



OĞUL OTU (*Melissa officinalis*) VE KIŞNIŞ (*Coriandrum sativum*) BİTKİ ÖZÜTLERİ KULLANILAN GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*) YUMURTALARININ KISA SÜRELİ MUHAFAZASI SONRASI EMBRİYOLOJİK GELİŞİMİN İZLENMESİ VE YAŞAMA ORANLARININ BELİRLENMESİ

Rahmi Can ÖZDEMİR

Kastamonu Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Kastamonu, TÜRKİYE

E-posta: rozdemir@kastamonu.edu.tr

Geliş tarihi:11.12.2018 Kabul tarihi:28.12.2018

Öz: Bu çalışmada, dişi gökkuşağı alabalığından elle sağım yoluyla elde edilen ve ovaryum sıvısı içerisinde saklanan yumurtaların kısa süreli muhafazası (4°C) süresince farklı zamanlarda döllenme yetenekleri tespit edilmiştir. Deneme 3 tekerrürlü olacak şekilde dizayn edilmiştir. Sağımdan hemen sonra 0. dk, 1. saat, 2. saat, 3. saat, 4. saat, 5. saat ve 6. saat olmak üzere 7 farklı deneme grubu oluşturulmuştur. 5. saat ve 6. saat'lik gruplarda ovaryum sıvısı ile birlikte doğal bağışıklık güçlendirici olarak oğul otu (*Melissa officinalis*) ve kişniş (*Coriandrum sativum*) bitki özütleri kullanılmıştır. Her bir deneme grubunda 35-40 gr (~250 adet) yumurta olmasına dikkat edilmiştir. Yüzde 0,3'lük NaCl çözeltisi sperm aktivasyon solüsyonu olarak kullanılmış ve döllenme işlemi gerçekleştirilmiştir. Döllenme işleminde kullanılan erkek gökkuşağı alabalıklarından sağım yoluyla elde edilen spermanın özellikleri döllenme işleminden önce ışık mikroskobu altında subjektif olarak tespit edilmiştir. Her bir sperma örneğinin hareketlilik yüzdesi ve süresi 3 kez kontrol edilerek ortalama değerleri alınmıştır. Hareketlilik değeri 90 ve üzerinde olan sperma döllenme işleminde kullanılmıştır. Döllenen yumurtalar kapalı devre sistemine bağlı kuluçka dolabında inkübe edilmiş (12°C) ve hayatta kalma oranları tespit edilmiştir. Kısa süreli yumurta muhafazası sonrası deneme gruplarının kontrol grubuna kıyasla döllenme oranlarında bir farklılık görülmemiştir. Belirli zamanlarda deneme gruplarından örnekler alınarak stereo mikroskopta embriyolojik gelişimleri takip edilmiştir. Ovaryum sıvısına kişniş bitki özütü eklenen grupta 14. gün itibarıyla hayatta kalan yumurta olmadığı, oğul otu eklenen grupta ise 2 gün gecikmeli olarak embriyolojik gelişimin tamamlandığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşağı alabalığı, kısa süreli yumurta muhafazası, embriyolojik gelişim, oğul otu (*Melissa officinalis*), kişniş (*Coriandrum sativum*)

Monitoring Embryological Development and Determination of Survival Ratios After Short-term Storage of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Eggs Using Lemon Balm (*Melissa officinalis*) and Coriander (*Coriandrum sativum*) Plant Extract

Abstract: In this study, fertilization ability of eggs, obtained by artificial stripping from female rainbow trout, after short term storage within ovarian fluid (4°C) was determined at different times. This experiment was conducted in triplicates. Seven different experimental groups were established and included 0. Min, 1. h, 2. h, 3. h, 4. h, 5. h and 6. h after artificial stripping. Besides ovarian fluid, methanolic extracts of lemon balm (*Melissa officinalis*) and coriander (*Coriandrum sativum*) were used in the 5. and 6. h groups as natural immune booster. Every experimental groups were composed of 35-40g (~250) eggs. A 0.3 NaCl solution was used in sperm activation and fertilization procedure was performed. Sperm was collected from male rainbow trout and first checked for motility was determined under a light microscope before fertilization. Percentage of motile and motility time of each sperm sample was controlled 3 time. Sperm which have motility value over 90 were used in fertilization. Fertilized eggs were incubated in vertical incubators (12°C) connected to a recirculating system and their embryological development and survival ratios were determined. There was no difference in the fertilization rates of the experimental groups after short-term egg storage compared to the control group. Embryological development of the experimental groups was investigated by stereo microscope at specific times. In the group added coriander plant extract to ovary fluid, it was found that there were no surviving eggs as of the 14th day, and the embryological development was completed with a delay of 2 days in the group that added lemon balm.

Keywords: Rainbow trout, short-term storage of eggs, embryological development, lemon balm (*Melissa officinalis*), coriander (*Coriandrum sativum*)



GİRİŞ

Somon balıklarında, ovülasyon sırasında vücut boşluğuna bırakılan yumurtalar “coelomic” ya da “ovaryum sıvısı” olarak adlandırılan sıvı içerisinde muhafaza edilir (Coffman ve Goetz, 1998). Yumurtalar bu sıvı içerisinde balığın abdomen kısmında bir hafta süreyle döllenebilme yeteneğini kaybetmeden tutulabilir (Springate ve ark., 1984). Somon balığı yumurtalarının sağımdan sonra ovaryum sıvısı ve streptomisin ya da penisilin eklenmiş suni solüsyonlar içerisinde kısa süreli muhafaza koşullarının tespit edilmesi amacıyla birkaç çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda yumurtalar, muhafaza edildiği sıcaklık derecesine bağlı olarak birkaç güne kadar ovaryum sıvısı içerisinde döllenebilme yeteneklerini kaybetmeden saklanabilmiştir (Withler ve Morley, 1968; Jensen ve Alderdice, 1984). Döllenmemiş somon gametlerinin kısa süreli muhafazasına; erkeklerin dişilerden daha sonra olgunlaştığında, erkek balıktan elde edilen spermanın kalitesi düşük olduğunda ya da inkübasyon basamaklarında beklenmedik problemlerle karşılaşılma ihtimaline karşı önlem alınması gerektiğinde ihtiyaç duyulmaktadır (Springate ve ark., 1984). Yumurtaların ovaryum sıvısı içerisinde saklanması sırasında mikrobiyal hareketliliğin zamanla arttığı çalışmalarda belirtilmiştir (Bonnet ve ark., 2003; Goetz ve Coffman, 2000; Holcomb ve ark., 2005).

Oğul otu (*Melissa officinalis*) Akdeniz bölgesi ve Orta Asya orijinli olan daha sonrasında tüm dünyada yayılış gösteren kişniş (*Coriandrum sativum*), gövde, kök ve meyvesinde bulundurduğu esansiyel yağların antiseptik ve antifungal etkisinden dolayı birçok çalışmada doğal besin koruyucu olarak kullanılmıştır (Du, 1999; Song ve ark., 2003; Zhao ve ark., 2011; Cao ve ark., 2012).

Bu çalışmada, somon türü olan gökkuşağı alabalığı yumurtalarının ovaryum sıvısı içerisinde kısa süreli muhafazası gerçekleştirilmiş ve muhafaza süresinin embriyolojik gelişim ile yaşama oranları üzerine etkisi gözlemlenmiştir. Gökkuşağı alabalığı yumurtalarının kısa süreli muhafazası sırasında ovaryum sıvısında meydana gelebilecek ve yumurta kayıplarına neden olabilecek olan mikrobiyal etkinin azaltılması amacıyla deneme gruplarının birçoğuna antimikrobiyal etkisinin olduğu daha önceki çalışmalarda tespit edilmiş olan bitki ekstraktları uygulanarak etkisi belirlenmiştir. Su ürünleri yetiştiricilik süreçlerinde sentetik ürünler yerine doğal bitkisel özüt maddelerinin dölleme esnasında gelişmesi muhtemel mikrobiyal faaliyetleri baskılaması amacıyla kullanılabilirliği, kullanılan ekstraktların antifungal etkisinin gözlemlenmesi için gökkuşağı alabalık yumurtalarında yüksek oranda kayıp meydana getiren saprolegniosis üzerine etkili olup olmadığı mantarlaşma kaynaklı ölen yumurtaların sayımı gerçekleştirilerek tespit edilmeye çalışılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışma; Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Kapalı Devre Kuluçkahanesinde 12°C sabit su sıcaklığında yapılmıştır. Araştırmada balık materyali olarak gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) anaçları seçilmiştir. 2-3 yaşındaki dişi gökkuşağı alabalıklarından sağım yöntemiyle yumurta elde edilmiş ve yumurtaların her bir deneme grubunda 35-40 gr (~250 adet) olmasına dikkat edilmiştir.

Dişi gökkuşağı alabalıklarından elle sağım yoluyla elde edilen yumurtaların ovaryum sıvısı içerisinde kısa süreli muhafazası (4°C) gerçekleştirilmiştir. Farklı zamanlarda ki döllenebilme yetenekleri tespit edilmiş ve embriyolojik gelişimleri incelenerek farklılıklar belirlenmiştir. Deneme 3 tekerrürlü olacak şekilde yapılmış ve sağımdan hemen sonra 0.dk, 1.saat, 2.saat, 3.saat, 4.saat, 5.saat ve 6.saat olmak üzere 7 farklı deneme grubu oluşturulmuştur. Muhafaza süresi uzadıkça ovaryum sıvısıyla birlikte muhafaza edilen gruplarda bakteriyolojik gelişimin gerçekleşme olasılığının artış göstermesinden dolayı 5.saat ve 6.saat'lik gruplarda ovaryum sıvısı ile doğal bağışıklık güçlendirici olan ve antimikrobiyal etkisi olduğu kanıtlanmış oğul otu (*Melissa officinalis*) ve kişniş (*Coriandrum sativum*) bitki özütleri kullanılmıştır.

Oğul otu (*Melissa officinalis*) ve Kişniş (*Coriandrum sativum*) bitki özütleri %40'lık sulu metanolik ekstrakt (aqueous methanolic extract) yöntemi kullanılarak elde edilmiştir. Metanolik ekstrakt hazırlanışı; 50 gr oda sıcaklığından kurutulan bitki toz haline getirilerek %40'lık metanol içerisinde en az 3 gün bekletilmiştir. Daha sonra karışım süzülerek katı partiküller uzaklaştırılmıştır. Evaporatör içerisinde metanol ve saf su uzaklaştırılıp bitki özütü elde edilmiştir. Bitki özütleri kullanılmak üzere 50°C'lik de-iyonize su ile çözündürülerek kullanıma hazır hale getirilmiştir (Bilen ve ark., 2016b).

Bitki özütleri 50 ml içerisinde 12 gr olacak şekilde hazırlanmıştır. Deney gruplarına 0,24 g/ml olacak şekilde hazırlanan özütlerden 2 ml alınarak deney gruplarına uygulanmıştır. Her bir deney grubu 4 ml ovaryum sıvısı içerisinde +4°C'lik soğutucuda bekletilmiştir. Bitki özütü katılan gruplarda ise 2 ml ovaryum sıvısı ile 2 ml bitki özütü karıştırılmıştır.

Dölleme işleminde kullanılacak sperma örnekleri de 4°C’de karanlık ortamda muhafaza edilmiş ve dölleme işleminden önce hareketlilik yüzdelerine ışık mikroskobu altında bakılmıştır. Yüzde 0,3’lük NaCl sperm aktivasyon solüsyonu olarak kullanılmış, %85’in üstünde olan sperma örnekleri dölleme işleminde kullanılmıştır. Ayrıca; kapalı devre sisteme erkek anaç balıklar getirilerek gerektiğinde taze sperma eldesi gerçekleştirilerek dölleme işlemi gerçekleştirilmiştir.

Her gün gerçekleştirilen kontroller sırasında ölü yumurtaların sifonlanması ve sayımı ile deneme gruplarına ait yaşama oranı verileri elde edilmiştir.

Deneme gruplarının embriyolojik gelişim gözlemlenmesi stereo mikroskop altında yumurtaların canlılığını koruyacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

Deneme gruplarına ait veriler yaşama oranı verileri Microsoft Office Excel programı ile yüzdesel olarak ifade edilmiştir.

SONUÇLAR

Çalışma sonucunda, farklı sürelerde muhafaza edilmiş yumurta gruplarının embriyolojik gelişim aşamaları genel olarak Şekil 1’de gösterilmiştir. Yalnızca ovaryum sıvısı içerisinde muhafaza edilen deneme gruplarında 7.saatte, oğul otu eklenen grupta 8. saatte, kişniş özütü eklenen grupta ise 10. saatte ilk hücre bölünmesi (2 hücre safhası) gerçekleşmiştir (Tablo 1). Kontrol grubuyla 6 saat süresince saklanmış gruplar arasında embriyolojik gelişim açısından fark olmadığı, kişniş özütü ilave edilmiş (5 saat muhafaza) yumurta grubuyla kontrol grubu karşılaştırıldığında ilk hücre bölünme zamanında oluşan gecikmenin artarak devam ettiği ve 32 hücre aşamasından sonra gelişimin tamamen durduğu gözlemlenmiştir (Tablo 1). Embriyolojik gelişimin durmasından sonra ki 10-12 gün içerisinde kişniş özütü ilave edilmiş deneme grubunda tüm yumurtaların öldüğü tespit edilmiştir (Tablo 2). Bir diğer bitki ekstraktı olan oğul otu özütü ilave edilmiş grupta ise hem kontrol grubu hem de 6 saat yalnızca ovaryum sıvısı içerisinde 4°C’de bekletilmiş yumurtaların dölleme sonrası embriyolojik gelişimleri karşılaştırıldığında, oğul otu ile muamele edilen embriyoların gelişimlerinin yavaş olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 1).

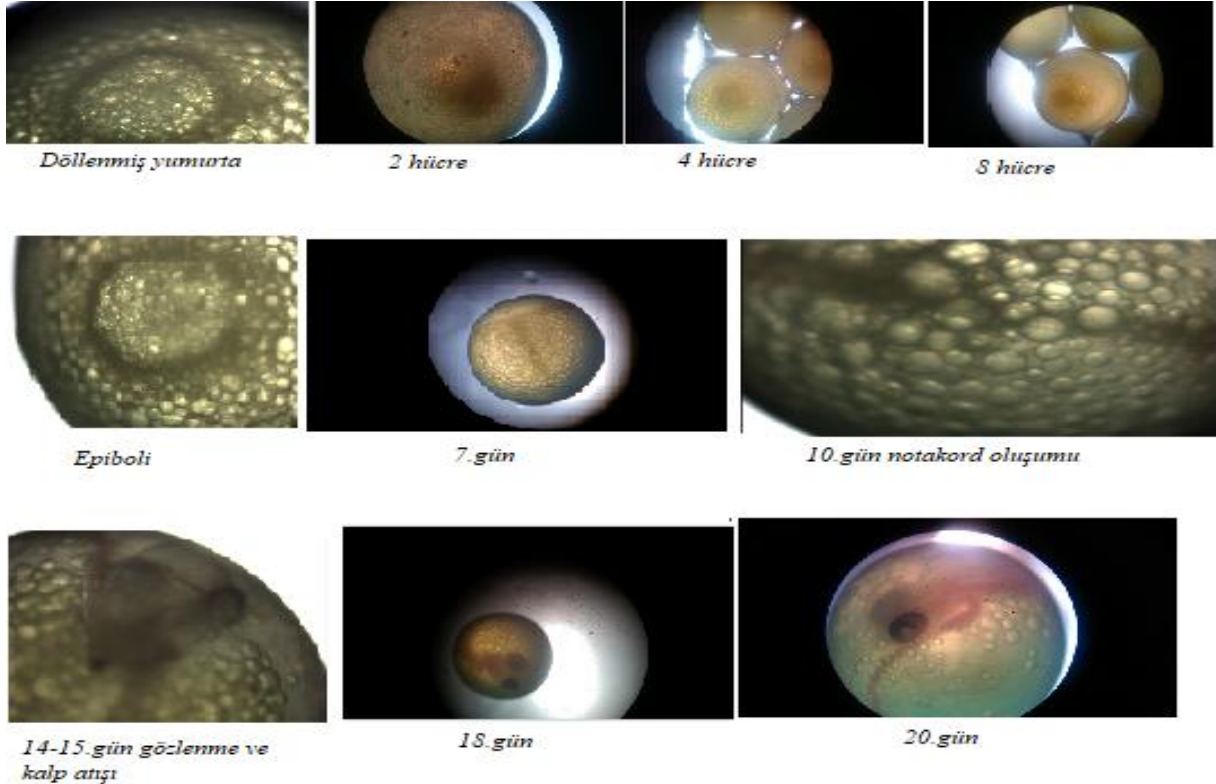
Deneme gruplarının yaşama oranı verileri incelendiğinde ise oğul otu özütü ilave edilmiş grup %90 yaşama oranına sahipken kişniş ilave edilmiş deneme grubunda 30.saatte ulaşmış olduğu 32 hücre aşamasından sonra hayatta kalan embriyo olmadığı tespit edilmiştir. Kişniş grubunda ki ölü yumurtalarda mantarlaşıma gözlenmemiştir. Oğul otu ile muamele edilmiş embriyoların gelişim süresi kontrol grubuna göre toplamda 2 gün gecikmeli olmasına karşın ölü yumurtalarda mantarlaşımanın diğer deneme gruplarına göre çok az olduğu, mantarlaşıma olsa bile canlı embriyolara bulaşmadığı gözlemlenmiştir. Kontrol grubu larva çıkış oranı (6 saat muhafaza) ile oğul otu larva çıkış oranı ve hayatta kalma yüzdesi karşılaştırıldığında, %10 oranında larval yaşama yüzdesinde artış elde edildiği tespit edilmiştir (Tablo 2).

Tablo 1. Kısa süreli muhafaza sonrası deneme gruplarına ait embriyolojik gelişim süreleri (12°C sabit su sıcaklığı)

Embriyolojik gelişim safhası	0.saat	1.saat	2.saat	3.saat	4.saat	5.saat	6.saat	5.saat (kişniş ile)	6.saat (melisa ile)
2 Hücre	7.saat	7.saat	7.saat	7.saat	7.saat	7.saat	7.saat	10.saat	8.saat
4 Hücre	10.saat	10.saat	10.saat	10.saat	10.saat	10.saat	10.saat	14.saat	11.saat
8 Hücre	12.saat	12.saat	12.saat	12.saat	12.saat	12.saat	12.saat	18.saat	13.saat
16 Hücre	16.saat	16.saat	16.saat	16.saat	16.saat	16.saat	16.saat	1.gün	18.saat
32 Hücre	19.saat	19.saat	19.saat	19.saat	19.saat	19.saat	19.saat	30.saat	21.saat
Morula	21.saat	21.saat	21.saat	21.saat	21.saat	21.saat	21.saat	-----	24.saat
Blastodisk başlangıcı	35.saat	35.saat	35.saat	35.saat	35.saat	35.saat	35.saat	-----	40.saat
Blastula	50.saat	50.saat	50.saat	50.saat	50.saat	50.saat	50.saat	-----	55.saat
Bud safhası	60.saat	60.saat	60.saat	60.saat	60.saat	60.saat	60.saat	-----	66.saat
1/3 epiboli	72.saat	72.saat	72.saat	72.saat	72.saat	72.saat	72.saat	-----	80.saat
½ epiboli	92.saat	92.saat	92.saat	92.saat	92.saat	92.saat	92.saat	-----	112.saat
2/3 epiboli	112.saat	112.saat	112.saat	112.saat	112.saat	112.saat	112.saat	-----	130.saat
¾ epiboli	130.saat	130.saat	130.saat	130.saat	130.saat	130.saat	130.saat	-----	144.saat
Blastoderm	144.saat	144.saat	144.saat	144.saat	144.saat	144.saat	144.saat	-----	155.saat

Tablo 1. Kısa süreli muhafaza sonrası deneme gruplarına ait embriyolojik gelişim süreleri (12°C sabit su sıcaklığı) (Devam)

Serbest kuyruk yüzgeci	155.saat	155.saat	155.saat	155.saat	155.saat	155.saat	155.saat	----	180.saat
Kalp atışı	180.saat	180.saat	180.saat	180.saat	180.saat	180.saat	180.saat	----	220.saat
¼ besin kesesi vazkulizasyonu	200.saat	200.saat	200.saat	200.saat	200.saat	200.saat	200.saat	----	240.saat
2/3 besin kesesi vazkulizasyonu	220.saat	220.saat	220.saat	220.saat	220.saat	220.saat	220.saat	----	264.saat
Kardinal vena ile besin kesesinden beslenme	240.saat	240.saat	240.saat	240.saat	240.saat	240.saat	240.saat	----	288.saat
“Gözlenme” ¼ besin kesesi vazkulizasyonu	264.saat	264.saat	264.saat	264.saat	264.saat	264.saat	264.saat	----	312.saat
Kuyruk kasılmaları. Anal yüzgeç belirginleşmesi	344.saat	344.saat	344.saat	344.saat	344.saat	344.saat	344.saat	----	418.saat
Operkulumun solungaçları tamamen kapatması	564.saat	564.saat	564.saat	564.saat	564.saat	564.saat	564.saat	----	612.saat
%50 larva çıkışı	624.saat	624.saat	624.saat	624.saat	624.saat	624.saat	624.saat	----	672.saat



Şekil 1. Embriyolojik gelişim basamakları

Tablo 2. Kısa süreli muhafaza sonrası deneme gruplarına ait yaşama oranları

Yaşama Oranları	0.saat	1.saat	2.saat	3.saat	4.saat	5.saat	6.saat	5.saat (kişniş ile)	6.saat (melisa ile)
1.gün	%100	%100	%100	%100	%100	%100	%100	%100	%100
2.gün	%99	%99	%98	%98	%98	%98	%98	%80	%98
7.gün	%95	%95	%93	%93	%93	%93	%93	%50	%95
14.gün	%92	%92	%92	%92	%92	%92	%92	%0	%95
16.gün	%90	%90	%89	%89	%89	%89	%89	-----	%95
18.gün	%90	%90	%89	%89	%89	%89	%89	-----	%93
20.gün	%88	%88	%86	%86	%86	%86	%86	-----	%90
22.gün	%88	%88	%86	%86	%86	%86	%86	-----	%90
24.gün	%88	%88	%86	%86	%86	%80	%80	-----	%90
26.gün	%88	%88*	%86*	%86*	%86*	%80	%80	-----	%90
28.gün						%80*	%80*	-----	%90*

* Yumurtadan çıkış

TARTIŞMA

Lahnsteiner ve Weismann (1999) çalışmalarında 3 farklı somon türünün gametlerinin karanlık ortamda kısa süreli muhafazası sonrası (4 saat-4°C) dölleme oranında % 10 oranında düşüş olduğunu tespit etmiştir. Goetz ve Coffman (2000) ise hem antibiyotik ilave edilmiş suni ovaryum sıvısı içerisinde hem de katkısız olarak balıktan elde edilen ovaryum sıvısı içerisinde kısa süreli muhafaza edilmiş yumurtaların döllemesi amacıyla taze sağılmış spermayı kullanarak spermin dölleme oranına etkisini ortadan kaldırmış ve yalnızca suni ve doğal ovaryum sıvısının koruyucu etkisini karşılaştırmıştır. Antibiyotik ilave edilmemiş doğal ovaryum sıvısında saklanan yumurtaların dölleme ve gözlenme oranlarının (%40±10), suni ovaryum sıvısına (65±10) göre düşük olduğunu tespit etmiştir.

Poon ve Johnson (1970), Sauter ve ark.,(1987) ile Goetz ve Coffman (2000) yapmış oldukları çalışmalarda balık dölleme oranını etkileyen ovaryum sıvısına kan ya da çatlamış yumurta sıvısı bulaşmasının bakteriyel kontaminasyon riskini artırması ve buna istinaden antibiyotik ilavesinin yapılması, uygun olmayan sıcaklık derecesi ve ortamda muhafaza gibi faktörlerin dölleme oranını düşürdüğünü (%30±10) ortaya koymuşlardır.

Bu çalışmada; doğal ovaryum sıvısı içerisinde yumurtaların 6 saate kadar 4°C’de karanlık ortamda muhafazası ile antimikrobiyal ve antifungal etkiye sahip olduğu bilinen doğal bitki özütleri kullanılarak kısa süreli yumurta muhafazası gerçekleştirilmiştir. Kısa süreli muhafaza sonrası deneme gruplarının embriyolojik gelişim, dölleme ve yaşama oranları ait veriler incelenmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde 6 saate kadar muhafaza sonrası dölleme oranında kontrol grubuna göre farklılık gözlemlenmemiştir. Oğul otu (*Melissa officinalis*)’nun yumurtanın kısa süreli muhafazası sonunda döllenebilme kabiliyetini kaybettirmeden koruyucu etki gösterdiği, mantarlaşmaya bağlı kayıpları da %10’luk oranda engellediği, kişniş (*Coriandrum sativum*)’in ise uygulanan dozda lethal etki gösterdiği daha düşük dozda kullanılması gerektiği tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Bilen, S., Ünal, S., and Güvensoy, H. (2016b). Effects of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and nettle (*Urtica dioica*) methanolic extracts on immune responses and resistance to *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 454, 90-94.
- Bonnet E., Jalabert B. and Bobe J., 2003. A 3-day in vitro storage of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) unfertilised eggs in coelomic fluid at 12°C does not affect developmental success. *Cybum*, 27, 47-51.
- Cao, X.Z., You, J.M., Li, S.X. and Zhang, Y.L., 2012. Antimicrobial Activity of the Extracts from *Coriandrum sativum*, *International Journal of Food Nutrition and Safety*, 1(2):54-59.
- Coffman, M.A. and Goetz, F.W., 1998. Trout ovulatory proteins are partially responsible for the anti-proteolytic activity found in trout coelomic fluid. *Biology of Reproduction*, 59:497-502.



- Du, S. X., 1999. Anti-spoil features of the traditional flavor in China. *China Food Additives*, 3: 33-37.
- Goetz, F.W. and Coffman, M.A., 2000. Storage of unfertilized eggs of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in artificial media. *Aquaculture*, Vol. 184, 3-4:267-276.
- Holcomb M., Cloud J.G., Ingermann R.L., 2005. Impact of bacteria on short-term storage of salmonid eggs. *Aquac. Res.*, 36:1555–1561. doi:10.1111/j.1365-2109.2005.01379.x
- Jensen J.O.T. and Alderdice D.F., 1984. Effect of temperature on short-term storage of eggs and sperm of chum salmon (*Oncorhynchus keta*). *Aquaculture*, 37, 251–265.
- Lahnsteiner F. and Weismann T., 1999. Changes in eggs of brown trout, rainbow trout, and grayling during short-term storage. *North American Journal of Aquaculture* 61, 213–219.
- Poon D.C. and Johnson A.K., 1970. The effect of delayed fertilization on transported salmon eggs. *Progressive Fish-Culturist* 32, 81–84.
- Sauter R.W., Williams C., Meyer E.A., Celnik B., Banks J.L. and Leith D.A., 1987. A study of bacteria present within unfertilized salmon eggs at the time of spawning and their possible relation to early life stage disease. *Journal of Fish Diseases* 10, 193–203.
- Song, S. H., ve Wang, W. Q., 2003. On the the coriander nutrition and medicine. *Jilin Vegetables*, 3:25.
- Springate, J.R.C., Bromage, N.R., Elliott, J.A.K., Hudson, D.L., 1984. The timing of ovulation and stripping and their effects on the rates of fertilization and survival to eying, hatch and swim-up in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Aquaculture*, 43:313-322.
- Withler F.C. and Morley R.B., 1968. Effects of chilled storage on viability of stored ova and sperm of sockeye and pink salmon. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 25, 2695–2699.
- Zhao, X. L., 2011. Research progress in functional ingredient and healthy function of coriander. *Sci. Tech. Food Indus.*, 4: 427-429