

## KULUÇKAHANEDE YETİŞTİRİLEN PİSİ BALIĞI (*Platichthys flesus luscus* PALLAS, 1814)'NİN SPERMATOLOJİK ÖZELLİKLERİ

İlhan Aydın<sup>1\*</sup>, Temel Şahin<sup>2</sup>, Hamza Polat<sup>1</sup>, Ercan Küçük<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Central Fisheries Research Institute, Trabzon, Turkey

<sup>2</sup> Rize University, Faculty of Fisheries, Rize, Turkey

### Özet:

Bu çalışma, pisi balığı (*Platichthys flesus luscus* Pallas, 1814)'nın spermatolojik özelliklerini belirlemek amacıyla yapıldı. Üreme sezonunda, 10 erkek pisi balığından sperma abdominal masaj yöntemi ile alındı. Alınan spermalarda, miktar, motilite, motilite süresi, spermatokrit oranı (%), yoğunluk ve pH belirlendi. Bunların dışında, canlı ağırlık ile total boy ölçüldü ve bu parametreler ile spermatolojik özellikler arasındaki korelasyonlar araştırıldı. Pisi balığı spermalarında; miktar (ml), motilite (%), motilite süresi (d), spermatokrit oranı (%), yoğunluk ( $\times 10^9$  /ml) ve pH değerleri sırasıyla ortalama  $0.2 \pm 0.04$ ,  $88.0 \pm 13.80$ ,  $25.4 \pm 4.20$ ,  $92.6 \pm 4.3$ ,  $2.8 \pm 0.72$  ve  $6.9 \pm 0.10$  bulundu. Pisi balığının total boyu ve ağırlığı ile sperma miktarı arasında önemli ( $P < 0.01$ ) pozitif korelasyon, total boy ile motilite süresi ( $P < 0.05$ ) ve yoğunluk ile spermatokrit oranı ( $P < 0.05$ ) arasında ise negatif bir korelasyon saptandı.

**Anahtar Kelimeler:** Pisi balığı, *Platichthys flesus luscus*, sperma, spermatolojik özellikler

### Abstract:

**A Study on the spermatological characteristics of hatchery-reared flounder (*Platichthys flesus luscus* Pallas, 1814)**

This study was carried out to determine the spermatological characteristics in flounder (*Platichthys flesus luscus* Pallas, 1814). In the spawning season, semen was collected by abdominal massage from 10 male. In collected milts; volume, motility, duration of motility, spermatocrit ratio, concentration and pH were determined. Furthermore, body weight and total length were measured and correlations between spermatological characteristics and these parameters were investigated. In the semen of flounder, milt volume (ml), motility (%), duration of motility (min), spermatocrit ratio, concentration ( $\times 10^9$  /ml), and pH values were found as mean  $0.2 \pm 0.04$ ,  $88.0 \pm 13.80$ ,  $25.4 \pm 4.20$ ,  $92.6 \pm 4.3$ ,  $2.8 \pm 0.72$  ve  $6.9 \pm 0.10$ , respectively. It was found that there were positive correlations between body weight and total length, and volum ( $P < 0.01$ ), but negatif correlation between total length and duation of motility ( $P < 0.05$ ), and between density and spermatocrit ( $P < 0.05$ ).

**Key words:** Flounder, *Platichthys flesus luscus*, milt, spermatological characteristics

\* Correspondence to: İlhan AYDIN, Central Fisheries Research Institute, 61250, Trabzon -TURKEY

Tel: (+90 462) 341 10 53 – 315 Fax: (+90 462) 341 10 56

E-mail: [ilhan61@gmail.com](mailto:ilhan61@gmail.com)

## Giriş

Pisi balığı, *Pleuronectes flesus luscus*, Beyaz Deniz'den Akdeniz ve Karadeniz'e kadar Batı Avrupa'nın az tuzlu kıyusal sularında yayılış gösteren Pleuronectidae takımına ait bir türdür (Nielsen, 1986). Bu takımın bazı türleri yetiştiricilik açısından oldukça önemlidir ve farklı ülkelerde kültürü yapılmaktadır (Alvail ve Manriquez, 1999; Bengston, 1999; Olsen ve ark., 1999). Türkiye için ticari öneme sahip pisi balığı son yıllarda yetiştiricilik için de dikkate alınmaya başlanmıştır (Şahin, 2000).

Sperma kalitesi su ürünleri yetiştiriciliğinde anaç yönetimi açısından, dölleme oranı ve böylece anaçlardan elde edilen toplam canlı yumurta üretimini etkilediğinden, çok önemli bir değişkendir. Sperma miktarı, spermatozoa yoğunluğu, motilite ve motilite süresi sperma kalitesini belirlemede en yaygın kullanılan özelliklerdir (Billard ve ark. 1995).

Sperma miktarı, balığın sperma veriminin ve spermatozoa sayısının göstergelerinden birisidir. Moon ve ark. (2003) erkek *Platichthys stellatus*'ta sperma miktarı ve spermatozoa yoğunluğu arasında pozitif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. Sperma miktarı, sperma alma esnasında idrar karışması durumunda değişebilmekte, bu durumda ise renkte değişiklikler oluşabilmektedir (Glogowski ve ark., 2000).

Motilite spermanın yumurta ile temas edinceye kadar tam olarak hareketli olma zorunluluğundan dolayı çok büyük öneme sahiptir (Chauvaud ve ark., 1995). Spermadaki spermatozoalar balıktan alındıktan sonra hareketsiz kalmaktadırlar (Morisawa ve ark. 1988). Birçok balık türünde, ozmotik basınçtaki azalma, hareketsiz olan spermatozoadaki motiliteyi başlatılmaktadır (Darszon ve ark. 2001). Spermatozoadaki motilite ve motilite süresi başarılı bir fertilizasyon için gereklidir. Bu durum spermatozoaların ovuma ulaşip dölleyebilme yeteneğini göstermektedir. İyi kalitede bir spermada, bu iki özelliğe ait değerler yüksek bulunmuştur (Babiak ve ark., 1999, Tekin ve ark., 2003).

Spermatozoa yoğunluğu fertilizasyon oranına etki edebilen bir başka spermatojistik özelliktir (Aas ve ark., 1991). Fertilizasyon oranının % 50'den yüksek olabilmesi için ovum başına 3,8 x 10<sup>5</sup> spermatozoa olması gerektiği bildirilmektedir (Poole ve Dillane, 1998). Bu nedenle sperma-

daki spermatozoa yoğunluğunun belirlenmesi, döllemeye etki edebilmesi yönünden önem taşımaktadır.

Spermatojistik özelliklerden bir diğeri de sperma pH'ıdır. Sperma pH'ının spermatozoa motilitesine etki ettiği bildirilmektedir (Billard ve ark., 1995, Liley ve ark., 2002). Bu nedenle sperma pH'ındaki değişimlerin belirlenmesi, spermadaki spermatozoa oranı ve morfolojisi hakkında bilgi verebilmektedir.

Birçok balık türünde sperma kalitesi ve spermatojistik özellikler çalışılmış olmasına rağmen, Türkiye'de kültüre alınan pisi balığının spermatojistik özellikleri ile ilgili bir bilgi bulunmamaktadır. Spermatojistik özelliklerin belirlenmesi, normal bir dölveriminin elde edilmesinde ya da dölveriminde oluşabilecek aksaklıkların çözülmesinde, erkeğe ait faktörlerin belirlenmesi açısından da önem taşımaktadır.

Bu çalışma, üreme sezonundaki pisi balığının spermatojistik özelliklerini belirlemek ve bu özellikler arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacıyla yapıldı.

## Materyal ve Metot

Araştırma Trabzon Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü deniz kuluçkahanesinde 2010 yılı üreme sezonunda (Şubat), kuluçkahane yetiştirilen ve boyları 13.1-20.0 cm, ağırlıkları 24.6-79.4 g arasında değişen 10 erkek pisi balığı ile gerçekleştirildi.

Üreme sezonunda laboratuvar ortamında erkek balıklardan sperma, hormon ve anestetik madde kullanılmadan ve ürogenital bölge tamamen kurulandıktan sonra, abdominal masaj yapılarak 1 ml'lik şırınga ucuna takılan 0.7 mm çapındaki ölçekli silikon tüp içerisine toplandı ve tüp içerisindeki sperma miktarı tespit edilip ml olarak kaydedildi. Alınan spermalarda; spermatozoa motilitesi, motilite süresi, spermatozoa konsantrasyonu ve pH belirlendi. Spermatozoa motilitesi, 0.5 µl sperma mikroskop altındaki lam üzerine konuldu, 50 µl deniz suyu ile karıştırıldı ve x400 büyütmede mikroskop altında tek yönde ve güçlü hareket eden spermatozoonların, hareketsiz ve diğer hareket biçimi gösteren spermatozoonlara oranı olarak (%) olarak belirlendi belirlendi (Chen ve ark., 2004; Bozkurt ve Seçer, 2006). Motilite süresi, sperma ve aktivasyon solüsyo-

nunun temasından spermatozoa motilitesi kesilinceye kadar geçen süre bir kronometre ile dakika olarak saptandı. Spermatozoa yoğunluğu hemositometrik yöntemle belirlendi ve sonuçlar  $\times 10^9$  spermatozoa/ml olarak kaydedildi. Spermanın pH değerlendirme işlemi, bir damla spermanın indikatör kağıdına (Merck 5.5-9.0) damlatılması ve kağıt üzerindeki renk değişimine bakılıp skaladan okunması yoluyla yapıldı. Çalışmada her örnek için üç paralel yapılarak ortalaması alındı. İstatistikî analizler Microsoft Office Excel 2003 programı ile yapıldı.

### Bulgular ve Tartışma

Kuluçkahanede anaç balıkların tutulduğu deniz suyunun sıcaklığı 8.0-24.1 °C (15.0±4.9), DO ve pH değerleri sırasıyla 5.3-9.5 mg/l (7.1±0.9) ve 7.5-8.5 (8.1±0.2) arasında değişti.

Çalışmada 10 erkek pisi balığında belirlenen biyometrik ve spermatolojik özellikler Tablo 1'de, ağırlık-boy ve spermatolojik özellikleri arasındaki korelasyonlar Tablo 2'de verildi.

Bu çalışmada örneklerden alınan sperma miktarı, bireyler arasında oldukça değişken (0.1-0.3 ml) olmakla birlikte, ortalama  $0.2 \pm 0.04$  ml olarak saptandı. Çalışmada incelenen bireylerin boy ve ağırlığı ile sperma miktarı arasında güçlü bir pozitif korelasyon gözlemlendi ( $P < 0.01$ ). Pisi balıklarının sperma miktarı, kültürü yapılan deniz balıklarından; Daniels (2000) tarafından *Paralichthys lethostigma* için bildirilen sperma miktarı ( $\leq 0.5$  ml) ile benzerlik göstermesine karşın, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum) için 0.5-10 ml/kg (Shangguan ve Crim, 1999), *Morone chrysops* (Rafinesque) için 1.2 ml/kg (Mylonas ve ark., 1997a), *Dicentrarchus labrax* için 1-2 ml/kg (Sorbera ve ark., 1996),

*Siganus guttatus* için 2 ml/kg (Garcia 1991), *Scophthalmus maximus* için 2.2 ml/kg (Suquet ve ark., 1992b) ve *Morone saxatilis* için 2-4 ml/kg (Mylonas ve ark., 1997b) olarak bildirilen değerlerden düşük bulundu. Bu farklılıklar, balık türlerine bağlı olabileceği gibi, çevresel faktörlerden de kaynaklanmış olabilir.

Sperma kalitesi için en güvenilir gösterge spermatozoa motilitesidir (Bozkurt ve ark., 2006). Araştırmada spermatozoa motilite oranı ortalama  $88.0 \pm 13.80$  olarak bulundu. Bu oran, *Cyprinus carpio* için % 78-87 (Linhart ve ark., 2000, Hovárth ve ark., 2003), *Hypophthalmichthys molitrix* için % 75 (Alvarez ve ark., 2003), *Tor khudree* için % 80-85 (Basavaraja ve Hegde, 2004) olarak bildirilen spermatozoa motilite oranı ile uyumlu, Rainis ve ark. (2005) tarafından *Oncorhynchus mykiss* (%100), *Salmo trutta* (%94) ve *Sparus aurata* (%92.73) için bildirilen değerlerden düşük gerçekleşti. Balıklarda spermatozoa testis ve seminal plazma içerisinde hareketli değildir (Billard, 1986). Benau ve Turner (1980) spermatozoa motilitesinde mevsime bağlı varyasyonlar görülebileceğini, Gwo (1995) ATP'deki azalmanın motiliteyi düşürdüğünü, Cosson ve ark. (1999) pH, katyon konsantrasyonu, sıcaklık ve ozmotik basıncın motiliteyi etkileyebileceğini bildirdiler. Ayrıca üreme sezonu ilerledikçe *Oncorhynchus mykiss* (Munkittrick ve Moccia, 1987), *Scophthalmus maximus* (Suquet ve ark., 1998), *Melanogrammus aeglefinus* (Rideout ve ark., 2004) ve *Hippoglossus hippoglossus* (Babiak ve ark., 2006) gibi türlerde sperma motilitesinin düştüğü rapor edildi. Spermatozoa motilite oranları arasındaki farklar, tür, sperma sağım zamanı ile aktivasyon solusyonundaki farklılıktan kaynaklanmış olabilir.

**Tablo 1.** Pisi balıklarının spermatolojik ve biyometrik özellikleri (n = 10)

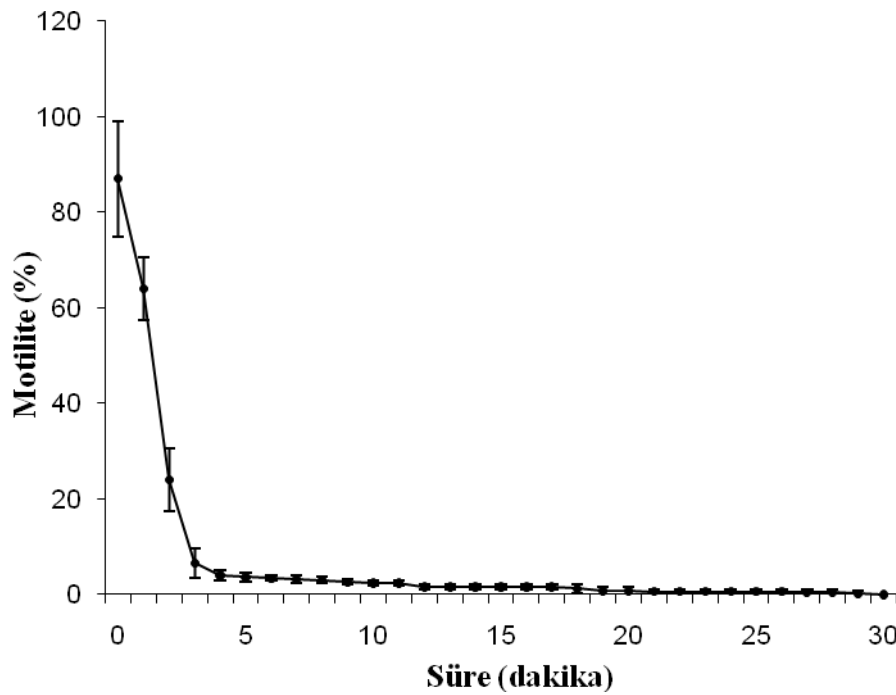
**Table 1.** Spermatological and biometric characteristics of flounders (n = 10)

Özellikler	Ortalama $\pm$ SH	Minimum	Maksimum
Total boy (cm)	16.6 $\pm$ 2.00	13.1	20.0
Ağırlık (g)	49.3 $\pm$ 15.70	24.6	79.4
Sperma miktarı (ml)	0.2 $\pm$ 0.04	0.1	0.3
Motilite oranı (%)	88.0 $\pm$ 13.80	60.0	100.0
Motilite süresi (d)	25.4 $\pm$ 4.20	18	30
Spermatokrit oranı (%)	92.6 $\pm$ 4.30	86.3	98.0
Spermatozoa yoğunluğu ( $\times 10^9$ /ml)	2.8 $\pm$ 0.72	2.1	4.5
pH	6.9 $\pm$ 0.10	6.6	7.1

**Tablo 2.** Pisi balığının ağırlık-boy ve spermatolojik özellikleri arasındaki korelasyonlar.**Table 2.** Correlations between length-weight and spermatological characteristics of flounder.

	Ağırlık	Boy	Miktar	Motilite	Motilite süresi	Yoğunluk	Spermatokrit oranı
Boy	0.912*						
Miktar	0.990*	0.960*					
Motilite	-0.477	-0.564	-0.517				
Motilite süresi	-0.563	-0.665**	-0.609	0.332			
Yoğunluk	-0.577	-0.511	-0.566	0.168	0.624		
Spermatokrit oranı	0.579	0.604	0.600	-0.260	-0.578	-0.683**	
pH	-0.151	-0.310	-0.208	0.224	0.122	0.277	0.025

\* P &lt; 0.01, \*\* P &lt; 0.05

**Şekil 1.** Deniz suyu ile aktive edildikten sonra pisi spermatozoalarının yüzde olarak ifade edilen motilitesi. Aktivasyondan 30 d sonra motilite tamamen durdu (n = 10).**Figure 1.** Motility of spermatozoa expressed in percentage of a representative sample of flounder spermatozoa after activation with seawater. The total motility ceased at 30 min post activation (n = 10).

Motilite süresi çalışmada kullanılan erkek pisi balıklarında  $25.4 \pm 4.20$  d olarak belirlendi. Motilite süresini tatlısu türlerinden *Esox lucius* için 1 d, gökkuşacağı alabalığı için 30 s (Billard, 1986), *Cyprinus carpio* için Kruger ve ark. (1984) 2.50 d, Perchea ve ark., (1995) 90 s, Linhart ve ark. (2000) 120 s, *Tor khudree* için Basavaraja ve Hegde (2004) 66–75 s olarak bildirmelerine karşın, motilite süresi denizel türlerden *Scoph-*

*thalmus maximus* için Chauvaud ve ark., (1995) 17 d, *Thunnus thynnus* için Doi ve ark. (1982) 15 d, *Hippoglossus hippoglossus* için Methven ve Crim (1991) 3 d olarak rapor ettiler. Bu çalışmada motilitenin, sperma aktivasyonundan 2 d sonra %24'e, 4 d sonra %4'e düştüğü, 30 d sonra ise tüm spermatozoaların canlılığını kaybettiği gözlemlendi (Şekil 1). Billard ve Cosson, (1992) genel olarak balıklarda motilite süresinin

2 d ile 1 saat arasında değiştiğini, Geffen ve Frayer (1993) aktivasyondan 1 s sonra *Scophthalmus maximus* spermasının %60 canlılığını koruduğunu, Barton (1981) ise ilk 3, 15 ve 28 d içinde canlılığın sırası ile, %97, %94 ve %22'ye kadar düştüğünü, Billard ve ark. (1977) *Dicentrarchus labrax* sperma motilitesinin 30 d içinde yarı yarıya azaldığını bildirdiler. En yüksek spermatozoa motilitesinin üreme sezonunun ortasında gözleendiği (Turner, 1986) ve motilitenin mevsimsel varyasyon gösterebileceği (Benau and Turner 1980) bildirilmektedir. Chauvaud ve ark. (1995)'na göre spermatozoa motilitesi aktivasyon solusyonunun pH'sına bağlıdır. Sperma pH'ının *Oncorhynchus mykiss* (Billard, 1983), *Hippoglossus hippoglossus* (Billard ve ark., 1993), *Polyodon spathula* (Linhart ve ark., 1995) balıklarında spermayı aktive eden faktörlerden birisi olarak rapor ettiler. Dreanno ve ark. (1998) *Psetta maxima* için en iyi motilite parametrelerinin pH ~ 8.2 olduğunda elde edildiğini bildirdiler. Bu çalışmada motilite süresi ve pH arasında önemli bir ilişki ortaya çıkmasa da, pH'da yükselme görülürken, motilite süresinde de kısmen uzama olmaktadır. Motilite süresi açısından çalışma bulguları ile diğer araştırmacıların bildirdiği değerler arasındaki farklar, çalışılan tür, sperma alma sezonu ve aktivasyon solusyonundaki farklılıklardan kaynaklanmış olabilir.

Çalışmada spermatozoa yoğunluğu ( $\times 10^9$  spermatozoa/ml) 2.1-4.5 (ortalama  $2.87 \pm 0.72$ ), spermatokrit oranı %86.3-98.0 (ortalama %92.6  $\pm 4.30$ ) arasında değişti ve yoğunluk ile spermatokrit oranı arasında oldukça güçlü pozitif bir ilişki saptandı ( $P < 0.05$ ). Benzer ilişki *Salmo salar m. sebago* (Piironen, 1985), *Oncorhynchus mykiss* (Ciereszko ve Dabrowski, 1993), *Gadus morhua* (Rakitin ve ark., 1999), *Hippoglossus hippoglossus* (Tvedt ve ark., 2001), *Melanogrammus aeglefinus* (Rideout ve ark., 2004) için de rapor edildi. Spermatozoa yoğunluğu *Siganus guttatus* (Bloch) için 5-20 (Garcia, 1993), salmonidler için 9-26 (Scott ve Baynes, 1980), *Pleuronectes ferrugineus* (Storer) için 10-20 (Clearwater ve Crim 1998), *Scophthalmus maximus* (L.) için 20-55 (Suquet ve ark., 1992a), *Dicentrarchus labrax* (L.) için 5-55 (Sorbera ve ark., 1996), *Alosa sapidissima* (Wilson) için 66 (Mylonas ve ark., 1995) ve *Morone saxatilis* (Walbaum) için 60-100 (Mylonas ve ark., 1997b) bildirildi. Bu çalışmada elde edilen spermatozoa yoğunluğu, diğer araştırmacılar tarafından rapor edilen spermatozoa yoğunluğu değerlerinden

daha düşük olarak gerçekleşti. Bu farklılık, balığın türüne ya da çevreye bağlı olarak oluşmuş olabilir.

## Sonuç

Sonuç olarak pisi balığında sperma miktarının düşük olmasına karşın, motilite ve motilite süresi oldukça yüksektir. Çalışmada motilite süresi ile canlı ağırlık, total boy ve sperma miktarı, ayrıca sperma yoğunluğu ile spermatokrit oranı arasında önemli ilişki olduğu gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar ışığında pisi balığı yetiştiriciliğinde daha etkin bir gamet yönetimi ve yavru üretiminde artış beklenebilir.

## Kaynaklar

- Aas, G.H., Refstie, T., Gjerde, B., (1991). Evaluation of milt quality of Atlantic salmon, *Aquaculture*, **95**: 125-132. [doi:10.1016/0044-8486\(91\)90079-M](https://doi.org/10.1016/0044-8486(91)90079-M)
- Alvarez, B., Fuentes, R., Pimentel, R., Abad, Z., Cabrera, E., Pimentel, E., Arenal, A., (2003). High Fry production rates using post-thaw silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) spermatozoa under farming conditions, *Aquaculture*, **220**: 195-201. [doi:10.1016/S0044-8486\(02\)00356-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00356-3)
- Alvial, A., Manriquez, J., (1999). Diversification of flatfish culture in Chile, *Aquaculture*, **176**: 65-73. [doi:10.1016/S0044-8486\(99\)00051-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00051-4)
- Babiak, I., Fraser, L., Dobosz, S., Goryczko, K., (1999). Computer-controlled freezing of rainbow trout *Onchorhynchus mykiss* (Walbaum) spermatozoa for routine programmes, *Aquaculture Research*, **30**: 707-710. [doi:10.1046/j.1365-2109.1999.00381.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1999.00381.x)
- Babiak I., Ottesen O., Rudolfson G., Johnsen S., (2006). Quantitative characteristics of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L., semen throughout the reproductive season, *Theriogenology*, **65**: 1587-1604. [doi:10.1016/j.theriogenology.2005.09.004](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.09.004)
- Barton L.A. (1981). Egg-quality of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) kept in captive conditions. PhD thesis. University of Liverpool, 127 pp.
- Basavaraja, N., Hegde, N.S., (2004). Cryopreservation of the endangered mahseer (Tor khudree) spermatozoa: I. Effect of extender composition, cryoprotectants, dilution ratio,

- and storage period on post-thaw viability, *Cryobiology*, **49**: 149-156.  
[doi:10.1016/j.cryobiol.2004.05.007](https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2004.05.007)
- Benau D., Terner, C., (1980). Initiation, prolongation and reactivation of the motility of salmonid spermatozoa, *Gamet Research*, **3**: 247-257. [doi:10.1002/mrd.1120030307](https://doi.org/10.1002/mrd.1120030307)
- Bengston, D.A., (1999). Aquaculture of summer flounder (*Paralichthys dentatus*): status of knowledge, current research and future research priorities, *Aquaculture*, **176**: 39-49. [doi:10.1016/S0044-8486\(99\)00048-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00048-4)
- Billard, R., J. DuPont, J., Barnabe, G., (1977). Diminution de la motilité et de la durée de conservation du sperme de *Dicentrarchus labrax* L. (Poisson, Téléostéen) pendant la période de spermiation, *Aquaculture*, **11**: 363-367. [doi:10.1016/0044-8486\(77\)90086-2](https://doi.org/10.1016/0044-8486(77)90086-2)
- Billard, R., (1983). Effects of ceolomic and seminal fluids and various saline diluents on the fertilizing ability of spermatozoa in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*, *Journal of Reproduction Fertilization*, **68**: 77-84. [doi:10.1530/jrf.0.0680077](https://doi.org/10.1530/jrf.0.0680077)
- Billard, R., (1986). Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species, *Reproduction Nutrition Development*, **2**: 877-920. [doi:10.1051/rnd:19860601](https://doi.org/10.1051/rnd:19860601)
- Billard, R, Cosson, M.P., (1992). Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish, *Journal of Experimental Zoology*, **261**: 122-131. [doi:10.1002/jez.1402610203](https://doi.org/10.1002/jez.1402610203)
- Billard, R., Cosson, J., Crim, L.W., (1993). Motility of fresh and aged halibut sperm, *Aquatic living Resources*, **6**: 67-75. [doi:10.1051/alr:1993008](https://doi.org/10.1051/alr:1993008)
- Billard, R., Cosson, J., Perchec, G., Linhart, O., (1995). Biology of sperm and artificial reproduction in carp, *Aquaculture*, **124**: 95-112. [doi:10.1016/0044-8486\(94\)00231-C](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00231-C)
- Bozkurt, Y., Seçer, S., (2006). Aynalı Sazan (*Cyprinus carpio*) Balıklarında Üreme Mevsimi Boyunca Spermatolojik Özelliklerin Belirlenmesi, *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **23**(1/2): 195-198.
- Bozkurt, Y., Seçer, S., Bekcan, S., (2006). Relationship Between Spermatozoa Motility, Egg Size, Fecundity and Fertilization Success in *Salmo trutta abanticus*, *Tarım Bilimleri Dergisi*, **12**(4): 345-348.
- Chauvaud, L., Cosson, J., Suquet, M., Billard, R., (1995). Sperm motility in turbot, *Scophthalmus maximus*: initiation of movement and changes with time of swimming characteristics, *Environmental Biology of Fishes*, **43**: 341-349. [doi:10.1007/BF00001167](https://doi.org/10.1007/BF00001167)
- Chen, S.L., Ji, X.S., Yu, G.C., Tian, Y.S., Sha, Z.X., (2004). Cryopreservation of sperm from turbot (*Scophthalmus maximus*) and application to large-scale fertilization, *Aquaculture*, **236**: 547-556. [doi:10.1016/j.aquaculture.2003.10.027](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.10.027)
- Ciereszko, A., Dabrowski, K., (1993). Estimation of sperm concentration of rainbow trout, whitefish and yellow perch using a spectrophotometric technique, *Aquaculture*, **109**: 367-373. [doi:10.1016/0044-8486\(93\)90175-X](https://doi.org/10.1016/0044-8486(93)90175-X)
- Clearwater S.J., Crim L.W., (1998). Gonadotropin releasing hormone-analogue treatment increases sperm motility, seminal plasma pH and sperm production in yellowtail flounder *Pleuronectes ferrugineus*, *Fish Physiology and Biochemistry*, **19**: 349-357. [doi:10.1023/A:1007759620936](https://doi.org/10.1023/A:1007759620936)
- Cosson, J., Dreanno, C., Billard, R., Suquet, M., Cibert, C., (1999). Regulation of axonemal wave parameters of fish spermatozoa by ionic factors. In: Gagnon, C. (Ed.). The male gamete: From basic science to clinical applications. Cache River Pres, Paris, 500 p.
- Daniels, H.V., (2000). Species Profile Southern Flounder. Southern Regional Aquaculture Center. SRAC Publication No. 726.
- Darszon, A., Beltrán, C., Felix, R., Nishigaki, T., Treviño, L.C., (2001). Ion transport in sperm signaling, *Developmental Biology*, **240**: 1-14. [doi:10.1006/dbio.2001.0387](https://doi.org/10.1006/dbio.2001.0387)
- Doi, M., Hoshino, T., Taki, Y., Ogasawara, Y., (1982). Activity of the sperm of the bluefin tuna *Thunnus thynnus* under fresh and preserved conditions, *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, **48**: 495-498.
- Dreanno, C., Suquet, M., Desbruyeres, E., Cosson, J., Delliou, H.L., Billard, R., (1998). Effect of urine on semen quality in turbot



- Psetta maxima*, *Aquaculture*, **169**: 247-262. [doi:10.1016/S0044-8486\(98\)00262-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00262-2)
- Garcia, L.M.B., (1991). Spermiation response of mature rabbitfish, *Siganus guttatus* Bloch, to luteinizing hormone-releasing hormone analogue (LHRHa) injection, *Aquaculture*, **97**: 291-299. [doi:10.1016/0044-8486\(91\)90271-8](https://doi.org/10.1016/0044-8486(91)90271-8)
- Garcia, L.M.B., (1993). Sustained production of milt in rabbitfish, *Siganus guttatus* Bloch, by weekly injection of luteinizing hormone-releasing hormone analogue (LHRHa), *Aquaculture*, **113**: 261-267. [doi:10.1016/0044-8486\(93\)90479-1](https://doi.org/10.1016/0044-8486(93)90479-1)
- Geffen, A.J., Frayer, O., (1993). Retention of sperm motility in turbot, *Scophthalmus maximus* L.: the effects of time from activation, thermal shock and adenosine triphosphate levels, *Aquaculture and Fisheries Management*, **24**: 203-209.
- Glogowski, J., Kwasnik, M., Piros, B., Dabrowski, K., Goryczko, K., Dobosz, S., Kuzminski, H., Ciereszko, A., (2000). Characterization of rainbow trout milt collected with a catheter: semen parameters and cryopreservation success, *Aquaculture Research*, **31**: 289-296. [doi:10.1046/j.1365-2109.2000.00400.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2000.00400.x)
- Gwo, J.C., (1995). Ultrastructural study of osmolality effects on spermatozoa of three marine teleost, *Tissue & Cell*, **27**(5): 491-497. [doi:10.1016/S0040-8166\(05\)80057-6](https://doi.org/10.1016/S0040-8166(05)80057-6)
- Horváth, A., Miskolczi, E., Urbányi, B., (2003). Cryopreservation of common carp sperm, *Aquat. Living Resour.*, **16**: 457-460. [doi:10.1016/S0990-7440\(03\)00084-6](https://doi.org/10.1016/S0990-7440(03)00084-6)
- Kruger, J.C., Smit, G.L., Van Vuren, J.H.J., Ferreira, J.T., (1984). Some chemical and physical characteristics of the semen of *Cyprinus carpio* and *Oreochromis mossambicus*, *Journal of Fish Biology*, **24**: 263-272. [doi:10.1111/j.1095-8649.1984.tb04797.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1984.tb04797.x)
- Liley, R.N., Tamkee, P., Tsai, R., Hoysak, J.D., (2002). Fertilization dynamics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effect of male age, social experience, and sperm concentration and motility on in vitro fertilization, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **59**: 144-152. [doi:10.1139/f01-202](https://doi.org/10.1139/f01-202)
- Linhart, O., Mims, S.D., Shelton, W.L., (1995). Motility of spermatozoa from shovelnose sturgeon, *Scaphirhynchus platorynchus*, and paddlefish, *Polyodon spathula*, *J Fish Biol.*, **47**: 902-909. [doi:10.1111/j.1095-8649.1995.tb06011.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1995.tb06011.x)
- Linhart, O., Rodina, M., Jacky Cosson, J., (2000). Cryopreservation of sperm in common carp *Cyprinus carpio*: Sperm motility and hatching success of embryos, *Cryobiology*, **41**: 241-250. [doi:10.1006/cryo.2000.2284](https://doi.org/10.1006/cryo.2000.2284)
- Methven, D.A., Crim, L.W., (1991). Seasonal changes in spermatocrit, plasma sex steroids, and motility of sperm from Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*. In: Scott, A.P., Sumpter, J.P., Kime, D.E., Rolfe, M.S. (Eds.), Proc. Fourth Int. Symp. Reprod. Physiol. Fish, Sheffield. Published by Fish Symp. 91, Sheffield, U.K., p. 170.
- Moon, S.H., Kwon, Y.J., Lee, K.J., Chang, J.Y., (2003). Increased plasma 17-hydroxyprogesterone and milt production in response to gonadotropin-releasing hormone agonist in captive male starry flounder, *Platichthys stellatus*, *Aquaculture*, **218**: 703-716. [doi:10.1016/S0044-8486\(02\)00643-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00643-9)
- Morisawa, M., Suzuki, K., Morisawa, S., (1988). Effects of Potassium and osmolality on spermatozoan motility of salmonid fishes, *The Journal of Experimental Biology*, **107**: 105-113.
- Munkittrick, R.K., Moccia, D.R., (1987). Seasonal changes in the quality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) semen: Effect of a delay in stripping on spermatocrit, motility, volume and seminal plasma constituents, *Aquaculture*, **64**: 147-156. [doi:10.1016/0044-8486\(87\)90350-4](https://doi.org/10.1016/0044-8486(87)90350-4)
- Mylonas, C.C., Zohar, Y., Richardson, B.M., Minkinen, S.P., (1995). Induced spawning of wild American shad, *Alosa sapidissima*, using sustained administration of gonadotropin-releasing hormone analog (GnRH), *Journal of the World Aquaculture Society*, **26**: 240-251. [doi:10.1111/j.1749-7345.1995.tb00252.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1995.tb00252.x)
- Mylonas, C.C., Gissis, A., Magnus, Y., Zohar, Y., (1997a). Hormonal changes in male white bass (*Morone chrysops*) and evaluation of milt quality after treatment with a sustained-release GnRH delivery system,

- Aquaculture*, **153**: 301-313.  
[doi:10.1016/S0044-8486\(97\)00021-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00021-5)
- Mylonas, C.C., Scott, A.P., Vermeirssen, E.L.M., Zohar, Y., (1997b). Changes in plasma gonadotropin II and sex steroid hormones, and sperm production of striped bass after treatment with controlled-release gonadotropin-releasing hormone agonist-delivery systems, *Biology of Reproduction*, **57**: 669-675.  
[doi:10.1095/biolreprod57.3.669](https://doi.org/10.1095/biolreprod57.3.669)
- Nielsen, J.G., (1986). Pleuronectidae. In: Whitehead, P.J.P., Bauchot, M.-L., Nielsen, J.-C.P., Tortonese, E. (Eds.). Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean. Vol.3, Paris. pp. 1299-1307
- Olsen, Y., Evjemo, J.O., Olsen, A., (1999). Status of the cultivation technology for production of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) juveniles in Norway/Europe, *Aquaculture*, **176**: 3-13. [doi:10.1016/S0044-8486\(99\)00045-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00045-9)
- Percheva, G., Cossonb, J., André, F., Billard, R., (1995). Degradation of the quality of carp sperm by urine contamination during stripping, *Aquaculture*, **129**: 135-136.  
[doi:10.1016/0044-8486\(95\)91958-X](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)91958-X)
- Piironen, J., (1985). Variation in the properties of milt from the Finnish landlocked salmon (*Salmo salar* m. sebago Girard) during a spawning season, *Aquaculture*, **48**: 337-350.  
[doi:10.1016/0044-8486\(85\)90136-X](https://doi.org/10.1016/0044-8486(85)90136-X)
- Poole, R.W., Dillane, G.M., (1998). Estimation of sperm concentration of wild and reconditioned brown trout, *Salmo trutta*, *Aquaculture Research*, **29**(6): 439-445.  
[doi:10.1046/j.1365-2109.1998.00223.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1998.00223.x)
- Rainis, S., Gasco, L., Ballestrazzi, R., (2005). Comparative study on milt quality features of different finfish species, *Italian Journal of Animal Science*, **4**: 355-363.
- Rakitin, A., Ferguson, M.M., Trippel, E.A., (1999). Spermatocrit and spermatozoa density in Atlantic cod (*Gadus morhua*): correlation and variation during the spawning season, *Aquaculture*, **170**: 349-358.  
[doi:10.1016/S0044-8486\(98\)00417-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00417-7)
- Rideout, R.M., Trippel, E.A., Litvak, M.K., (2004). Relationship between sperm density, spermatocrit, sperm motility and spawning date in wild and cultured haddock, *Journal of Fish Biology*, **65**: 319-332.  
[doi:10.1111/j.0022-1112.2004.00451.x](https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2004.00451.x)
- Scott, A.P., Baynes, S.M., (1980). A review of the biology, handling and storage of salmonid spermatozoa, *Journal of Fish Biology*, **17**: 707-739.  
[doi:10.1111/j.1095-8649.1980.tb02804.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1980.tb02804.x)
- Shangguan, B., Crim, L.W., (1999). Seasonal variations in sperm production and sperm quality in male winter flounder, *Pleuronectes americanus*: the effects of hypophysectomy, pituitary replacement therapy, and GnRH-A treatment, *Marine Biology*, **134**: 19-27.  
[doi:10.1007/s002270050521](https://doi.org/10.1007/s002270050521)
- Sorbera, L.A., Mylonas, C.C., Zanuy, S., Carillo, M., Zohar, Y., (1996). Sustained administration of GnRHa increases milt volume without altering sperm counts in the sea bass, *Journal of Experimental Zoology*, **276**: 361-368. [doi:10.1002/\(SICI\)1097-010X\(19961201\)276:5<361::AID-JEZ6>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-010X(19961201)276:5<361::AID-JEZ6>3.0.CO;2-M)
- Suquet, M., Omnes, M.H., Normant, Y., Fauvel, C., (1992a). Assessment of sperm concentration and motility in turbot (*Scophthalmus maximus*), *Aquaculture*, **101**: 177-185.  
[doi:10.1016/0044-8486\(92\)90241-C](https://doi.org/10.1016/0044-8486(92)90241-C)
- Suquet, M., Omnes, M.H., Normant, Y., Fauvel, C., (1992b). Influence of photoperiod, frequency of stripping and presence of females on spermoutput in turbot, *Scophthalmus maximus* (L), *Aquaculture and Fisheries Management*, **23**: 217-225.
- Suquet, M., Dreanno, C., Dorange, G., Normant, Y., Quemener, L., Gaignon, J.L., Billard, R., (1998). The ageing phenomenon of turbot, *Scophthalmus maximus*, spermatozoa: effects on morphology, motility and concentration, intracellular ATP content, fertilization and storage capacities, *Journal of Fish Biology*, **32**: 31-41.  
[doi:10.1111/j.1095-8649.1998.tb01550.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1998.tb01550.x)
- Şahin, T., (2000). Larval rearing of flounder, *Pleuronectes flesus luscus*, under laboratory conditions, *Turkish Journal of Marine Sciences*, **6**: 263-270.
- Tekin, N., Seçer, S., Akçay, E., Bozkurt, Y., Kayam, S., (2003). Gökkuşluğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* W.,



- 1792) yaşın spermatolojik özellikler üzerine etkisi, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **27**: 37-44.
- Terner, C., (1986). Evaluation of salmonid sperm motility for cryopreservation, *The Progressive Fish Culturist*, **48**: 230-232. [doi:10.1577/1548-8640\(1986\)48<230:EOSSMF>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8640(1986)48<230:EOSSMF>2.0.CO;2)
- Tvedt, H.B., Benfey, T.J., Martin-Robichaud, D.J., Power, J., (2001). The relationship between sperm density, spermatocrit, sperm motility and fertilization success in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*, *Aquaculture*, **194**: 191-200. [doi:10.1016/S0044-8486\(00\)00516-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00516-0)