Spermeler hızlı bununla birlikte hareket yolları izlenebilir. 3- Yavaş hareket (++) : Sperm hareketleri yavaş. 4- Titreme (+): Spermeler ileri doğru hareket etmez, fakat kuyruğu sağa sola hareket eder. 5- Durgunluk (-): Spermelerin çoğu herhangi bir hareket göstermez. Görüntü alanındaki aktif spermelerin oranları ise yüzde (%) olarak ifade edilmiştir. Bunun yanında kalkan balığında aktivasyondan 10 saniye ve 60 saniye sonra değerlendirme yapılmış ve ileri doğru hareketli hücrelerin toplam hücreye oranına göre 6 gruba ayırarak incelenmiştir. Tamamen hareketsizler 1, %0 ile %20 arası 2, %20 ile %40 arası 3, %40 ile %60 arası 4, %60 ile %80 arası 5, %80 ile %100 arası hareketliler 6 olarak numaralandırılmıştır (Dreanno vd., 1997).

b) Video kayıt sistemi ile değerlendirme:

Sperm hareketlerinin mikroskopta üzerinde video kaydı yapılır. Bu kayıt daha sonra araştırmacılar tarafından gözlenir. Nispeten neseldir. Kalkan balığında aktivasyondan 10 saniye ve 60 saniye sonra video kayıt sistemi kullanarak 5 kişi tarafından değerlendirme yapılmış ve ileri doğru hareketli hücrelerin toplam hücreye oranına göre 0'dan 5'e kadar 6 gruba ayırarak incelenmiştir. Tamamen hareketsiz 0, hepsi hareketli 5 olarak kategorize edilmiştir (Suquet vd., 1998).

c) Bilgisayar destekli sistemler:

Son yıllarda bilgisayar ile desteklenen kamera sistemleri ile spermelerin hareketli kalma süreleri, aldıkları yol yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Lahnsteiner vd., (1996) bilgisayar destekli analiz sistemlerini (CASA) kullanarak spermeleri aldıkları yola göre hareketsiz (<5 µm/s), oldukları yerde hareketli (5-20 µm/s) ve tam hareketli (>20 µm/s) olarak tasnif etmiştir. Ayrıca yüzme şekillerine göre de doğrusal, doğrusal olmayan ve dairesel olarak ayırmıştır.

Sperm Aktivasyon Ortamı

Sperm aktivasyon ortamı olarak genellikle tatlı su balıklarında tatlı su deniz balıklarında ise üredikleri tuzluluktaki deniz suyu kullanılmaktadır. Bunun yanında deniz balıklarında sperm hipertonik ortam ile seyreltilmesi ile sperm hareketliliği başlamaktadır. Kalkan balığında ise hipertonik ve izotonik ortamlarda sperm hareketliliği başlamaktadır. Ancak izotonik ortamlardaki hareketli kalma süresi daha kısadır (Pavlov vd., 2004). Mersin balıklarının yumurtalarında birden çok mikrofil deliği bulunduğu için dölleme için sperm 1:200 oranında kuluçka suyu ile seyreltilerek kullanılmaktadır (Mohler, 2003).

Spermin hareketliliği, dölleme kabiliyeti ve hareket mesafesi aktivasyon ortamının sıcaklığına bağlıdır. Spermatozoanın enerji kaynağı sınırlıdır ve içinde yüzdüğü ortamın sıcaklığının artması ile hızı artmakta buda hareketli kalma süresini azaltmaktadır. Bunun tersine düşük sıcaklık hareket hızını azaltmakta canlı kalma süresini artırmaktadır. Osmotik basınç, iyonik kompozisyon ve pH spermin aktivasyonunu belirleyen en önemli faktörlerdir. Deniz balıklarının spermelerinin hareketliliği tatlı su balıklarına göre daha geniş bir osmotik basınç değişim sınırları içinde meydana gelir. Sperm hareketliliğinin başlangıcını stimüle ettiği bilinen en iyi faktör osmotik basınçtaki değişimlerdir. Bununla beraber, bazı deniz balıklarının spermelerinin hareketliliğinin başlatılmasında osmotik basınçtan başka faktörlerde rol oynayabilir (Chambeyron ve Zohar, 1990).





Sperm Kalitesini Etkileyen Faktörler

Yetiştiricilik ünitelerinde, sperm kalitesini etkileyen biyotik ve abiyotik faktörler genetik, fizyolojik ve çevresel faktörlerin etkileşimine bağlıdır. Kuluçkahanelerde sperm kalitesinin objektif olarak değerlendirilmesi ile damızlık erkeklerin uygun şartlarda beslenmesi, sağımı ve spermin döllemeye kadar geçen sürede bekletilmelerini sağlayacak koşulların değerlendirilmesi sağlanabilir. Kültür şartlarında balıklar doğal şartlardan daha yoğun şartlarda stres altında veya olumsuz çevre koşullarına maruz kalmaktadır. Bu da balıkların hastalanmasına ve antibiyotik kullanımını gerektirebilmektedir. Ayrıca ticari fayda sağlamak için balıklar kısa sürede pazara boyuna ulaşabilmeleri için hızlı büyümeleri yönünden seleksiyona uğramaktadır. Bütün bunlar damızlık erkeklerin en iyi kalite ve miktarda sperm üretmelerini garanti etmez. Başarılı bir dölleme için kuluçkahane üretilen spermin kalitesinin iyi olması oldukça ehemmiyetlidir. Sperm, yetiştiricilik şartlarından veya sağım ve döllemeye kadar olan sürede *in vivo* şaklama koşullarından etkilenebilir. Karmaşık gözükten sperm kalitesi objektif olarak belirlenirse döllemeyi etkileyen birçok faktörün çözümünü sağlayabilir (Rurangwa vd., 2004).

Damızlık ve Damızlık Yönetiminin Etkileri

Balıkların ürettikleri sperm kalite ve miktarı yönünden türler arasında farklılık göstermektedir. Mevsimsel üreme rejimine sahip olan balıklarda toplam üretim, spermlerin bırakılmaya başlanmasından hemen önce testislerde bulunan miktardır. Yılan balıklarından semen çok zor elde edilmektedir (Asturiano vd., 2001), kalkan sarıkuyruk ve pisi balığından yetiştiricilik şartlarında çok az hacimde (Suquet vd., 2000) (bir kaç ml kadar) sperm elde edilmektedir. Gökkuşuğu alabalığında ise 19.6 ml (Tekin vd., 2007), Sibirya mersininde ise 295 ml'ye kadar (Glogowski vd., 2002) ulaşmaktadır. Bununla birlikte balıkların ilk üreme yaşları türler arasında farklılık göstermektedir. Alabalıklarda 1+'da görülen üreme kalkan balıklarında 2+'da mersin balıklarında 5-9+ arasında değişmektedir. Bu

durum pazar boyundan önce cinsi olgunluğa gelen türlerde büyümenin yavaşlaması ile ilgili sorun oluşturmaktadır. Ancak döl alımı ilgili sorun ileri yaşlarda cinsi olgunluk görülen türlerde önem kazanmaktadır. Damızlık erkek balığın yaşı sperm kalitesini önemli derecede etkilemektedir (Vuthiphandchai ve Zohar, 1999). Üreme yaşının yanında üreme sezonunda sperm kalitesini etkileyebilmektedir. Kalkan balıklarında yapılan bir çalışmada üretim sezonun başında ve sonundaki spermlerin kalitesinin sezon ortasındaki kaliteden daha düşük olduğunu göstermektedir (Suquet vd., 1998).

Damızlıkların iyi beslenmesi gamet kalitesini arttırmaktadır. Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) bakımından zenginleştirilmiş diyet ile beslenen erkek deniz levreklerinin üreme performanslarını arttırmaktadır (Astuarino vd., 2001). Balık yağı ile zenginleştirilmiş yemle beslenen çipuralar kontrol gruplarına göre daha uzun spermasyon dönemine sergilemekte, daha fazla süt üretmekte ve spermatozoa konsantrasyonları daha yüksek olmaktadır. Bu süt ile döllenen yumurtalardan elde edilen embriyoların yaşam oranları yüksek olmaktadır (Rurangwa vd., 2004). Alabalıklarda ise E vitaminin yeme ilave edilmesi sperm konsantrasyonunu spermatokrit oranını ve sperm motilitesini arttırmaktadır (Canyurt ve Akhan, 2008). Rus mersinin spermlerinin muhafazası için askorbik asit ilavesi spermlerin canlılığı üzerinde olumlu etki yapmıştır (Mirzoyan vd., 2006). Damızlıkların tutuldukları sıcaklığın da sperm motilitisi üzerinde etkileri vardır. Sibirya mersinleri 10°C tutuldukları zaman sperm motiliteleri 17.5°C' de tutuldukları zamankinden daha düşük olmaktadır (Williot vd., 2000).

Döl alınan birçok balık türünde ya sperm alabilmek için yâda sperm miktarını arttırmak için hormon kullanımı yaygın olarak yapılmaktadır. Ayrıca ileri yaşlarda erkek cinsiyeti gösteren türlerde erken yaşta erkek birey elde edip süt üretmek için hormon kullanılmaktadır. Sibirya mersininde sazan pituitary ekstaktı (2mg/kg) dozunda (Billard vd., 1999), Çin mersininde LHRH-a ve HCG (Liu vd., 2006), kalkan balığında ise HCG ve WSPG (Çiftçi vd., 2002) kullanılmaktadır.



Doğrudan Etki Eden Faktörler

Sağım esnasındaki süte üre bulaşması birçok türde spermin hareketini istenmeyen şekilde doğal olarak başlatabilmektedir. Üre bulaşması sazanlarda spermin enerji seviyesine ve hareketliliğini azaltmaktadır. Genel olarak süte üre karışması spermin kalitesini düşürmektedir. Bunu önlemek için testisleri ameliyat ile sıkılması veya kateter ile spermin alınması sağlanmaktadır (Rurangwa vd., 2004). Salmonidlerin yumurta sıvılarının pH'ları sperm motilitisini etkilemektedir. Ovaryum sıvısının pH'sı 7.2 den 8.6 doğru arttıkça sperm motilitisi artmakta, hareketli kalma süresi uzamakta ve hızları artmaktadır (Wojtczak vd., 2007).

Spermin Saklanması Etkili Olan Faktörler

Kısa süreli muhafaza: Balıklar çoğu kez sağlıklı ve sperm vücut dışında kısa bir süre için muhafaza edilir. Sperm yaşama oranı türler, bireyler arasında ve aynı bireyde zamanla oldukça değişkendir. Salmonidlerde, sperm laboratuvar şartlarında tamamen orijinal sperm sıvısı içerisinde 14°C'lerde bir gün veya birkaç gün yaşarlar. Bu süre antibiyotikler ve oksijen ilave edilerek birkaç haftadan 1 aya kadar uzatılabilir. Benzer sonuçlar orfoz ve sazan spermeleri içinde bildirilmiştir, fakat sperm kalitesinde geniş bir varyasyon söz konusudur (Billard vd., 1995). Atlantik mersinlerinin *Acipenser oxyrinchus oxyrinchus* spermeleri su ile temas etmeden alınır soğuk zincire dikkat edilerek, güneş ışınlarından korunarak

saklanır ve günlük oksijenlendirme yapılırsa 5 gün süre ile saklanabilir (Mohler, 2003).

Uzun süreli muhafaza: Spermelerin ömürlerini uzatıcı kimyasal bileşikler, soğuk koruyucular, seyreltme oranı, dondurma ve tekrar çözme oranları ve dölleme için sulandırıcılar gibi çok sayıda parametrenin dikkate alınması gerekir. Ömür uzatıcılar ekseriyetle tuzlu veya sukroz solüsyonlarına dayanır ve içerisine ilave edilen çeşitli bileşikler (süt, proteinler, amino asitler, yumurta sarısı) devinimi inhibe eder. Yaygın olarak kullanılan ultra soğuk koruyucular DMSO (%7-10) gliserol (%20'ye kadar), metanol (%15) etilen glisol (%7) ve propandrol (%7-10). Seyreltme oranı oldukça değişkendir, bir hacim semen 3-10 hacim seyreltici ile sulandırılır. Ekseriyetle dengelenme süresi tanınmaz. Dondurma pelet buzda veya sıvı azot buharında sperm sıvısı içerisinde sıcaklık -70°C'ye ulaşıncaya kadar dakikada 10-45°C sıcaklık oranında gerçekleştirilir. Çözme veya eritme oranı hızlı olmalı ve pelet 30-40°C sıcaklığa sahip su banyosunda 10-15 sn tutulur ve bundan sonra spermeler direkt olarak daha önceden dölleme sıvısı (aktivasyon solüsyonu) ile karıştırılmış yumurtaların üzerine ilave edilir (Billard vd., 1995). Kalkan balığında sperm yumurta oranı 40ml yumurta: 0.25ml sperm olduğu durumlarda taze ve donmuş sperm oranları arasında dölleme ve çıkış oranı açısından fark bulunmamaktadır. Sperm yumurta oranı az olduğu durumlarda donmuş sperm ile yapılan dölleme ile taze sperm ile yapılan dölleme arasında önemli fark oluşmaktadır (Chen vd., 2004).

Kaynaklar

- Astuarino, J.F., Sorbera, L.A., Carrillo, M., Zanuy, S., Ramos, J., Navarro, J.C. ve Bromage, N. 2001. Reproductive performance in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed two PUFA-enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet. *Aquaculture*, 194: 173-190.
- Billard, R., Cosson, J., Crim, L.W. ve Suquet, M. 1995. Sperm physiology ve quality. N. Bromage., R. Roberts, (eds.), *Broodstock Management ve Egg and Larval Quality*. Blackwell, Oxford, pp. 25-52.
- Büyükhatoğlu, B. ve Holtz, W. 1984. Sperm output in rainbow trout-effect of age, timing ve frequency of stripping and presence of females, *Aquaculture*, 37: 63-71.
- Canyurt, M. A. ve Akhan S. 2008. Effect of dietary vitamin E on the sperm quality of rainbow trout (*Onchorynchus mykiss*) *Aquaculture Research*, 2008: 1-5.
- Chambeyron, F. ve Zohar Y. 1990. A diluent for sperm cryopreservation of gilthead sea bream *Sparus aurata*. *Aquaculture*, 90: 345-52.
- Chen, S.L., Ji, X. S., Yu, G. C., Tian, Y.S ve Sha, Z.X. 2004. Cryopreservation of sperm from turbot (*Scophthalmus maximus*) and application to large-scale fertilization. *Aquaculture*, 236: 547556.





- Çiftçi, Y., Üstündağ, C., Erteken, A., Özongun, M., Ceylan, B., Haşimoğlu, A., Güneş, E., Yoseda, K., Sakamoto, F., Nezaki, G. ve Hara, S. 2002. *Karadeniz'de kalkan balığı (Psetta maxima) yavru üretim tekniği*. Su Ürünleri Merkez Araştırma Enst. ve JICA. Trabzon. 82 s.
- Dreanno, C., Sequet, M., Quemener, L., Cosson, J., Fierville, F., Normant, Y. and Billard, R. 1997. Cryopreservation of turbot (*Scophthalmus maximus*) spermatozoa. *Theriogenology*, 48: 589-603.
- Glogowski, J., Kolman, R., Szczepkowski, M., Horváth, Á., Urbányi, B., Siczynski, P., Rzemieniecki, A., Domagala, J., Demianowicz, W., Kowalski, R. ve Ciereszko, A. 2002. Fertilization rate of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*, Brandt) milt cryopreserved with methanol. *Aquaculture*, 211: 367-373.
- Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T. and Patzner, R.A. 1996. Motility of spermatozoa of *Alburnus alburnus* (Cyprinidae) and its relationship to seminal plasma composition and sperm metabolism. *Fish Physiol. Biochem.*, 15:167-179.
- Liu, L., Wei, Q., Guo, F., Zhang, J. and Zhang, T., 2006. Cryopreservation of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) sperm. *J. Appl. Ichthyol.*, 22: 384-388.
- Mirzoyan, A.V., Nebesikhina, N.A., Voynova, N.V. ve Chistyakov, V.A. 2006. Preliminary results on ascorbic acid ve lysine suppression of clastogenic effect of deep-frozen sperm of the Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedti*). *International Journal of Refrigeration*, 29: 374-378.
- Mohler, J.W. 2003. Culture Manual for the Atlantic sturgeon, *Acipenser oxyrinchus oxyrinchus*. A Region 5 U.S. Fish & Wildlife Service publication, 66 p.
- Okumuş, İ. 2005. Balık Yetiştiriciliği Ders notları. Rize Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi. Rize.
- Pavlov, D., Kjörvik, E., Refsti, T. ve Andersen, Ø. 2004. Brood stocks ve egg production. E. Moksness, E. Kjørsvik and Y. Olsen (eds), *Culture of Cold-Water Marine Fish* Blackwell Publishing, Oxford, UK., pp 129-203.
- Rideout, R.M., Trippel, E.A. ve Litvak, M.K., 2004. Predicting haddock embryo viability based on early cleavage pattern. *Aquaculture*, 230: 215-228.
- Rurangwa, E., Kime, D.E., Ollevier, F. and Nash, J.P. 2004. The measurement of sperm motility ve factors affecting sperm quality in cultured fish, *Aquaculture*, 234:1-28.
- Suquet, M., Dreanno, C., Faulvel, C., Cosson, J. ve Billard, R. 2000. Cryopreservation of sperm in marine fish, *Aquaculture research*, 31: 231-243.
- Suquet, M., Dreanno, C., Dorange, G., Normant, Y., Quemener, L., Gagnon, J.L. ve Billard, R. 1998. The ageing phenomenon of turbot spermatozoa: effects on morphology, motility and concentration, intracellular ATP content, fertilisation, and storage capacities. *J. Fish Biol.*, 52: 31-41.
- Tekin, N., Secer, S., Akçay, E., Bozkurt, Y. ve Kayam, S. 2007. Effects of glycerol additions on post-thaw fertility of frozen rainbow trout sperm, with an emphasis on interaction between extender and cryoprotectant, *J. Appl. Ichthyol.*, 23: 606-613.
- Vuthiphandchai, V. ve Zohar, Y., 1999. Age-related sperm quality of captive striped bass *Morone saxatilis*. *J. World Aquac. Soc.*, 30: 65-72.
- Williot, P., Kopeika, E.F. and Goncharo, B.F., 2000. Influence of testis state, temperature ve delay in semen collection on spermatozoa motility in the cultured Siberian sturgeon (*Acipenser baeri* Brandt). *Aquaculture*, 189: 53-61.
- Wojtczak, M., Dietrich, G.J., Słowińska, M., Dobosz, S., Kuźmiński, H. ve Ciereszko, A., 2007. Ovarian fluid pH enhances motility parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) spermatozoa. *Aquaculture*, 270: 259-264.