

Nil Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) Rasyonuna Vitamin E (Alfa-Tokoferol Asetat) Katkısının Bazı Spermatolojik Parametreler ve Malondialdehid Düzeyine Etkisi

Şeyma ÖZER KAYA^{1,a,*}, Seyfettin GÜR^{1,b}, Özden BARIM ÖZ^{2,c}

¹Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

²Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

^aORCID: 0000-0002-9970-9364, ^bORCID:0000-0003-0096-2501, ^cORCID:0000-0002-4202-8402

Geliş Tarihi: 11.09.2019

Kabul Tarihi: 12.12.2019

Özet: Bu çalışmada, Nil Tilapia balıklarının rasyonuna vitamin E (Alfa-tokoferol Asetat) katkısının spermatolojik parametreler (sperm motilitesi, yoğunluğu ve pH'sı) ve malondialdehit (MDA) düzeyleri üzerine olan etkisi araştırıldı. Çalışmada her bir deneme grubunda 12 balık olmak üzere toplam 48 tilapia balığı kullanıldı. Balıkların beslenmesi için %32 oranında ham protein içeren bir kontrol rasyon hazırlandı. Bu rasyona 80 mg/kg, 160 mg/kg ve 240 mg/kg miktarlarında vitamin E ilave edilerek sırasıyla D1, D2 ve D3 nolu deneme rasyonları oluşturuldu. Tilapia balıklarının canlı ağırlıklarının %4'ü oranında hazırlanan rasyon, 3 ay süreyle günde üç öğün halinde 25±1 °C su sıcaklığında verildi. Çalışmanın sonunda, D1 ve D3 gruplarında kontrol grubuna göre MDA düzeylerinin sayısal olarak arttığı ancak bu artışın istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir (p>0,05). D2 grubunda sperm motilitesinin ve sperma pH'nın sayısal olarak arttığı, ancak bu artışın istatistiksel olarak önemsiz olduğu (p>0,05) belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Nil tilapia, Vitamin E, Malondialdehid, Spermatolojik parametreler, Alfa-tokoferol asetat.

The Effect of Vitamin E (Alpha-Tocopherol Acetate) Supplements to Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) Ration on Some Spermatological Parameters and Malondialdehyde Level

Abstract: In this study, the effect of vitamin E (Alpha-tocopherol Acetate) contribution to the ration of Nile Tilapia fish on spermatological parameters (sperm motility, density and pH) and malondialdehyde (MDA) levels were investigated. In the study, a total of 48 tilapia fish, 12 fish in each experimental group, were used. A control diet containing 32% crude protein was prepared for feeding the fish. To this diet, 80 mg/kg, 160 mg/kg and 240 mg/kg amounts of vitamin E were added to form D1, D2 and D3, respectively. The ration prepared at the rate of 4% of the live weights of Tilapia fish was given at 25±1 °C water temperature in three times a day for 3 months. At the end of the study, it was determined that MDA levels were increased numerically in D1 and D3 groups, but this increase was statistically insignificant (p>0.05). It was determined that sperm motility and sperm pH were increased numerically in the D2 group, but this increase was statistically insignificant (p>0.05).

Key words: Nile Tilapia, Vitamin E, Malondialdehyde, Spermatological parameters, Alpha-Tocopherol Acetate

Giriş

Tilapia balıkları, Cichlidae familyasından olup özellikle Doğu Afrikada yetiştirilir. Tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygın olarak bulunan tilapia balıkları kolayca döl verebilmesi, çevresel şartlardaki değişikliklere karşı dayanıklılığı ve protein kaynağı olarak etlerinin lezzetinden dolayı yetiştiricilikte tercih edilmektedir (Lovell, 1989).

Son yıllarda ülkemizin güney bölgelerinde de yetiştirilme potansiyeli bulunan bu türün, dünyada kullanımı artarak ortalama 1,5 milyon tona ulaşmış ve bunun % 66,6'sı yetiştiricilikle elde edilmiştir. Bu öneme binaen tilapia balıkları üzerinde çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir. Dünya nüfusunun her geçen gün artmasından dolayı besin ihtiyaçlarının karşılanması amacıyla günümüzdeki çalışmaların

çoğuna tilapia balıkları temel oluşturmaktadır (Roderick, 2001).

Günümüzde besin ihtiyaçlarını karşılaması amacıyla en önemli verim olan döl verimi yani tilapia sayısının artışı amaçlanmıştır. Bu yüzden balık rasyonlarına birçok farklı madde katılarak verim artışına bakılmış, katılan katkı maddelerinden özellikle vitamin E (alfa tokoferol)'nin üreme performansını ve döl verimini arttırıcı, steriliteyi engelleyici ve antioksidan özellikleri ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır (Gammanpila ve ark., 2007; Santiago ve Gonzal, 2000; Stéphan ve ark., 1995).

Büyüme, et kalitesi, yem değerleri üzerinde balık rasyonlarında vitamin E önemli bir etkiye

sahiptir. Ayrıca yapılan çalışmalarda vitamin E düzeyinin değişiminin parametrelerde farklı bulgulara neden olduğu belirtilmiştir (Gatta ve ark., 2000; Kocabas ve Gatlin, 1999). Vitamin E mortaliteyi azaltması ve balık immün sistemi açısından önemli bir besin kaynağıdır (Panigrahi ve ark., 2004; Shiao ve Hsu, 2002).

Balık yetiştiriciliğinde hastalıklar, bazı olumsuz çevre şartları, suda meydana gelen ani kimyasal ya da fiziksel değişimler stres oluşmasına neden olur ve hücrede serbest radikal üretimini artırır (Ashley, 2007). Böylece yağ asitlerinin oksidatif yıkımı (lipit peroksidasyon) gerçekleşir (Fang ve ark., 2002). Son yıllarda vitamin E çeşitli balık türlerinde oksidatif hasara karşı antioksidan özellik göstermesinden dolayı üretimi arttırmak amacıyla kullanılmıştır (Adham ve ark., 2000; Ispir ve ark., 2011). Malondialdehid (MDA) lipid peroksidasyonun en önemli göstergesi olup hücre membran bütünlüğünün bozulması sonucu düzeyleri artmaktadır (Winston ve Giulio, 1991).

Taze sperma kalitesi su ürünleri yetiştiriciliğinde anaç yönetimi açısından, dölleme oranı ve böylece damızlıklardan sağlanan toplam canlı yumurta üretimini etkilediğinden çok önemli bir değişkendir. Günümüzde kalitesi iyi olan Nil Tilapia balık spermleri dondurularak döl verimini arttırmaya yönelik çalışmalar yapılmaktadır (Bozkurt ve ark., 2015). Sperma analizleri, üreticiye, suni döllemede kullanılan spermanın kullanımına, saklanabilirliğine ilişkin protokolleri geliştirmek için gerekli verileri sağlamaktadır. Sperma miktarı, sperm motilitesi ve yoğunluğu sperma kalitesini belirlemede en yaygın kullanılan özelliklerdendir. (Sönmez, 2016).

Bu çalışmada Nil Tilapia rasyonuna katılan vitamin E (Alfa-tokoferol Asetat)'nin sperm motilitesi ve yoğunluğu, sperma pH'sı ve MDA düzeylerine olan etkisi araştırıldı.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada, ergin (2-3 yaş) Nil Tilapia (*Oreochromis niloticus*) balıkları kullanıldı. Tilapia balıklarının beslenmesi amacıyla, kontrol rasyonu (K1) ham protein oranı % 32 olacak şekilde hazırlandı. Rasyona 80 mg/kg (D1), 160 mg/kg (D2) ve 240 mg/kg (D3) miktarlarında ilave edilen toz vitamin E (Ispir ve ark., 2011) ile rasyonların içeriği Tablo 1 de verildi. Çalışmada 4 grup için toplam 48 adet Nil Tilapia kullanıldı. Yem miktarı balıkların canlı ağırlığının % 4' ü oranında hesaplanarak günde üç kez 3 ay süreyle verildi. Ayda bir balıkların bulunduğu ortamın fiziko-kimyasal değerlerine bakıldı. Ortalama değer olarak su sıcaklığı $25 \pm 1^\circ\text{C}$, pH $7,5 \pm 0,42$, oksijen miktarı ise $7,3 \pm 0,82$ ppm olarak belirlendi.

Araştırmada kullanılan tilapia balıklarının ortalama ağırlığı ve toplam uzunluk değerleri ile testis ölçüleri Tablo 2 de verilmiştir.

Spermanın alınması: Balıklar kesildikten hemen sonra testisleri çıkarıldı. pH değeri 7.29, osmotik basıncı 0.3 osmol/Lt olan 1 mL % 0.9 NaCl (serum fizyolojik) içerisinde trimlendi.

Spermatolojik parametrelerin belirlenmesi: Nil Tilapia balığının testis sperm yoğunluğu hemasitometrik yöntemle Türk ve ark. (2008)'nin metodu modifiye edilerek belirlendi. Sonuçta sperm yoğunluğu ($\dots \times 10^9$ sperm/0,1 g testis /1 mL) olarak verildi. 4°C 'de saklanan spermaların motilite muayeneleri 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 saatlerde yapıldı. Motilite tayinleri yapılırken lam üzerine sulandırılmış spermadan 3 μL alınıp lamel kapatıldıktan sonra mikroskop altında ($\dots \times 400$ büyütmede), 10 ve 10'un katları şeklinde en az 3 veya 5 sahada belirlenip ortalamaları yüzde motilite oranı olarak verildi. Spermanın pH değeri pH metre kullanılarak ölçüldü.

Spermada MDA düzeyinin belirlenmesi: Testisten steril tüplere alınan sperma (1-1,3 mL) dakikada 3.500 devirde 7 dakika santrifüj edildi. Daha sonra 0,3 mL'lik tüplere alınarak üzerine perklorik asit ve saf sudan 300'er mL eklenerek vorteks ile karışması sağlandı. Bu karışım 5 dakika boyunca 3.500 devirde santrifüj edildi. Bu çözeltiden 20 μL alınarak, 30 mmol KH_2PO_4 ve metanol karışımı olan ve akış hızı 1,5 mL/dakikaya ayarlanan mobil faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) (CECIL 1100 series Cambridge England) cihazına enjekte edildi. Sonuçlar cihaz verileri alınarak belirlendi (Atamanalp ve Bayır, 2003; Karatepe, 2004; Şahan ve ark., 2003).

İstatistiksel analiz: Çalışmadan elde edilen veriler ortalama değer ve standart hata ($\pm\text{SEM}$) olarak sunuldu. SPSS (22.0, Chicago, IL, USA) istatistik programı verilerin istatistiki karşılaştırmaları için kullanıldı. $p < 0.05$ değeri istatistiki açıdan önemli kabul edildi.

Motilitede tekrarlı ölçümler için Bonferroni düzeltmeli non-parametrik Friedman testi ve ikili karşılaştırmalar için de non-parametrik Wilcoxon testi kullanıldı. Diğer parametreler (yoğunluk, pH, MDA düzeyleri) için non-parametrik Kruskal-Wallis varyans analizi ve ikili karşılaştırmalar için de non-parametrik Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Bulgular

Kontrol ve farklı miktarlarda rasyonlarına vitamin E katılarak beslenen Tilapia balıklarının sulandırılmış sperma örneklerinin zamana göre ortalama motilite değerleri Tablo 3'de verilmiştir.

Vitamin E ilave edilmeyen kontrol grubu ile 160 mg/kg vitamin E ilave edilerek beslenen balıklardan

Tablo 1. Araştırmada kullanılan rasyonun içeriği.

Yem Öğeleri	Rasyonlar(%)			
	Kontrol	Deneme 1 (D1)	Deneme 2 (D2)	Deneme 3 (D3)
Balık (hamsi) unu	12	12	12	12
Soya küspesi (ekstrude) ^a	43	42,992	42,984	42,976
Buğday unu	42,7	42,7	42,7	42,7
Bitkisel yağ	1,9	1,9	1,9	1,9
Antioksidan ^b	0,1	0,1	0,1	0,1
Vitamin karması ^c	0,25	0,25	0,25	0,25
Mineral karması ^d	0,05	0,05	0,05	0,05
Vitamin E (Alfatokoferol Asetat)	0	0,008	0,016	0,024

^a Vitamin E ilavesi nedeniyle deneme rasyonundaki denkleştirme işlemi, soya küspesi miktarı düşürülerek yapıldı.

^b Antioksidan (mg/kg premiks): Butyl hydroxytoluene 12,5.

^c Vitamin karmasında (mg/kg veya IU/kg): A vitamini 4000 IU, kolin 500, D vitamini 2000 IU, K vitamini 10, niasin 30, riboflavin 15, pantothenik asit 50, pridoksin 10, tiamin 10, folasin 5, askorbik asit 200.

^d Mineral karmasında (Keleştemur, (2012)): Mangan 25, bakır 3, iyot 5, çinko 100, kobalt 0,05, demir 44, selenyum 0,3.

Tablo 2. Araştırmada kullanılan balıkların ortalama (\pm SEM) ağırlık ve uzunluk değerleri ve testis ortalama (\pm SEM) ağırlık, uzunluk ve kalınlık değerleri.

GRUP	BALIK		TESTİS		
	Ağırlık (gr)	Toplam Uzunluk (cm)	Ağırlık (gr)	Uzunluk (cm)	Kalınlık (cm)
Kontrol	28,39 \pm 3,51	12,21 \pm 0,39	0,74 \pm 0,42	7,40 \pm 1,06	0,37 \pm 0,75
D1	26,65 \pm 3,73	12,04 \pm 0,53	0,53 \pm 0,38	6,61 \pm 1,56	0,30 \pm 0,13
D2	22,86 \pm 6,15	11,37 \pm 0,88	0,62 \pm 0,48	6,05 \pm 1,92	0,34 \pm 0,13
D3	22,77 \pm 5,57	11,41 \pm 0,86	0,34 \pm 0,35	5,73 \pm 2,41	0,23 \pm 0,16

Tablo 3. Yemlerine vitamin E (D1 80 mg/kg, D2 160 mg/kg ve D3 240 mg/kg) ilave edilen ve kontrol grubu balık spermalarının zamana bağlı ortalama (\pm SEM) motilite değerleri

	Motilite (%)						
	0.saat	1.saat	2.saat	3.saat	4.saat	5.saat	6.saat
KNT	85,66 \pm 1,49 ^a	76,00 \pm 2,63 ^b	59,00 \pm 6,23 ^c	52,33 \pm 6,45 ^d	43,66 \pm 6,76 ^e	35,66 \pm 6,87 ^f	26,66 \pm 6,48 ^g
D1	82,66 \pm 1,02 ^a	74,00 \pm 1,47 ^b	63,00 \pm 2,67 ^c	52,16 \pm 3,03 ^d	42,00 \pm 3,40 ^e	33,16 \pm 3,49 ^f	25,33 \pm 3,73 ^g
D2	85,42 \pm 1,04 ^a	76,85 \pm 2,04 ^b	64,85 \pm 1,73 ^c	56,57 \pm 2,45 ^d	47,42 \pm 3,19 ^e	40,57 \pm 2,95 ^f	33,14 \pm 3,14 ^g
D3	82,75 \pm 0,99 ^a	75,00 \pm 1,41 ^b	63,75 \pm 2,08 ^c	51,00 \pm 2,47 ^d	42,00 \pm 3,00 ^e	31,75 \pm 2,88 ^f	22,25 \pm 2,68 ^g

a, b, c, d, e, f, g: Herbir grupta zaman dilimleri arasındaki önemli farklılığı göstermektedir.

Tablo 4. Yemlerine vitamin E (D1 80 mg/kg, D2 160 mg/kg ve D3 240 mg/kg) ilave edilen ve kontrol grubu balık spermalarının ortalama (\pm SEM) yoğunluk, pH ve MDA değerleri.

	Yoğunluk (.. x10 ⁹ /0,1 gr/1 mL)	pH	MDA (nmol/mL)
KONT	3,17 \pm 0,25	7,83 \pm 0,10	3,23 \pm 0,51
D1	2,29 \pm 0,20	7,79 \pm 0,09	3,48 \pm 0,34
D2	2,92 \pm 0,47	8,07 \pm 0,13	3,04 \pm 0,43
D3	2,24 \pm 0,27	7,68 \pm 0,18	3,62 \pm 0,45

elde edilen spermaların motiliteleri karşılaştırıldığında 160 mg/kg vitamin E ilave edilen balıkların sperm motilitesini 2. saatten itibaren sayısal olarak arttırdığı ancak bu artışın istatistiki olarak önemsiz düzeyde olduğu belirlenmiştir ($p>0.05$).

Rasyonlarına vitamin E katılmayan (K1) ve farklı miktarlarda vitamin E katılan D1 (80 mg/kg vitamin E), D2 (160 mg/kg vitamin E), D3 (240 mg/kg vitamin E) grubu balıkların ortalama sperm yoğunluğu, sperma pH ve MDA düzeylerine ait değerler Tablo 4’de verilmiştir.

Deneme grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında sperm yoğunluğunun deneme gruplarında istatistiki olarak önemsiz düzeyde düştüğü saptanmıştır. Deneme grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında rasyona 160 mg/kg vitamin E katılmasının sperma pH’sını artırdığı belirlenmiştir. Ayrıca 80 mg/kg Vitamin E katılması ve 240 mg/kg vitamin E katılmasının kontrol grubuna göre MDA düzeyini arttırdığı belirlenirken, sperma pH ve MDA düzeylerindeki bu sayısal artışların istatistiksel olarak önemsiz düzeyde olduğu tespit edilmiştir. ($p>0.05$).

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada rasyona ilave edilen 160 mg/kg vitamin E’nin balıkların sperm motilitesini 2. saatten itibaren sayısal olarak arttırdığı ancak bu artışın istatistiki olarak önemsiz düzeyde olduğu belirlenmiştir ($p>0.05$). Gammanpıla ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada, bazı üreme performanslarının iyileştirilmesi için (toplam yumurtlama sayısı, toplam sperm sayısı, üretim, verimlilik, çıkım oranı, sperm hareketliliği ve sperm canlılığı) *O. niloticus* balık yemlerine farklı oranlarda kattığı C (1250 mg kg^{-1}) ve E (300 mg kg^{-1}) vitaminlerinin sperm motilitesi ve yoğunluğunu ve sperma hacmini olumlu yönde etkilediği ancak istatistiksel anlamda bir fark olmadığını belirtmişlerdir. Kısa süreli saklama esnasında sperm motilitesinin kontrole göre artması veya bir başka değişle saatlere göre motilitenin daha yüksek düzeyde seyretmesi vitamin E nin etkisinden dolayı olduğu belirtilmektedir. Ayrıca vitamin E’nin, lipid peroksili ve alkoksil radikalini nötralize ederek lipid peroksidasyonu engelleyerek spermatozoon motilitesinin artmasına neden olduğu belirtilmiştir (Agarwal ve ark., 2003). Vitamin E; meydana gelen oksidatif strese ve onun etkilerine karşı koruyucu özelliğe sahiptir ve hücrenin ölümünü geciktirmektedir (Akiyama, 1999).

Yapılan çalışmada 80 mg/kg ve 240 mg/kg vitamin E ilavesinin kontrol grubuna göre MDA düzeyini arttırdığı belirlenmiş, ancak bu sayısal artışların istatistiksel olarak önemsiz olduğu tespit

edilmiştir ($p>0.05$). Lipid peroksidasyonu, organizmadaki birçok molekül için geçerli olan ve organizmaya zarar veren bir reaksiyonlar zinciridir. Membrandaki doymamış yağ asit bağları, serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerine neden olur. Bu ürünler membran yapısına hasar verirler ve indirek olarak reaktif aldehitler üreterek hücre komponentlerine zarar verirler (Wang ve Quinn, 1999). MDA lipid peroksidasyonun en önemli göstergesidir (Winston ve Giulio, 1991). Membran bileşenlerine telafisi olmayan hasarlar (enzim aktivitesi, iyon transportu, deformasyon) verir. Balık yetiştiriciliğinde meydana gelebilecek stres faktörlerine karşı, rasyonlara bağışıklık sistemini güçlendirici ve koruyucu katkı maddelerinin ilave edildiği çalışmalar yapılmaktadır (Benzie, 2003; Kashif ve ark., 2003). Araştırmacılar, antioksidan özelliği bulunan bazı katkı maddelerinin balık rasyonlarına katılmasıyla balıkların kan ve başka birçok dokusunda MDA düzeylerini azaltarak lipid peroksidasyonun önüne geçildiğini bildirmişlerdir (Çoban ve Keleştemur, 2011; Talas ve ark., 2008). Keleştemur, (2012) yaptıkları çalışmada Tilapia balık rasyonlarına 30 mg/kg, 70 mg/kg miktarlarında antioksidan etkili beta karoten ilavesinin MDA düzeyini azalttığı ve istatistiksel olarak azalmayı önemli bulmuşlardır. Vitamin E, indirgeyici bir eleman olarak hücrede reaktif oksijen türlerinin (ROS) fonksiyonlarını ortadan kaldıracı etkisi bulunmaktadır (Akiyama, 1999). Son yıllarda vitamin E çeşitli balık türlerinde oksidatif hasara karşı antioksidan özellik göstermesinden dolayı üretimi arttırmak amacıyla kullanılmıştır (Adham ve ark., 2000). Bununla birlikte, fazla miktarda veya ROS düzeyinin fazla yükselmediği hallerde gereksiz şekilde kullanılması, fertilizasyon ve kapasitasyon ile ilgili olumlu etkileri durdurarak zararlı etki edebileceği bildirilmektedir (Donnelly ve ark., 1999).

Sonuç olarak, bu çalışmayla Tilapia rasyonuna 80 mg/kg, 240 mg/kg vitamin E ilavesinin MDA düzeylerini arttırdığı, Nil Tilapia rasyonuna, 160 mg/kg vitamin E katılmasının sperm motilitesini ve sperma pH’sını sayısal olarak artırdığı, ancak bu artışların istatistiksel olarak önemsiz olduğu ($p>0,05$) belirlenmiştir. Rasyonlara katılan vitamin E’nin belirlenen dozlarda ancak daha uzun süreli olarak balıkların beslenmesinde kullanılmasının daha etkili olacağı kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

Adham KG, Hashem MB, Abu-shabana MB, Kame AH, 2000: Vitamin C deficiency in the catfish. *Aquacult Nut*, 6, 129-139.

- Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA, 2003: Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril*, 79, 829-843.
- Akiyama M, 1999: In vivo scavenging effect of ethylcysteine on reactive oxygen species in human semen. *Japanese J Urology*, 90, 421-428.
- Ashley PJ, 2007: Fish welfare: Current issues in aquaculture. *App Anim Behaviour Sci*, 104, 199-235.
- Atamanalp M, Bayır A, 2003: Bir dezenfektanın (malahit yeşili) subletal dozlarının gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kan parametreleri üzerine etkileri. *Gazi Üniv Eğitim Fak Derg*, 23, 177-187.
- Benzie IF, 2003: Evolution of dietary antioxidants. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 136, 113-126.
- Çoban OE, Keleştemur GT, 2011: Farklı oranlardaki sentetik β -karotenin alabalık (*Oncorhynchus mykiss*, W. 1792) filetolarında kas karotenoid stabilitesi ve lipid peroksidasyon düzeyine etkileri. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 25, 17-21.
- Donnelly ET, McClure N, Lewis SE, 1999: Antioxidant supplementation in vitro does not improve human sperm motility. *Fertil Steril*, 72, 484-495.
- Fang YZ, Yang S, Wu G, 2002: Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition*, 18, 872-879.
- Gammanpila M, Yakupitiyage A, Bart AN, 2007: Evaluation of the effects of dietary vitamin C, E and Zinc supplementation on reproductive performance of Niletilapia (*Oreochromis niloticus*). *Sri Lanka J Aquat Sci*, 12, 39-60.
- Gatta PP, Pirini M, Testi S, Vignola G, Monetti PG, 2000: The influence of different levels of dietary vitamin E on sea bass *Dicentrarchus labrax* flesh quality. *Aquacult Nutr*, 6, 47-52.
- İspir U, Yonar ME, Oz OB, 2011: Effect of dietary vitamin E supplementation on the blood parameters of Nile tilapia. *J Anim Plant Sci*, 21, 566-569.
- Karatepe M, 2004: Simultaneous determination of ascorbic acid and free malondialdehyde in human serum by HPLC/UV. *LC-GC North America*, 22, 362-365.
- Kashif SM, Zaidi R, Banu N, 2003: Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. *Clinica Chimica Acta*, 340, 229-233.
- Keleştemur GT, 2012: Gökkuşluğu alabalığı yavrularının (*Oncorhynchus mykiss*, W.1792) diyetlerine katılan β -karotenin doku mda düzeyine etkisi. *FÜ Sağ Bil Vet Derg*, 26, 61-64.
- Kocabas AM, Gatlin DM, 1999: Dietary vitamin E requirement of hybrid striped bass (*Morone chrysops* female x *M. saxatilis* male). *Aquacult Nutr*, 5, 3-7.
- Lovell T, 1989: Nutrition and Feeding of Fish. An. AVI Book, Published by Van Nostrand Reinhold, NewYork.
- Panigrahi A, Kiron V, Kobayashi T, Puangkaew J, Satoh S, Sugita H, 2004: Immune responses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* induced by a potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136. *Vet Immun Immunopathol*, 102, 379-388.
- Roderick E, 2001: International file. Fish Farmer International, 15: 24.
- Santiago CB, Gonzal AC, 2000: Effect of prepared diet and vitamins A, E and C supplementation on the reproductive performance of cage-reared bighead carp *Aristichthys nobilis* (Richardson). *J App Ichthyology*, 16, 8-13.
- Shiau SY, Hsu CY, 2002: Vitamin E sparing effect by dietary vitamin C in juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* O. aureus. *Aquaculture*, 210, 335-342.
- Sönmez M, 2016: Reprodüksiyon, Suni Tohumlama ve Androloji Ders Kitabı. 3. Baskı, Elazığ.
- Stéphan G, Guillaume J, Lamour F, 1995: Lipid peroxidation in turbot (*Scophthalmus maximus*) tissue: effect of dietary vitamin E and dietary n-6 or n-3 polyunsaturated fatty acids. *Aquaculture*, 130, 251-268.
- Şahan A, Kurutaş E, Dikel S, 2003: Liver antioxidant systems and lipid peroxidation in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) adopted to fresh water. *Türk J Vet Animal Sci*, 27, 1261-1267.
- Talas ZS, Orun İ, Ozdemir I, Erdogan K, Alkan A, Yılmaz I, 2008: Antioxidative role of selenium against the toxic effect of heavy metals (Cd+2, Cr+3) on liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum 1792). *Fish Physiol and Biochem*, 34, 217-222.
- Türk G, Sönmez M, Aydın M, Yüce A, Gür S, Yüksel M, Aksu EH, Aksoy H, 2008: Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. *Clin Nutr*, 27, 289-296.
- Wang X, Quinn PJ, 1999: Vitamin E and its function in membranes. *Prog Lipid Res*, 38, 309-336.
- Winston GW, Giulio RT, 1991: Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic Toxicol*, 19, 137-161.

*Sorumlu Yazar: Şeyma ÖZER KAYA

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama AD, Elazığ, Türkiye.

e-mail: sozer@firat.edu.tr