



## Balıklarda Gamet Hücreleri, Kaliteleri ve Üretime Etkileri

Mustafa Erkan ÖZGÜR

İnönü Üniversitesi Sürü MYO, Su Ürünleri Bölümü, MALATYA

\*Sorumlu Yazar

e-posta: mustafa.ozgur@inonu.edu.tr

Geliş Tarihi : 17 Nisan 2011

Kabul Tarihi : 10 Temmuz 2011

### Özet

Doğal habitatta veya kültür koşulları altında, balık gametlerinin kalitesi dış faktörler veya damızlık yönetimi gibi faktörlerden önemli derecede etkilenebilir.

Gamet kalitesi kontrolü ile ilgili faktörlerin anlaşılması için çok önemli çabalar ortaya koyulmuşsa da, akuakültür sektöründe hala önemli bir sorun olmaya devam etmektedir ve gamet kalitesi tam olarak anlaşılabilir. Balık yumurta kalitesi, döllenebilen yumurta ve normal bir embriyo gelişiminin sağlanması şeklinde tanımlanabilir. Benzer şekilde, sperm kalitesi de bir yumurtayı dölleyebilme ve normal bir embriyo gelişimine imkân vermesiyle tanımlanabilir. Bu sebeplerden dolayı, gamet kalitesi konusu giderek önemi artmaktadır.

Bu derleme, kemikli yumurta ve sperm kalitesi nasıl tanımlanabilir, tahmin edilebilir veya belirlenebilir gibi hususlara ışık tutmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Balık, gamet kalitesi, üretime etkileri.

## Quality of Gamete Cells of Fish and Effects of Reproduction

### Abstract

In the wild or under aquaculture conditions, the quality of fish gametes can be highly variable and is under the influence of a significant number of external factors or broodstock management practices.

Despite the significant efforts made towards a better understanding of the factors involved in the control of gamete quality, the picture is far from being complete and the control of gamete quality remains an issue in the aquaculture industry. Fish egg quality can be defined as the ability of the egg to be fertilized and subsequently develop into a normal embryo. Similarly, sperm quality can also be defined as its ability to successfully fertilize an egg and subsequently allow the development of a normal embryo. For these reasons, the topic of gamete quality has received increasing attention.

In this review, how it can be defined, accurately estimated or predicted to egg and sperm quality, we provide an overview of the main factors that can impact gamete quality in teleosts.

**Key Words:** Fish, quality of gamete, effects of reproduction

## GİRİŞ

Dünyada ve ülkemizde balık eti ihtiyacı deniz ve içsulardan avcılık ve kültür balıkçılığı yolu ile karşılanmaktadır. Yavru balık üretiminin yeterli düzeyde olmaması su ürünleri yetiştiriciliği potansiyelini sınırlamaktadır. Yavru balık üretimini ise, elde edilebilen yumurta ve spermaların değişken kalitesini birinci derecede etkilemektedir [32].

Yerterli sayı ve kalitede balık yumurtası, yaşama ve verim gücü yüksek olan yavru balık elde edilmesindeki zorluklar, özellikle yeni türlerin üretime alınmaya başlanması ile birlikte daha da belirginleşmiştir. Kültürü yapılan birçok balık türünün üretimi veya yetiştiriciliği, hala doğal popülasyonlarından yavru veya anaç teminine bağımlıdır [16].

Dünya nüfusunun yıllık alabalık ihtiyacı 300 bin ton civarındadır. Bu ihtiyacı karşılayabilmek için yılda 3 milyardan fazla yumurta üretilmesine ihtiyaç olduğu tahmin edilmektedir [14]. Özellikle tatlı sularda doğal olarak üretilen balıkların bu

ihtiyacı karşılamaları mümkün görülmemektedir. Bu ihtiyacı karşılayabilmek için, doğal üretimin yanı sıra balıkların suni olarak üretilmesi yoluna gidilmiştir. Bu amaçla, modern balık kuluçkahanelerinde uygun zamanda ve yüksek kalitede yumurta üretilerek, bunların kaliteli sperma döllenebilmesi ve uygun kuluçkalama teknikleriyle yüksek sayıda larvaların elde edilmesi sağlanmıştır. Damızlık gökkuşağı alabalıklarında stoklama düzeyi, yemleme oranı, miktarı ve kalitesi, suyun fiziksel, kimyasal ve biyolojik kalitesi, sağım yöntemi, damızlık balıkların yaşı ve büyüklüğünün; yumurtanın üretim zamanı, sayısı, kalitesi ve dölverimi üzerinde doğrudan etkili olduğu belirlenmiştir [14, 21].

Salmon balığının yaş, uzunluk ve ağırlığındaki artışın sperma hacmini artırarak, spermatozoa yoğunluğunu düşürdüğü [31], gökkuşağı alabalıklarının spermatozoa motilitesindeki düşüşün ise döl verimini önemli derecede azalttığı tespit edilmiştir [36]. Gökkuşağı alabalığının sperma miktarı ile spermatozoa motilitesi, yumurta sayısı ile yumurta

çapı ve sperma miktarı ile yoğunluğu arasında negatif yönde önemli bir ilişkinin bulunduğu, vücut ağırlığının döl verimini, spermatozoa motilitesini ve miktarını etkilediği belirlenmiştir [2]. Gökkuşluğu alabalığının seminal plasma ve spermasındaki beta karoten, A ve E vitamin düzeyleri arasında da önemli bir ilişki mevcuttur [40].

Bu nedenlerden dolayı, balıklarda yumurta ve sperma özelliklerinin, bu özellikleri etkileyen faktörlerin detaylı olarak bilinmesi; dölveriminin artırılması ve başarılı bir üretim için gereklidir.

## Eşey Hücreleri

### Spermatozoa

#### Spermatozoanın Morfolojisi

Spermatozoanın morfolojik yapısı elektron mikroskobu tekniklerinin gelişimiyle açıklığa kavuşturulmuştur. Erkek balıkların testislerde olgunlaşmış olan bir spermatozoa; baş, boyun, orta kısım ve uzun bir flagellattan (kuyruk) oluşur [29].

*Onchorhynchus mykiss* [5] ve *Gambusia affinis* [29]'in spermatozoasında akrozom mevcuttur. Buna karşın Teleost balıkların yumurtalarının çoğunda bir mikrofili deliği bulunduğundan döllemeleri için akrozom zorunlu olmayabilir. Fakat mikrofili deliği yoksa fertilizasyon esnasından hücre birleşmesine izin vermek için sperma başının üstünde plazma membranı üzerinde özelleşen bu akrozom yapıları gerekmektedir. Nukleusun şekli spermatogenesis ve özellikle spermiogenesis kompleksi ile ilgili olup oldukça çeşitlidir [8]. Nukleus oldukça poliform, filiform, küresel veya pervane şeklindedir. Lepisteslerde kompleks morfogenetik hareket sonrası son formunu alan, alabalıklarda uzun, sazan ve bir çok tilapia türlerinde oldukça ilkel olan, tekir balığı ve kalkan balığında baş üzerinde lateral olarak yerleşmiş bir flagellum vardır [29].

Tilapialarda, cyprinidlerde olduğu gibi protaminlerin histonlarla yer değişimi sınırlıdır ve kromatin az koyulaşmıştır. Lepisteslerin spermatozoası gelişkin olmasına karşın alabalık, sazan ve kalkan balıklarında büyüklük çok azalmıştır. Spermatozoanın nukleusu genellikle ön uç kısımda, çok ilkel olanlarda ise ortada bulunur. Tilapia balıklarında olduğu gibi nukleus çok büyük olabilir. Mitokondri sayısı türler arasında oldukça çeşitli olup, kıkırdaklı balıklardan olan *Hydrolagus collei*'de bu sayı 70'in üzerindedir [29]. Mitokondri aynı zamanda sık sık bir yaka veya tasma gibi görünür. Orta kısımda yer alan nukleusun büyüklüğü çoğunlukla motilite süresi ile ilgilidir. Sitoplazmanın geri kalan kısımları çoğunlukla ilkel spermatozoada bulunur [16].

### Sperma Üretimi

Bir mevsim üreme gösteren balık türlerinde toplam sperma üretimi spermasyon öncesi testiste bulunur. Testis büyüklüğü spermatogenesisin bir göstergesi olup, büyüklükleri türlere göre vücut ağırlığının %0,2-10'u arasında değişir [7]. Gökkuşluğu alabalığında toplam sperma üretimi  $58 \times 10^9$  sperm/gram testis/yıl iken spermasyon esnasında serbest kalan miktar %20-50 arasındadır [8]. Türler arasındaki karşılaştırmalarda sperma üretimi, vücut ağırlığının her gramında  $\times 10^9$  adet sperm olarak belirtilebilir. Bu değer gökkuşluğu alabalığında 7, sazanlarda 4, lepisteslerde 2,7 ve turna balığında 0,6'dır [6]. Sperma sayısı, balık türlerinde  $2 \times 10^6 - 6,5 \times 10^{10}$  arasında değişmektedir [35].

### Spermanın Kimyasal Yapısı

Spermanın biyokimyasal yapısı son zamanlarda Billard ve Cosson (1990) ve Linhart ve diğ. [37] tarafından geniş şekilde incelenmiştir. Çeşitli sazan türlerine ait spermalar ağırlığının %71-82'si oranında su ve %2,5-3,6'sı oranında da lipid (bu total lipidin %34-40'ı fosfolipidler, %26-32'si kolesterol ve %0,6-2,2'si gliseridler) içermektedir [4]. Gökkuşluğu alabalığı spermasının yağ asidi kompozisyonu beslenmeye bağlı olarak etkilenmektedir [33]. Kurbağanın sperması glikojen içermekte ancak, gökkuşluğu alabalığının spermasında glikojen bulunmamaktadır [10]. Jamieson [29], *Hydrolagus collei* spermasının flagellumunun glikojen içerdiğini bildirmiştir. Balık spermasında enerji metabolizmasında rol alan enzimler; ATPaz, fosfataz, lipaz, esteraz, oksidaz, çeşitli ürikolitik enzimler, LDH, NAD ve NADP melikdehidrogenaz bulunmaktadır [10]. Dzuba ve Cherapanov [24] ise alabalık spermasında ATPaz, ATP, ADP, cAMP, laktat, piruvat, kreatin, fosfat, glukoz 6 fosfatın varlığını tespit etmişlerdir.

### Seminal Plazmanın Kimyasal Yapısı

Yapılan araştırmalar, ovipar balıkların seminal plazmanın yapısı türlere göre farklılık göstermektedir. Salmonidlerde seminal plazmanın iyonik yapısı, 0,3-2,6 mM  $Ca^{++}$ , 0,8-3,6 mM  $Mg^{++}$ , 20-66 mM  $K^+$  ve 103-140 mM  $Na^+$  içermektedir. Cyprinidlerde ise bu değerler, 0,3-12,5 mM  $Ca^{++}$ , 0,02-1,2 mM  $Mg^{++}$ , 39-78 mM  $K^+$  ve 94-107 mM  $Na^+$  dur. İyonik kompozisyon üreme sezonu esnasında değişebilir [37]. Organik oluşumlar da farklılık gösterebilir; glikoz 8-220, fruktoz 0-128, kolesterol 0-40, lipidler 0-1316, gliserol 35-391, protein 0,4-2800 (kalkan balıklarında bu değer 12 000'in üstünde), amino asitler 84-136, üre 12-136 arasındadır [10]. Sazanların seminal plazması, 1,7 nM piruvat, 243 nM laktat, 15 nM malat, 36 nM sitrat ve 2,8 nM alfa-ketoglutarat içermektedir [37]. Tatlısu balıklarının çeşitli türlerine ait seminal plazmaların vitamin C miktarı yüksektir [22]. Sazan ve tilapia balıklarının seminal plazmalarında LDH ve MDH, asetat, butirat esteraz, alanyl ve lösin aminopeptidaz gibi enzimatik aktiviteler bulunurken [10], gökkuşluğu alabalığı, beyaz balık ve sarı levrek balıklarında ise proteinaz inhibitörlerinin varlığı tespit edilmiştir [22].

### Ovaryum

Yumurtalar dışı balıkların ovaryumlarında gelişir. Dışı gonadlarındaki eşey hücrelerinin olgunlaşması işleminde; önce hücre sitoplazması ve nukleus oluşur ve yapılanmasındaki değişimler meydana gelir, daha ileri aşamada ise fizyolojik veya fonksiyonel olgunlaşma gerçekleşir. En önemli değişimlerin başında, oluşacak embryonun besinini teşkil edecek yağ damlacıklarının ve yumurta sarısı formu içinde stoklanan besin materyalinin yumurta sitoplazması tarafından sentezlenmesidir. Yağlar, karbonhidratlar ve proteinler olgun yumurtanın en önemli kısmını oluşturur. Sitoplazmanın olgunlaşmasına paralel olarak yumurta sarısı ve yağ damlacıklarını örten zar da incilir. Bu sitoplazma nükleer bölgesinde oldukça boldur [18]. Bir yumurta hücresi olgunlaşırken, bir kapsül onun çevresinde şekillenir. Bu yapı daha sonra embryo ve onun çevresi arasında gerçek değişimler için oldukça önemli olup, hassas olan embriyoyu korumada görev almaktadır. Kapsül, vitellin zarı içindeki yumurta sitoplazmasından meydana gelmiş olabilir (Örneğin; *Fundulus heteroclitus*'da olduğu gibi). Diğer balıklarda (Örneğin; sarı levrek, *Perca flavescens*)

ovaryum içindeki folikül hücrelerini çevreleyen ikinci bir zar vardır. Dışta yer alan bu ikinci zar bir koriyon'dur. Çoğu balıklarda vitellin zarları içinde bu 2 tabakayı ayırt etmek mümkündür. İçteki zar şeffaf olup ışığı geçirir. Çoğu türlerde, yumurta membranının diğer özelliği spermanın girmesine izin veren ve mikrofil ismi verilen açık bir delik bulundurmasıdır. Gelişimleri tam olarak tanımlayan nükleer ve fizyolojik oluşum, yumurtanın spermatozoa tarafından dölllenmesine hazır olduğunu gösterir. Böyle yumurtalarla dolu olan ovaryum olgun olarak isimlendirilir. Salmon ve alabalıkların dişilerindeki olgunlaşmış olan yumurtalar karın bölgesine elle hafif masaj yapılarak kolayca sağılabilir. Sazan ve tatlısu levreğinde ise elle masaj yapılmadan bile bu olgun yumurtalar kolayca dışarı akmaktadır. Yumurtalar döllenmeye hazır değil ise bunlar olgun yumurtalara göre daha sert olup, ovaryumlar yeşil renktedir. Tatlısu balıklarının suya yeni bıraktığı yumurtaları karakteristik olarak çok veya az yapışkan olup, yumuşaktır. Yumurtalar hızlı şekilde su alır ve çoğu formlarında oldukça sertleşir. Bu koşullarda yumurtalar sertleşmiş olarak isimlendirilir. Balık yumurtalarının şekil, büyüklük, renk, sayı ve spesifik ağırlığı türlere göre değişir. Bu karakterler döl verimi ve yaşama oranı üzerinde etkilidir [18, 34].

#### Balıklarda Döl Verimi ve Kalitesini Etkileyen Faktörler

Birçok biyotik ve abiyotik faktörler yumurta ve sperma kalitesini, verimini etkilemektedir [16]. Damızlık balıkların beslenmesi [32, 48], stres faktörleri [17], yumurtaların yüzeyindeki bakteri kolonizasyonu, yumurtaların aşırı olgunlaşması ve dölllenme öncesi ovulasyon periyodu [14, 32] yumurta kalitesini doğrudan etkilemektedir.

Her ne kadar çok fazla besinin üreme fizyolojisi üzerinde önemli etkisi olsa da bu değişimlerin yumurta ve larva kalitesine etki edebildiğine dair az kanıt vardır [14, 28, 48]. Yağ asitlerinden özellikle PUFA'lar içinde yer alan dokosaheksaenoik ve eikosapentaenoik asitler ve onların türevlerini içeren n-3 serileri, vitaminler (özellikle A, C ve E vitaminleri), karotenoidler ve çeşitli iz elementler döl verimi üzerinde etkili olmaktadır [16].

Watanabe [48] tarafından yapılan bir çalışmada, iz elementler, PUFA'lar veya vitamin E'nin dietsel eksikliğinde balıkların yumurta kalitesinin düştüğü tespit edilmiştir. Benzer yazarların daha sonra yapmış oldukları çalışma, yumurta kalitesinin en önemli belirleyicileri olarak dokosaheksaenoik ve eikosapentaenoik asitleri içeren fosfolipitler, vitamin E ve astaksantin olduğunu belirlemişlerdir. PUFA'lar adaptasyon ve stres reaksiyonları içinde önemli maddeler olarak bilinen eikosanoitlerin üretimde de rol oynarlar [42]. Sadece dokosaheksaenoik ve eikosapentaenoik asitlerin gerçek düzeylerinin yanı sıra (n-3)/(n-6) PUFA oranları da çok önemlidir. Aynı zamanda bu gereksinimler ve oranlar; tatlı ve tuzlu su arasında olduğu gibi türler arasında da farklılık göstermektedir [16].

Balıklardaki son ovaryum gelişimi, oocyte'lerin büyümesi için gerekli olan lipidler ve proteinlerin ortak hareket etmesiyle sonuçlanan önemli fizyolojik ve biyokimyasal değişimleri kapsar. Kısa bir zaman periyodu içinde oocytler, dişinin vücut ağırlığının %20-40'lık kısmını oluşturacak şekilde hızlı biçimde büyür. Çoğu balık türleri, aynı zamanda son ovarian gelişimin başından sonuna kadar besinlerinin girişini azaltır. Bundan dolayı ovarian büyümesi ve diğer fonksiyonlar için besin maddeleri ve enerji ihtiyacı vücut depolarından alınır. Atlantik salmonlarında, son oogenesis kas içindeki protein,

lipit ve suyun bitmesine neden olur [3]. Gökkuşluğu alabalığında ovarian gelişimi karkas ve visceral lipidlerin güçlü bir geçişle ilgilidir [39].

Daha önce ifade edildiği gibi, deniz levreği balığı, her yıl 3-4 ayda bir eşzamanlı olmayan bir ovaryum gelişimi ve yumurtlama gösterir. Yumurtlama mevsiminde oocytlerin çoğu son vitellogenesis safhalarını geçirir. Bundan dolayı, yumurta sarısı sürekli yılın birçok ayında ovaryumlar içinde depolanır. Dişi deniz levreklerinin 3-4 aylık yumurtlama mevsimi esnasında kilogram vücut ağırlığı başına 0,5-2 kg yumurta yumurtlarlar. Bu çok sayıdaki yumurta üretimi sadece besin maddeleri ve enerji ile desteklenebilir [16].

Hem tatlısu hem de denizler gibi birçok akuatik çevrelerin karakteristik bir eksikliği çok fazla mikroorganizma barındırmasıdır. Aynı çevrede balık larvaları ve yumurta kültüründe mikroorganizmaların artmasının önemi vardır. Bu mikrobiyal büyümenin çoğalması, muhtemelen balığın üremesiyle ve organik yıkıntı ve mikroorganizmaların metabolik atıklarından ortaya çıkan nutrientlerin artan miktarının bir sonucu olarak oluşur. Balık yumurtalarındaki çeşitli yağ ve protein parçacıkları da mikroorganizmaların mükemmel besin kaynaklarını sağlar. Kültür sistemlerinde mikroorganizmaların her yerde olmasına karşın, sürpriz bir şekilde, kültür koşulları altındaki yumurta ve larvaların hayatta kalma karakteri üzerinde bunların etkileri hakkında az çalışmalar vardır. Tatlı su balıkların yumurtaları üzerindeki saprolegnia mantarlarının etkileri, salmon kuluçkalanmasında iyi şekilde tanımlanmıştır ve günlük mantar tedavileri ve ölü yumurtaların ortamdan uzaklaştırılması, ölü yumurtalardan yayılan mantar misellerini engellemek için önerilen tekniklerdir. Yumurtaların ve larval kültür sistemlerinin kontaminasyonu tüm yaşam düzeylerinin belirlenmesinde önemli bir faktör olabildiği açıktır. Yetiştiricilik uygulamaları kültür sistemlerinin korunmasını garantiye alındığı temel uygulamalardandır. İdeal olarak, damızlık balıklar doğal ortamına uygun olarak düzenlenmiş kontrollü koşullarda bakılmalıdır. Pratikte tüm yetiştiricilik koşullarını yönetmek mümkün olmayabilir. Su kalitesi, beslenme rejimi ve diet, stoklama yoğunluğu, patojenlerin ortaya çıkması, bulunan stres parametreleri, yetiştiricilik uygulamaları ve yönetimi içerisinde optimize edilebilse de, böyle düzenlemeler son zamanlarda kültüre alınan balık türleri için zor olabilmektedir. Stres anaç balığın sağlığı, yumurta ve sperma üretimi üzerinde önemli etkiye sahiptir. Uygun olmayan yetiştiricilik koşulları altında ortaya çıkan kronik stres, kültür balıklarında da yumurta üretimini ve olgunlaşmasını etkileyen önemli bir faktördür [16]. Stresin anaç balıklar üzerindeki etkileri oldukça karmaşıktır. Birçok yönden anaç balıklar, yaşları, büyüklükleri, metabolik gerekleri ve rezervleri ile yavru veya genç balıklardan strese karşı daha toleranslıdır. Genç balıklarda akut stres ve mortaliteye sebep olan stres görülürken, damızlık balıklarda durum böyle değildir, damızlıklar genç balıklara göre düşük su kalitesine daha toleranslıdır. Bununla beraber, stresin etkisi özellikle anaç balığın biyolojisinde üreme döneminde ortaya çıkar [26]. İlgili mekanizmalar, şiddetli stresin hem erkek hem dişi alabalıklardaki seks steroidlerini azattığı, bu etkinin hipotalamus, hipofiz ve gonad üzerindeki kortizol aktivitesiyle ilgili olduğu ispatlanmıştır [47]. Benzer şekilde Campbell ve diğ. [17] de ovulasyonun stres içindeki balıklarda geciktiğini ve döllenmiş yumurtaların iyi kalitede ve büyüklükte olmadığını ve spermatokritlerin de stresli erkeklerde azaldığını tespit etmişlerdir.

### Yumurta ve Sperma Kalitesi

Balık kuluçkahanelerinde anaç balıkların üreme performansını denetlemek ve kontrol altında tutmak sisteme girecek olan gametlerin kalitesi ve verimliği açısından önem taşımaktadır [14]. Salmonidlerde döllenme oranındaki başarı, sonraki tüm gelişim safhaları için güvenilir bir göstergedir [45]. Döllenme ve gözlenme oranları arasındaki korelasyonun derecesi de kalite belirlenmesinde kullanılırken, birçok işletmede kalite indikatörü olarak gözlenme oranı kullanılır [13, 15]. Koriyon görünümü, yumurtaların şekli, şeffaflığı ve lipid globulinlerinin dağılımı yumurtanın kalitesi ile ilgili göstergelerdir [32]. Ayrıca, yumurta büyüklüğü de kalitenin bir belirleyicisi olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte salmonidler ve diğer balık türleri üzerinde yapılan çalışmalar, yumurta büyüklüğünün balıklarda her zaman yumurta kalitesinin bir belirleyici olmadığı da belirtilmektedir. Yumurta kalitesinin belirlenmesi hakkında çok az bilgi mevcuttur [30, 46].

Spermanın pH'sı, spermatozoa motilitesi ve yoğunluğu spermanın kalitesini ortaya koymada yaygın olarak kullanılan kriterlerdir [9, 13].

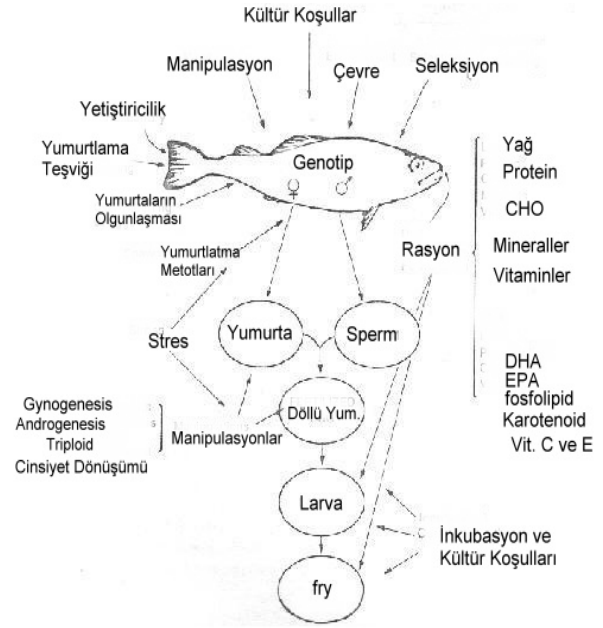
Yumurta, sperma ve larva kalitesi birçok faktör tarafından etkilenmektedir (Şekil 4.1). Yumurta ve sperma kalitesinin belirlenmesinde uygulanacak yöntem basit olmalı ve kuluçka dönemi süresince zaman ve işgücü açısından kolaylıklar sağlamalıdır [16].

### Yumurta Kalitesi

Balık üretiminde, en yüksek sayı ve kalitede yumurta ve larva elde etmek temel amaçtır. Normal şartlar altında yumurtaların döllenmesi, embriyonal gelişimi ve çıkan larvaların yaşama oranı üzerinde yumurta özellikleri olarak tanımlanan yumurta kalite parametreleri belirleyici rol oynamaktadır. Kültürü yapılan veya yapılmaya çalışılan birçok balık türü için kaliteli yumurta üretimi önemli bir problemdir. Levrek, çipura, kalkan ve birçok yassı balıklara ait yumurtaların yaşama oranı oldukça düşük olup, bu oran genellikle %5'den daha azdır. Salmon balıklarının yumurtaları ve dolayısıyla larvaları kaliteli olmakla birlikte, yumurtaların 2/3'si ve larvalar kuluçkalamada ilk birkaç ay esnasında kaybedilebilir [14].

Gökkuşluğu alabalıklarındaki fertilizasyon oranı, ya döllenmeden sonraki ilk 12 saatte ya da embriyonun gelişiminden 7 gün sonra oluşan ölü veya gelişmeyen yumurtaların belirlenmesiyle tespit edilebilir [13, 14, 45]. Sonuç olarak gözlenmiş ve döllenmiş oran arasındaki korelasyonun belirlenmesi ile kalite kontrolü yapılır. Yumurta kalitesi, çoğunlukla gözlenmiş yumurta oranı olarak kullanılır [13, 14]. Bununla beraber, deniz balıklarında yumurta kalitesini belirleme metodları açısından çok az ortak görüş vardır. Deniz balıklarına ait yumurtaların üstünlükleri genellikle deniz suyunda yüzme veya batma durumlarına göre tespit edilerek "düşük kaliteli" veya "iyi kaliteli" yumurta olarak ayrılırlar [32]. Diğer yandan korion görünüşü, yumurta şekli, şeffaflığı ve yağ damlacıklarının dağılımı gibi birçok faktörün yumurta kalitesi ile ilgili olduğu ileri sürülmektedir [32]. Bununla birlikte, yassı deniz balıklarının morfolojik karakterlerinin de kalite ile ilgili olduğu bildirilmektedir [15]. Döllenme oranı, deniz salmonlarında yumurta kalitesinin iyi bir göstergesidir [32].

Balıklar ve diğer evcil hayvanların arasındaki önemli bir farklılık, balıkların yüksek fekunditeye sahip olması ve çok miktarda yumurta vermesidir. Balık türleri arasında da fekundite



Şekil 4.1. Yumurta, sperma ve larva kalitesini etkileyen faktörler [16].

oldukça farklılık gösterebilir. Yassı deniz balıkları milyonlarca yumurta üretirken, salmonlarda bu değer binler düzeyindedir [12]. Ayrıca, çoğu deniz balıkları 2-3 ay sürebilen yumurtlama mevsiminde haftalık olarak yumurta üretirken, salmonlar yılda sadece bir kere yumurta üretebilirler. Anaç yönetimi ve planlaması salmonlar gibi düşük fekunditeye sahip olan balık türleri için büyük önem taşımaktadır [16].

Ayrıca yumurta sayısı veya fekundite ile birlikte yumurta büyüklüğü de kalitenin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Yumurta büyüklüğü yumurta kalitesini belirleyen önemli kriterlerdendir [14].

Anaç balığın büyüklüğü yumurta sayısını ve büyüklüğünü etkileyen en önemli faktördür. Genel olarak, balık büyüklüğü fekundite ve yumurta çapını artırır. Bu özellik salmonlarda belirgin olarak gözlenir. Bununla beraber gökkuşluğu alabalıklarında, artan balık büyüklüğüyle birlikte fekunditede bir düşüş gözlenmektedir [14]. Yani büyük anaçlar daha düşük relatif fekunditeye (balık ağırlığına düşen yumurta sayısı) sahip olup, daha küçük olan anaçlarda bu değer daha yüksektir. Ağırlık ile fekundite arasındaki bu ters ilişki, deniz levreklerinde de görülür. Fekundite ve yumurta büyüklüğü üzerinde balığın büyüklüğü ve genotipi, stoklama yoğunluğu, stres oluşturan durumlar, besin kalitesi ve miktarı ile suyun fiziksel ve kimyasal özellikleri etkili olmaktadır. Balığın yaşa fekundite üzerinde belirleyici etkiye sahip değildir [13, 16]. Fekundite üzerine dolaylı etkilerine ilaveten, anaç balıkların günlük ve mevsimsel beslenme oranları da fekundite ve yumurta büyüklüğünü doğrudan etkilemektedir [13, 14, 46]. Bundan dolayı, tavsiye edilen günlük yemleme oranının yarısı veya çeyreği kadar yemle beslenen anaç alabalıkların yumurta sayısı %25 oranında azalmaktadır. Mevsimsel değişimlere bağlı olarak sudaki besin maderinin kalitesi ve miktarındaki değişimler, düşük veya yüksek besleme oranları, balıkların olgunlaşma oranı ve fekunditesi üzerinde belirli etkilere sahiptir. Bromage ve arkadaşları [14], üreme dönemlerinin ilk 4 ayı için yüksek kalitedeki rasyonlarla beslemenin fekunditeyi artırdığını, üretim döngüsünün daha sonraki safhalarında ise yüksek kalitedeki rasyonlarla beslemenin yumurta sayısında görünür bir etki yapmadığını bildirmiştir.



**Tablo 4.1.** Farklı balık türlerinde optimum yumurta kalitesinin elde edildiği ovulasyon sonrası zaman [16].

Türler	Zaman
<i>Prochilodus platensis</i>	1 saat
<i>Roccus saxatalis</i>	1 saat
<i>Carassius auratus</i>	2-3 saat
<i>Macculochella peeli</i>	2-3 saat
<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	3-8 saat
<i>Hippoglossus hippoglossus</i>	4-6 saat
<i>Rhamdia sapo</i>	5-9 saat
<i>Gadus morhua</i>	9-12 saat
<i>Clarias macrocephalus</i>	10 saat
<i>Scophthalmus maximus</i>	10-20 saat
<i>Plecoglossus altivelis</i>	1-2 gün
<i>Limanda yokohamae</i>	2-3 gün
<i>Salvelinus alpinus</i>	5 gün
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	4-6 gün
<i>Clupea harengus</i>	14 gün
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	20 gün

Balık yumurtalarının olgunlaşması ve yumurta kalitesi arasında da bir ilişki mevcuttur. Döllenen yumurtalar ovulasyonu takiben, yaygın bir şekilde olgunlaşma olarak tanımlanan bir gelişim dönemi geçirir [15, 32]. Olgunlaşma esnasında yumurtalar bir dizi morfolojik ve yapısal değişimler geçirmesi nedeniyle kalite kaybına uğrar (Tablo 4.1) [45].

Yumurtaların olgunlaşma oranı; balık türlerine, su sıcaklığı ve yumurtlama periyoduna göre değişir [27]. Gökkuşluğu alabalığı yumurtalarının optimum olgunlaşma periyodu, 10 °C'de ovulasyondan sonra 4-6 günde meydana gelir. Ovulasyondan üç gün sonra döllenmiş yumurtaların, 4-6 gün sonra dölenenlere göre yaşama oranları düşmektedir. Yumurtaların 12 günden daha fazla bir süre için anaçlarda tutulması durumunda bunların da döllenmediği fakat sonuçta ileri düzeyde bir gelişimin olmadığını göstermiştir. Gökkuşluğu alabalığı kuluçkahanelerindeki kayıpların en önemli sebebi anaç balıklardaki kontrolsüz olgunlaşmadır [13].

### Sperma Kalitesi

Sperma kalitesini tespit etmek, onun kalitesini tanımlamak için gereklidir. Aktif olan spermatozoanın yüzdesi, motilite süresi, sperm konsantrasyonu ve spermatokrit ve seminal plazma kompozisyonu, sperm kalitesini ölçmede kullanılmaktadır [9, 31]. Sperm kompozisyonu üzerine yapılan araştırmalar, spermatozoa konsantrasyonu ve seminal plazma kompozisyonunda büyük intraspesifik ve interspesifik değişimler olduğunu gösteriyor. Bu değişimler, genetik değişkenlik, spermatozoanın intratestiküler yaşı, mevsimler [38, 44], yumurtlama durumu ve stratejisine göre olmaktadır. Yumurtlama sezonu süresince levrek ve salmon balıklarının sperma kalitesinin arttığı belirlenmiştir. Diğer yandan, üreme mevsimi sonrası gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) spermasının yoğunluğu düşmektedir [38].

*Oncorhynchus mykiss*, *Salmo trutta*, *Salvelinus fontinalis* ve *Salmo salar* üzerine yapılan araştırmalar, bunların sperma motilite süresinin mevsimlere göre değiştiğini göstermektedir. Yumurtlama mevsiminde aktif olan gökkuşluğu alabalığı spermatozoaları 30–35 saniye hareketlidirler. Yumurtlama sezonu sonuna doğru motilite süresi 15 sn gibi bir süreye

düşer. Ayrıca gökkuşluğu alabalıklarında yumurtlama sezonunda aktif olan spermatozoa oranı yumurtlama dönemi sonrası büyük oranda düşer. Seminal plazmanın inorganik ve organik kompozisyonundaki değişimler aynı zamanda spermanın korunmasını da etkileyebilir. Sperma motilitesi ile yakından ilgili olan K<sup>+</sup> ve Na<sup>+</sup> gibi iyonların oranı ve konsantrasyonu mevsim sonunda düşer [38].

Abdominal masaj ile toplanan sperma örneklerinde üre kontaminasyonu (sperm kanalı ve üriner kanalın yakınlığından dolayı) kaçınılmazdır. Bundan dolayı sperma yoğunluğu ve seminal plazma kompozisyonundaki değişim yanlış yorumlanabilir [41].

Bu konuda yapılan araştırmalar, üre kontaminasyonunun spermanın konsantrasyonunu %80'lere varan oranda seyreltebildiğini ve ozmotik basıncını azalttığını ortaya çıkarmıştır. Bu tür kontaminasyonlar seminal plazmanın iyonik konsantrasyonunu değiştirmektedir. Örneğin; üre kontaminasyonu sonucunda *Salmo salar*'ın seminal plazmasındaki K<sup>+</sup> konsantrasyonu 1382 mg/l'ten 792 mg/l'te düşmüştür [16].

### Spermatozoa Hareketliliği

Spermatozoalar çoğunlukla genital alanda hareketsiz ve dış sıvı içinde seyreltikten sonra aktif olurlar. Motiliteyi test etmek için sperma uygun bir seyreltici içinde seyreltilerek bir mikroskop altında incelenir. Motilite ölçümü dikkat gerektirir. Seyreltme, tüm spermatozoa motilitesini eş zamanlı başlatmak için zorunlu olup, en az 1:1000 oranındadır. Daha düşük seyreltmelerde, spermatozoalar tümünden aktive olmazlar. Bundan dolayı düşük seyreltmelerde, sperm motilitesi süresini ve gücünü tam olarak tespit etmek zordur. Bununla beraber artan seyreltme oranı kalkan balığında sperm motilitesini düşürmektedir [16].

Balığın sperması kıvamlı ve yapışkan olup seyreltici olmadan karıştırmak zordur. Yüksek seyreltici ile çok fazla karıştırılması spermatozoalara zarar verebilir. Yüksek seyreltme sonrası homojen bir sperma süspansiyonu, aktivasyon sonrası ve esnasında meydana gelen biyokimyasal değişimler ve eş zamanlı motilite incelemeleri için uygundur. Bunun için iki adım kullanılır. Birincisi 100 birim seyreltici, salmonidlerde olduğu miktar kadar K<sup>+</sup> ilave edilmesiyle veya seminal sıvı olarak aynı ozmotik basınca sahip bir seyrelticiyle spermin aktif olmadığı bir sıvının içinde olduğu bir test tüpü oluşturulur. Sperm aktivasyonunun ikinci seyreltme adımında ise direkt olarak mikroskop safhasına geçilebilir. Ön seyreltmesi yapılmış sperm solüsyonunun 1µl'si ile ortalama ozmotik basınca sahip aktivasyon solüsyonunun 19 µl'si bir cam lam üzerinde karıştırılır [11].

Çeşitli metotlar motilite ölçümünde kullanılır. Geçmişte çok yaygın olarak kullanılan çoğunlukla 0–5 üniteli isteğe göre seçimli bir orana göre spermin tüm hareketinin tespit edilmesiydi. Hareket süresi toplam motilite süresine [9] veya ileri hareket süresine [37] ve spermin %50'sinin hayatsal zamanına referans eder. Motilite süresi çoğu zamanlar yüzme yoğunluğunun tahminleriyle birleştirilir. Son zamanlardaki birçok çalışma spermin motilitesinin %'si olarak ölçüldüğünü göstermektedir [6].

Sperm motilitesinin araştırılmaları, flagellumun vuruş sıklığıyla [20] ve fotografik veya basın veya kuyruk hareketinin video kaydı ile ölçülmüştür [10, 11].

### Hareketlilik Süresi

Dış döllemeye sahip birçok kemikli balık türlerinde spermatozoa aktivitesi kısa süreli olup seyreltme sonrası maksimum hıza kavuşur ve hareket esnasında hızı düşer. Hareket flagellumun ön uç kısmı ile gerçekleşir. Spermatozoaların hareket süresi alabalıklarda 20-25 saniye, sazanlarda ise 1 dakikadan çok daha fazladır [16]. Salmonidlerde dölleme oranının düşük olmasının temel nedeni, spermatozoaların hareket sürelerinin çok düşük olmasıdır [1].

Ozmotik basınç, iyonik kompozisyon ve pH sperm aktivitesini belirleyen en önemli faktörlerdir. Tatlısu balıklarına göre deniz balıklarında daha yüksek bir osmotik basınç içinde motilite gerçekleşir. Ozmotik basınç, tatlısu balıklarında düşen veya deniz balıklarında seminal plazma ile karşılaştırıldığında artan sperm motilitesinin başlangıcını tetiklemede en yaygın olarak bilinen bir faktördür. Bununla beraber osmotik basınçtan başka diğer faktörlerin de birçok deniz balıklarında sperm motilitesini tetiklemektedir [19].

Salmonidlerde, sperm hareketliliği yüksek konsantrasyonlardaki  $K^+$  iyonundan dolayıdır. Tatlısu balıklarında, seyreltici esnasında  $K^+$  oranı düşer ve motilite başlar [43].  $Ca^{++}$  iyonunda salmonidlerdeki motilitenin başlangıcı için gereklidir [20]. Suyun pH'sı da spermatozoaları aktive etmektedir. Turna balığı (*Esox lucius*) için optimum pH değeri 8 olarak rapor edilmektedir [23].

### Dölleme Kapasitesi

Dölleme kapasitesi, sperm kalitesinin en belirgin göstergesidir. Suni inseminasyon ve sperm muhafazası üzerine yapılan birçok çalışmada güncel olarak bu parametre kullanılır. Bununla beraber dölleme kapasitesi, ovaryum sıvısı, seminal sıvı ve gametler arasındaki etkileşim ve yumurtaların kalitesi gibi birçok bağımsız faktörün etkisi altında gerçekleşir. İnseminasyon, seyrelticinin iyi tanımlanmış hacmi içerisinde tüm döllenebilir yumurtaları döllemek amacıyla minimum sayıda spermatozoa oluşturmak için spermanın farklı oranlarda seyreltilmesidir. Kullanılan seyreltici hem erkek hem de dişi gametler için uygun olmalıdır. Örneğin; sazanlarda (*Cyprinus carpio*) KCl çözümü (50 mM) iyi bir sperm seyreltiğidir. Fakat 5-10 mM  $K^+$ 'dan daha fazla tuz içeren çözeltiler içerisinde seyreltiklerinde yumurtalar döllemez. Gözlenmiş yumurtalar veya yumurtadan çıkmış larvaların yüzdesini belirten dölleme yüzdesi ve ilk beslenmeye alınan larvaların gelişim yüzdesi gamet kalitesinin en iyi göstergeleridir [16].

### Spermatozoa Konsantrasyonu

Spermadaki spermatozoa konsantrasyonu sperma kalitesini karakterize etmede yaygın olarak kullanılır. Balıklarda spermatozoa konsantrasyonu yıl içerisinde değişiklik gösterir. Spermatozoa sayımında hemositometre veya spektrofotometre tam sonuç verir. Spermatokrit (sperm hacmi) en az 5-10 dk için 10.000 g mikrotüpler içinde spermanın santrifüjlenmesi sonrası oluşturulur. Bununla beraber sperma sayımı ölçümünde bu zorunlu değildir [9].

## SONUÇ

Yavru balık üretiminin yeterli düzeyde olmaması su ürünleri yetiştiriciliği potansiyelini sınırlamaktadır. Yavru balık üretimini ise, elde edilebilen yumurta ve spermaların değişken kalitesi birinci derecede etkilemektedir. Yeterli sayı ve kalitede balık yumurtası, yaşama ve verim gücü yüksek

olan yavru balık elde edilmesindeki zorluklar, özellikle yeni türlerin üretime alınmaya başlanması ile birlikte daha da belirginleşmiştir. Kültürü yapılan birçok balık türünün üretimi veya yetiştiriciliği, hala doğal populasyonlarından yavru veya anaç teminine bağımlıdır. Mevcut balık üretimi dünya nüfusunun balık ihtiyacını karşılamaktan uzaktır. Bu ihtiyacın yetiştiricilik yolu ile karşılanabilmesinde, mevcut toplam yavru balık üretimi sınırlayıcı etki yapmaktadır. Özellikle tatlı sularda doğal olarak üretilen balıkların bu ihtiyacı karşılamaları mümkün görülmemektedir. Bu ihtiyacı karşılayabilmek için, doğal üretimin yanı sıra balıkların suni olarak üretilmesi yoluna gidilmiştir. Bu amaçla, modern balık kuluçkahanelerinde uygun zamanda ve yüksek kalitede yumurta üretilerek, bunların kaliteli sperma döllemesi ve uygun kuluçkalama teknikleriyle yüksek sayıda larvaların elde edilmesi sağlanmıştır. Damızlık gökkuşacağı alabalıklarında stoklama düzeyi, yemleme oranı, miktarı ve kalitesi, suyun fiziksel, kimyasal ve biyolojik kalitesi, sağım yöntemi, damızlık balıkların yaşı ve büyüklüğünün; yumurtanın üretim zamanı, sayısı, kalitesi ve dölverimi üzerinde doğrudan etkili olduğu belirlenmiştir.

## KAYNAKLAR

- [1] Aas, G.H., Refstie, T. and Gjerde B., 1991. Evaluation of milt quality of Atlantic salmon, Aquaculture, 95, 125-32.
- [2] Adalino, V.M.C., Scott, A.P., 1991. Levels of 17a. 20a. dihydroxy-4-pregnen-3-one, 3b, 17a. 20a-trihydroxy-5b-pregnane, and other sex steroids in blood plasma of male Dab, *Limanda limanda* (Marine Flatfish) injected with human chorionic gonadotrophin. General and Comparative Endocrinology, 83:258-264.
- [3] Aksnes, A., Gjerde, B. and Ronald, S.O., 1986. Biological, chemical and organoleptic changes during maturation of farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*, Aquaculture, 53, 7-20.
- [4] Belova, N.V., 1982. Ecological and physiological properties the semen of pond cyprinids II. Physiological-biochemical parameters of the semen of some cyprinid species, Journal of Ichthyology, 22, 63-77.
- [5] Billard, R., 1983a. Spermiogenesis in the rainbow trout *Salmo gairdneri*; an ultrastructural study, Cell Tissue Research, 233, 265-84.
- [6] Billard, R., 1986. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species, Reproduction, Nutrition and Development, 26, 877-920.
- [7] Billard, R., 1987. Testis growth and spermatogenesis in teleost fish; the problem of the large interspecies variability in testis size, Proceeding of the 3rd International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, St John's, Newfoundland, pp., 183-6.
- [8] Billard, R., 1990a. Spermatogenesis in teleost fish, In Marshall's Physiology of Reproduction, Vol.2 (ed. G.E. Lamming), Churchill Livingstone, Edinburgh, pp. 183-212.
- [9] Billard, R. and Cosson, M.P., 1986. Sperm motility in rainbow trout, *Parasalmo mykiss*; effect of pH and temperature; reproduction in fish. Basic and applied aspects in endocrinology and genetics, INRA, Paris, les Colloques INRA, 44, 161-76.
- [10] Billard, R. and Cosson, M.P., 1990. The energetics aspects of fish sperm motility. In Control of Sperm Motility, Biological and Clinical Aspects, (ed. C. Gagnon), CRC

- Press, Boca Raton, FL., pp., 153-73.
- [11] Billard, R. and Cosson, M.P., 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish, *Journal of Experimental Zoology*, 261, 122-31.
- [12] Bromage, N., 1988. Propagation and stock improvement. In *Intensive Fish Farming*, (eds J. Shepherd and N. Bromage), Blackwell Science. Oxford, pp. 103-50.
- [13] Bromage, N. and Cumaranatunga, R., 1988. Egg production in the rainbow trout. In *Recent Advances in Aquaculture*, Vol. IV (eds J.F. Muir and R.J. Roberts), Croom Helm/Timber Press., London and Sydney/Portland, Oregon, pp. 63-138.
- [14] Bromage, N., Jones, J., Randall, C., Thrush, M., Davies, B., Springate, J., Duston, J., Barker, G., 1992. Brood stock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 100, 141-166.
- [15] Bromage, N., Shields, R., Basavaraja, N., Bruce, M., Young, C., Dye, J., Smith, P., Gillespie, M., Gamble, J. and Rana, K., 1994. Egg quality determinants in finfish: the role of overripening with special reference to the timing of stripping in the Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*, *Journal of the World Aquaculture Society*, 25.
- [16] Bromage, R.N. and Roberts, J.R., 1995. Broodstock management and egg larval quality, Blackwell Science Ltd., pp., 1-75.
- [17] Campbell, P.M., Pottinger, T.G. and Sumpter, J.P., 1992. Stress reduces the quality of gametes produced by rainbow trout, *Biology of Reproduction*, 47, 1140-50.
- [18] Carl, E.B., 1979. *Biology of Fishes*, Oregon State University Corvallis, Oregon, W. B. Saunders Company, pp. 406-422.
- [19] Chambeyron, F. and Zohar, Y., 1990, A diluent for sperm cryopreservation of gilthead sea bream *Sparus aurata*, *Aquaculture*, 90, 345-52.
- [20] Cosson, M.P., Billard, R. and Letellier, L., 1989. Rise of internal Ca<sup>2+</sup> accompanies the initiation of trout spermatozoa motility using stroboscopy, *Aquaculture*, 46, 424-34.
- [21] Çelikkale, M.S., 1988. İçsu balıkları ve yetiştiriciliği. K.T.Ü. Sürmene Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Yüksekokulu, Fakülte Yayın no:2, Trabzon, 419 s.
- [22] Dabrowski, K. and Ciereszko, A., 1992. Seminal plasma proteinase inhibitor(s) in fish, *Workshop on Gamete and Embryo Storage and Cryopreservation in Aquatic Organisms*, Marly le Roi, France, Abstract, p. 11.
- [23] Dublinsky, D., 1982. Sperm motility of northern pike and chain pickerel at various pH values, *Transactions of the American Fisheries Society*, 11, 768-71.
- [24] Dzuba, B.B. and Cherepanov, V.V., 1992. A content of some intermediates of energetic exchange in activated carp sperm prior to and after cryopreservation, *Workshop on Gamete and Embryo Storage and Cryopreservation in Aquatic Organisms*, Marly le Roi, France, 30/03, Abstract, p. 51.
- [25] Gatti, J.L., Billard, R. and Christen, R., 1990. Ionic regulation of the plasma membrane potential of rainbow trout *Salmo gairdneri* spermatozoa: role in the initiation of sperm motility, *Journal of Cell Physiology*, 143, 546-54.
- [26] Gerking, S., 1982. The sensitivity of reproduction in fish to stressful environmental condition, In *Reproductive Physiology of Fish*, Pudoc Press, The Netherlands, pp. 224-8.
- [27] Gillet, C., 1991. Egg production in an Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) broodstock: effects of temperature on the timing of spawning and the quality of the eggs, *Aquatic Living Resources*, 4, 109-16.
- [28] Hardy, R., 1985. Salmonid broodstock nutrition, In *Salmonid Reproduction*, (eds R. Iwamoto and S. Sower), Washington Sea Grant Programme, University of Washington, Seattle, pp. 98-108.
- [29] Jamieson, B.G.M., 1991. *Fish Evolution and Systematics: Evidence from Spermatozoa*, Cambridge University Press.
- [30] Jonsson, B. ve Svavarsson, E., 2000. Connection between egg size and early mortality in arctic charr, *Salvelinus alpinus*, *Aquaculture*, 187, 315-317.
- [31] Khorevin, L.D., 1988. Production and qualitative characteristics of semen in autumn *Chum salmon*. *J. Ichthyol.*, Vol. 28, No:3, pp.46-51.
- [32] Kjorsvik, E, Mangor-Jensen, A. and Holmefjord, I., 1990. Egg quality in fishes, *Advances in Marine Biology*, 26, 71-113.
- [33] Labbe, C., Loir, M., Kaushik, S. and Maisse, G., 1991. The influence of both rearing temperature and dietary lipid origin of fatty acid composition of spermatozoan phospholipids in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, Effect on sperm conservation tolerance, In *Proceeding of Fish Nutrition in Practice*, Biarritz, France, pp. 49-59.
- [34] Lagler, F., K., 1956. *Freshwater Fishery Biology*, Department of Fisheries, Michigan University, Second Edition, W.M., C., Brown Company Publishers, Printed in USA, pp. 93-106.
- [35] Leung, L.K.P. and Jamieson, B.G.M., 1991. Live preservation of fish gametes, In *Fish Evolution and Systematics: Evidence from Spermatozoa*, (ed. B.G.M. Jamieson), Cambridge University Pres., pp. 245-95.
- [36] Levanduski, M.J., Cloud, J.G., 1988. Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) semen: Effect of non-motile sperm on fertility. *Aquaculture*, 75, 171-179.
- [37] Linhart, O., Slechta, V. and Slavik, T., 1991. Fish sperm composition and biochemistry, *Bulletin International Zoology*, *Academia Sinica Monograph*, 16, 285-311.
- [38] Munkittrick, K.R. and Moccia, R.D., 1987. Seasonal changes in the quality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) semen: effect of delay in stripping on spermatozoa motility, volume and seminal plasma constituents, *Aquaculture*, 64, 147-56.
- [39] Nassour, I. and Leger, C.L., 1989. Deposition and mobilization of body fat during sexual maturation in female trout *Salmo gairdneri* R, *Aquatic Living Resources*, 2, 153-9.
- [40] Naziroğlu, M., Gür, S., Şimşek, H., Köprücü, K., 2000. Relationship between levels of beta-carotene, vitamin A, vitamin E in the seminal plasma, spermatozoa, blood serum and liver of rainbow trout. *The Veterinary Record*, 147, 484-486.
- [41] Rana, K.J., 1995. *Cryopreservation of fish spermatozoa*, In *Cryopreservation and Freeze Drying Protocols*, The Humana Press Inc, New Jersey.

- [42] Sargent, J.R., Bell, M.V., Henderson, D.R. and Tocher, D.R., 1990. Polyunsaturated fatty acids in marine and terrestrial food webs, In *Comparative Physiology*, Vol. 5 (eds R. Kinne et al.), S. Karger, Basel, Switzerland, pp. 11–23.
- [43] Schlenk, W. and Kahmann, 1938. The chemical composition of seminal fluids and their physiological importance study with trout sperm, *Biochemical Zoology*, German, 295, 283-301.
- [44] Scott, A.P., and Baynes, S.M., 1980. A review of the biology, handling and storage of salmonid spermatozoa, *Journal of Fish Biology*, 17, 707-39.
- [45] Springate, J., Bromage, N., Elliott, J.A.K. and Hudson, D.L., 1984. The timing of ovulation and stripping and the effects on the rates of fertilization and survival to eying, hatch and swim-up in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* L.), *Aquaculture*, 43, 313-22.
- [46] Springate, J., Bromage, N. and Cumarantunga, R., 1985. The effects of different ration on fecundity and egg quality in Rainbow trout (*Salmo gairdneri* L.), In *Nutrition and Feeding in Fish*, (eds C.B. Cowey, A.M. Machie and J. A. Bell), Academic Press, London, pp. 371–91.
- [47] Sumpter, J.P., Carragher, J., Pottinger, T.G. and Pickering, A.D., 1987. The interaction of stress and reproduction in trout, *Proceedings of the 3rd International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*, Newfoundland, 299-302.
- [48] Watanabe, T., 1985. Importance of the study of broodstock nutrition for further development of aquaculture, In *Nutrition and Feeding of Fish*, (eds C. Cowey, A. Mackie and J. Bell), Academic Press, London, pp. 395–414.