

Damızlık Gökkuşluğu Alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) Yumurta ve Spermlerinin Yağ Asidi Kompozisyonunun Karşılaştırılması

N. Mevlüt ARAS, H. İbrahim HALILOĞLU, Muhammed ATAMANALP, E. Mahmut KOCAMAN
Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Bölümü, 25240, Erzurum - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 22.11.2001

Özet: Üç yaşlı damızlık gökkuşluğu alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) yumurta ve spermlerinin yağ asidi kompozisyonlarının aldıkları yemin yağ asidi profili ile karşılaştırılması amacıyla yürütülen bu araştırmadan aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir. Rasyonun total olarak doymuş yağ asitleri (SFA), tekli doymamış yağ asitleri (MUFA), çoklu doymamış yağ asitler, n-3 ve n-6 PUFA, n-3/n-6 ve özellikle insan sağlığı açısından önemli olduğundan üzerinde durulan eikosapentaenoik asit (EPA)/ dokosaheksaenoik asit (DHA) oranı bakımından sperm ile yumurta dokusu arasındaki farklar istatistiki olarak çok önemli ($P < 0,01$) bulunmuştur.

Anahtar Sözcükler: Yumurta, sperm, yağ asidi, SFA, MUFA, PUFA

Comparison of the Fatty Acid Compositions of Egg, and Sperms of Brood Stock Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Abstract: The aim of this research was to compare the fatty acid composition of egg, sperm and diet of 3-year-old brood stock rainbow trout. The results showed that there were statistically significant ($P < 0,01$) differences between egg, sperm and diet levels in terms of SFA, MUFA, PUFA (n-3, n-6) and EPA/DHA, which are known as important agents for fish nutrition.

Key Words: Egg, sperm, fatty acids, SFA, MUFA, PUFA

Giriş

Biyoeolojik çalışmalarda balıklara ilişkin dikkate alınan özelliklerden biri de cinsiyet oranıdır. Genellikle bu oranın doğal populasyonlarda (dişi/erkek) % 50 civarında olduğu bildirilmektedir (1). Cinsiyet oranına ilişkin bilgiler, populasyonun üreme biyolojisine ışık tuttuğu gibi, kültüre alınması durumunda elde tutulacak damızlık balıkların sayısında da yardımcı olmaktadır. Halen profesyonel kuluçka üretim merkezlerinde 2 erkek, 1 dişi balık olacak şekilde bu oran 1/2'ye ayarlanmaktadır. Bu yolla yumurtalarda döllülük nisbetinin yüksek olmasına çalışılmaktadır. Ayrıca sürekli insan eli altında entansif üretim işletmelerinde damızlık balıkların bakımı ve beslenmesi, yumurta ve sperm kalitesi açısından da önem taşımaktadır.

Bilindiği üzere balıklar diyetle aldıkları enerjiyi yaşama, verim ve üreme faaliyetlerinde kullanmaktadırlar. Yapılan çalışmalar bu dönemde ilave verilen rasyonla alınan yağların miktarı ve yağ asidi bileşimi değiştirilerek yumurta ve sperm kalitesi artırılabilen dolayısıyla kuluçka randımanı ve yumurtadan çıkan keseli yavruların yaşama gücü

yükselmektedir (2). Örneğin farklı seviyelerde n-3 PUFA ihtiva eden rotiferle beslenen *Sparus aurata* larvalarında kuluçka ve sonrası dönem, yaşama gücü önemli oranda artırılmış, en iyi sonuçlar ise n-3 PUFA'nın en yüksek seviyesi ile beslenen gruplarından elde edilmiştir (3).

Konuyla ilgili yapılan çalışmalarda yumurtalar için en önemli enerji kaynağının glikojen ve lipitler olduğu, lipitlerin özellikle son safhada (embriyogenesis) kullanıldığı, sıcaklık, oksijen, tuzluluk gibi faktörler kuluçka süresini etkilese de su olarak hacmi büyüyen yumurtalarda yağ asitlerinin bu sürece etkisini değiştirmemektedir (4). Ayrıca balıkların vücut yağ asidi bileşimlerinin rasyonlarının bileşimlerini yansıtması en kritik dönem olan kuluçka ve sonrası keseli devreye ilişkin yağ asidi profili ve bu süredeki değişim seyri yetiştiricilik açısından önemli ip uçları verebilecek niteliktedir (5). Yürütülen bu çalışma ile yukarıda önemini vurgulamaya çalıştığımız kuluçka merkezlerinde, damızlık balıkların sağım öncesi dönemde cinsiyetlerine göre ayrılarak farklı kompozisyonlarda hazırlanmış yemlerle beslenmelerinin gerekip gerekmediği üzerinde durulacaktır.

Materyal ve Metot

Balık ve Yem Materyali

Araştırmada Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü alabalık üretim ve araştırma merkezinde bulunan damızlık dişi ve erkek balıklardan 10'ar adet alınmış ve bu balıklardan alınan yumurta ve sperm araştırma değerlendirilmiştir. Yem materyali olarak işletmede damızlık balıkların beslenmesinde rutin olarak tüketilen ticari yem kullanılmıştır.

Kullanılan Gaz Kromatografisi, Yağların Ekstraksiyonu ve Yağ Asitlerinin Belirlenmesi

Yağ asitlerinin ayırımında HP 6890 Hewlett Packard Palo Alto, CA marka gaz kromatografisi kullanılmıştır (Tablo 1).

Alınan numunelerde yağların ekstraksiyonu ve metillendirme işlemi Sherlock Microbial Identification

Tablo 1. Cihazın Çalışma Şartları.

SİLİCA KAPILLAR GAZ KROMATOĞRAFİSİ

Gazkromatografisi Cihazı

HP 6890 Hewlett Packard Palo Alto

* Sherlock Microbial Identification System Version 4

* MIDI

* Chemstation Software (Version A.06.03)

* Taşıyıcı gaz Hidrojen FID = 30 ml/dak.

Kolonlar

* Fenilmetil Silikon Fused Silica Capillary Kolon
(Marka HP 19091 B-102)

Uzunluk 25 m, İç çapı 0,2 mm

Cihaz Şartları

* Enjeksiyon miktarı 2µl

* Dedektör sıcaklığı 250 °C

* Kolon Fırın Programı

Enjeksiyon Sıcaklığı 170 °C

Sıcaklıkta Bekleme 5 dakika

Isıtma 310 °C 'a kadar

Program süresi 38 dakika.

System, Version 4 MIS Operating Manual, metoduna göre yapılmıştır (6). Yumurta, sperm ve yemlere ilişkin yaklaşık 0,5 g ağırlığındaki numuneler test tüplerine alınmıştır. Tüplerin üzerine 45 g sodyum hidroksit (ACS grade), 150 ml metil alkol (HPLC grade) ve 150 ml saf su karışımından oluşan çözeltiden 1 ml ilave edilmiştir. Sonra tüpler 5-10 sn vortekste çalkalanarak 100 °C'lik su banyosunda 25 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Böylece

dokulardaki hücre çeperleri parçalanarak yağ asitlerinin serbest kalması sağlanmıştır. Tekrar 325 ml HCl ve 275 ml metil alkol (HPLC grade) karışımından 2 ml ilave edilerek 80 °C'de 10 dk tekrar su banyosunda tutulmuştur. Su banyosundan çıkarılan örnekler buz içerisinde hızlı soğutmaya bırakılmış, bu uygulama ile serbest yağ asitlerine ester bağları ile metil eklenmiştir.

Hızlı soğutmanın ardından metillenmiş yağ asitleri üzerine 200 ml Hezsan (HPLC grade) ve 200 ml Metil-tert butil eter (HPLC grade) karışımından 3 ml eklenerek 10 dk süreyle çalkalanmıştır. Böylece alt kısımda asidik, üst kısımda ise organik faz oluşumu sağlanmış, bir pastör pipeti vasıtasıyla alt kısımdaki asidik faz atılarak üst kısımdaki organik faz tüp içerisinde muhafaza edilmiştir.

En son aşamada her tüpe 10,8 g sodyum hidroksit (ACS grade) ve 900 ml saf su karışımından oluşan çözeltiden 3 ml ilave edilip 5 dk süreyle çalkalandıktan sonra 10 dk oda sıcaklığında bekletilmiş, müteakiben tüp içerisinde ayrılan üst fazdan 0,2-0,3 ml alınarak gaz kromatografisi tüplerine transfer edilmiştir (6). Daha sonra sistem kılavuzunda belirtildiği gibi örnekler ökaryot programı ile çalıştırılarak örneklerin yağ asidi profilleri çıkarılmıştır.

İstatistiki Analizler

Araştırmada elde edilen yağ asitleri değerlerinin analizinde SAS (7) paket programının GLM (Genel Linear Modülü) prosedürü ile varyans analizi yapılarak yumurta ve sperm arasındaki farklar istatistiksel olarak test edilmiş, ayrıca örneklere ait ortalamalar Tukey çoklu karşılaştırma testi ile analiz edilmiştir.

Bulgular

Araştırmaya ilişkin genel sonuçlar Tablo 2'de verilmiştir. Buna göre, karşılaştırmasını yaptığımız rasyonun ve balık materyallerinden sağlanan yumurta ve spermere ait yağ asidi profilleri gerek total SFA, MUFA, n-3 PUFA, n-6 PUFA ve gerekse ayrı ayrı yağ asitleri arasındaki farklar istatistiki olarak çok önemli ($P < 0,01$) çıkmıştır. Toplam SFA'yı oluşturan miristik asit (14:0), palmitik asit (16:0), steraik asit (18:0) içerisinde palmitik asit rasyonda % 63, yumurtada % 71, spermde ise % 76 ile önemli bir yer tutmaktadır. Aynı şekilde tekli doymamış yağ asitleri içerisinde 16:1 n-9, 16:1 n-7, 17:1 n-8, 18:1 n-9, 20:1 n-9 bulunmasına karşın Total MUFA'nın önemli bir bölümü 18:1 n-9'dan oluşmaktadır.

Örneğin 18:1 n-9 toplam MUFA'nın rasyonda, yumurtada ve spermde % olarak sırasıyla 68, 66 ve 71'ini teşkil etmiş, yumurtadaki miktarı diyetle göre % 3 artarken spermde % 45 oranında azalmıştır.

Rasyonun toplam n-3 PUFA oranı % 18 iken yumurtalarda bu miktar % 26'ya spermde ise % 37,9'a yükselmiştir. Yani yumurtalarda % 45'lik artış spermelerde % 100'ün üzerine çıkmıştır. Çoklu doymamış yağ asitleri içerisinde n-6 PUFA'nın toplamı n-3 PUFA'ya göre daha kararlı gibi görünse de rasyondaki miktarı % 21 iken yumurtalarda % 15'e, spermde ise % 12'ye kadar düşmüştür. Dolayısıyla n-3/n-6 oranı yemde 0,85 iken yumurtada 1,63 spermde ise 2,97'ye yükselmiştir.

Özellikle insan sağlığı açısından önemli kabul edilen ve üzerinde durulan bir diğer kriter de EPA/DHA oranıdır.

Bu oran damızlık balıkların aldıkları diyetle 0,68 iken yumurtalarda 0,23'e spermde ise 0,58'e düşmüştür.

Tartışma

Çalışmamıza ilişkin sonuçlardan anlaşılacağı üzere gerek SFA, MUFA, n-3 PUFA ve n-6 PUFA'nın toplamı ve gerekse toplamı oluşturan tek tek yağ asitlerine ilişkin ortalamalar çok önemli seviyede ($P < 0,01$) farklı çıkmıştır. Öyleki rasyonun SFA oranı % 30,14 iken bu değer, spermde % 26,99'a, yumurtalarda ise % 21,92'ye düşmüştür. Tablo 2'ye göre rasyonda % 31,16 olan MUFA yumurtalarda % 33,89'a çıkmış spermde ise % 17,71'e düşmüştür. MUFA miktarı düşük olması spermde n-3 PUFA'nın yüksek çıkmasına (% 37,95) sebep olmuştur. Bu değer yumurtalarda % 26,04 iken yemde

Tablo 2. Damızlık gökkuşuğu alabalığının yumurta ve spermelerinin total yağ asidi içerisindeki % oranlarının çoklu karşılaştırma testi sonuçları.

Yağ Asitleri	Yem	Yumurta (x ± sx) (n=10)	Sperm (x ± sx) (n=10)	P
14:0	6.89	3.17 ± 0.17 ^a	1.77 ± 0.17 ^b	**
15:0	0.79	0.56 ± 0.02	0.57 ± 0.02	ÖS
16:1 n9	0.57	1.10 ± 0.03 ^a	0.51 ± 0.03 ^b	**
16:1 n7	7.01	5.94 ± 0.22 ^a	1.82 ± 0.22 ^b	**
16:0	19.01	15.24 ± 0.59 ^b	20.29 ± 0.59 ^a	**
17:1n8	0.43	0.37	-	-
17:0	0.46	0.28	-	-
18:3 n6	0.29	0.74	-	-
18:4 n3	1.62	0.64	-	-
18:2 n6	18.78	9.57 ± 0.19 ^a	4.76 ± 0.19 ^b	**
18:1 n9	21.37	22.41 ± 0.52 ^a	12.64 ± 0.52 ^b	**
18:0	2.99	3.09 ± 0.27 ^b	4.53 ± 0.27 ^a	**
20:4 n6	0.78	3.13 ± 0.13 ^b	6.79 ± 0.13 ^a	**
20:5n3	6.56	4.72 ± 0.56 ^b	14.62 ± 0.56 ^a	**
20:3 n6	0.54	1.53 ± 0.06 ^a	0.88 ± 0.07 ^b	**
20:2 n6	0.73	1.13 ± 0.05 ^a	0.71 ± 0.06 ^b	**
20:1 n9	0.56	0.94 ± 0.07 ^a	0.49 ± 0.16 ^b	*
22:6 n3	9.43	20.71 ± 0.52 ^b	25.01 ± 0.52 ^a	**
22:5 n3	0.53	1.24 ± 0.03	1.34 ± 0.04	ÖS
18:1 n9t	1.22	3.01 ± 0.08 ^b	4.18 ± 0.08 ^a	**
SFA	30.14	21.92 ± 0.51 ^b	26.99 ± 0.51 ^a	**
MUFA	31.16	33.89 ± 0.95 ^a	17.71 ± 0.95 ^b	**
n3 PUFA	18.14	26.04 ± 1.28 ^b	37.95 ± 1.28 ^a	**
n6 PUFA	21.12	15.72 ± 0.32 ^a	12.75 ± 0.32 ^b	**
n3/n6	0.85	1.63 ± 0.09 ^b	2.97 ± 0.09 ^a	**
EPA/DHA	0.68	0.23 ± 0.01 ^b	0.58 ± 0.01 ^a	**

-Belirlenemedi, (^{a-b}) Aynı satırda farklı harflerle gösterilen istatistiki olarak önemli, ÖS = Önemsiz, X = Ortalama, SX = Standart Hata, ** ($P < 0,01$), * ($P < 0,05$).

% 18,14 olarak kaydedilmiş n-6 PUFA ise % olarak sırasıyla yem, yumurta ve spermde 21,12; 15,72 ve 12,75 çıkmıştır.

Santos ve ark., (5) balıkların vücut kompozisyonları ile diyet profilleri arasındaki paralelliğin önemine dikkat çekmesi damızlık balıkların beslenmelerinde dişi ve erkek anaçlar için ayrı ayrı program geliştirilebileceğini akla getirmektedir. Özellikle üreme siklusuna giren balıklar bütün canlılarda olduğu gibi daha fazla kaloriye ihtiyaç duyduklarından hazırlanacak diyetlerin yumurta ve sperm kalitesine, dolayısıyla yumurtadan çıkan bireylerin yaşama gücüne doğrudan etki etmektedir (2).

Balıklarda yağ asidi profili biyotik ve abiyotik şartlara göre değişebildiği gibi bir balığın lipit metabolizması gereği dokuları arasında da bu farklılık olabilmektedir (8-12). Örneğin Yılmaz (13), *Capoeta capoeta umbla*'nın dişi ve erkeklerinin yağ asidi profillerinin mevsimsel olarak değişim gösterdiğini bildirmektedir. Dolayısıyla profesyonel kuluçka ünitelerinde dişi ve erkek damızlıkların rasyonlarının ayrı ayrı hazırlanması kuluçka ve sonrası keseli dönemdeki yaşama gücünün artırılmasında önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

Yumurtalar ve sperm için ana doymuş yağ asitlerinin miristik, palmitik ve stearik, tekli doymamış yağ asitlerinin ise 18:1 n-9, 16:1 n-7 ve 20:1 n-9 olduğu anlaşılmaktadır. Mesela yumurtalarda palmitik asit total SFA'nın % 71'ini spermilerin % 76'sını benzer şekilde 18:1 n-9 ise MUFA'nın yumurtalarda % 66'sını spermelerde % 71'ini oluşturmaktadır. Konuyla ilgili bilgilerimiz ve yapılan çalışmalar elde ettiğimiz sonuçlarla örtüşmektedir (14,15). Vazquez ve ark. (16), *Solea senegalensis* balıklarında doymuş ve tekli doymamış majör yağ asitlerinin kuluçka ve keseli dönemde 16:0, 16:1 n-7, 18:1 n-9, 18:1 n-7 olduğunu rapor etmiştir.

Araştırmamızın önemli sonuçlarından biri de yumurtalarda n-3 PUFA'nın (% 26,04) spermdeki seviyesinden (% 37,95) düşük olmasıdır. n-6 PUFA ise sperme oranla (% 12,75) yumurtalarda % 3 daha (% 15,72) fazla çıkmıştır. Bu sonuçlar n-3/n-6 oranına da yansımış ve yumurtalarda 1,63, spermde ise 2,92 çıkmıştır. n-3/n-6 oranı tatlı su balıkları için öngörülen

seviyede olsa da Jobling (17) özellikle spermlerdeki nispeten yüksek n-3/n-6 oranı sperm kalitesini olumlu yönde etkilemektedir. Koven ve ark., (3) n-3 PUFA'ca zengin diyetlerle beslenen *Sparus aurata* larvalarında yaşama gücü ve büyümenin daha iyi olduğunu ve bunun da yumurta ve sperm kalitesine etki eden n-3 PUFA'dan ileri geldiğini rapor etmesi yukarıdaki kanaatimizi destekler yöndedir.

Balıklar için olduğu kadar insan sağlığı açısından da önemli kabul edildiğinden EPA ve DHA üzerinde de özellikle durulmaktadır. Yürütülen pek çok çalışmada genelde çoklu doymamış yağ asitlerinin özelde ise EPA ve DHA'nın insan vücudunda kan basıncını ayarladığını, kolesterolü, trigliserid seviyesini düşürerek kalp krizi riskini azalttığını, beyin fonksiyonlarında etkili olarak sinir hücrelerinin uyarılmasında aktif oldukları bildirilmektedir. Eksikliklerinde öğrenme yeteneğinin bozulduğu, yaşlılarda hatırlama güçlüklerinin görüldüğü kaydedilmektedir (18-20). Bunun yanında balıklarda beyin ve retinanın gelişiminde DHA etkin görevler üstlenmektedir (21,22). Eksikliklerinde davranış anormallikleri, görmede bozukluk gibi benzeri semptomlar ortaya çıkmaktadır (23). Bu yönüyle araştırma sonuçları ele alındığında EPA/DHA'nın spermde daha yüksek olduğunu (0,58) görmekteyiz. Dolayısıyla sperm kalitesi bakımından yukarıdaki görüşlerimizi bu oran daha da kuvvetlendirmektedir. Ayrıca rasyonda % 6,55 olan EPA yumurtalarda % 4,72'ye düşmüş spermelerde ise % 14,62'ye yükselmiş aynı şekilde DHA ise rasyon, yumurta ve spermde sırasıyla % 9,43; % 20,71; % 25,01 olmuştur. Bir diğer önemli husus ise EPA, DHA ve n-3 PUFA'nın rasyona göre fazla olması tatlı su balıklarında desaturasyon enzimlerinin etkinliğini ortaya koymaktadır (14).

Aynı yemle beslenmelerine karşın farklı yumurta ve spermdeki farklı yağ asidi profili bulgularda görülmektedir. Bu çalışma sonucunda sağım öncesi damızlık alabalıkların cinsiyetlerine göre ayrılarak yağ asidi kompozisyonunca zengin diyetlerle beslenmelerinin önemli avantajlar sağlayacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Ricker, W.E.: Computation and interpretation of biological statistics of fish populations, Bull. Fish. Res. Board Can. 1975; 191: 375-382.
2. Rainuzzo, J.R., Reitan, K.I., Olsen, Y.: The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. Aquaculture. 1997; 155: 103-115.
3. Koven, W.M., Tandler, A., Kissil, G.W., Sklan, D., Friezlander, O., Harel, M.: The effect of dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids on growth, survival and swim bladder development in *Sparus aurata* larva. Aquaculture. 1990; 91: 131-141.
4. Wehrtmann, I.S., Kattner, G.: Changes in volume, biomass and fatty acids of developing eggs in *Nauticaris magellanica* (Decapoda: Caridea). A latitudinal comparison. J. Crustacean Biol. 1998; 18: 413.
5. Santos, J., Burkow, I.C., Jobling, M.: Patterns of growth and lipid deposition in cod (*Gadus morhua* L.) fed natural prey and fish based feeds. Aquaculture. 1993; 110: 173-189.
6. MIDI: Sherlock Microbial Identification System, Version 4 MIS Operating Manual, Newark, DE, USA., 2000.
7. SAS: SAS Institute., NC, USA. 1996.
8. Halver, J.E.: Fish Nutrition. Academic Press Inc., San Diego 1989; 186-187.
9. Aras, N.M., Haliloğlu, H.İ., Ayık, Ö., Yetim, H.: Comparison of fatty acid profiles of different tissues of mature trout (*Salmo trutta labrax*, Pallas, 1811) caught from Kazandere creek in the Çoruh region, Erzurum, Turkey. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 2003; 27: 311-316.
10. Haliloğlu, H.İ., Aras, N.M., Yetim, H.: Comparison of muscle fatty acids of three trout species (*Salvelinus alpinus*, *Salmo trutta fario*, *Oncorhynchus mykiss*) raised under the same conditions. Turk. J. Vet. Anim. Sci. 2002; 26: 1097-1102.
11. Christiansen, J.S., Ringo, E., Farkas, T.: Effect of sustained exercise on growth and body composition of first feeding fry of arctic char, *Salvelinus alpinus* (L), Aquaculture. 1989; 79: 329-335.
12. Haliloğlu, H.İ.: Farklı işletmelerde yetiştirilen gökkuşacağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) adipoz, gonad, karaciğer, kas dokuları yağ asidi profillerinin belirlenmesi. (Doktora Tezi) Atatürk Univ., Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı Erzurum. 2001.
13. Yilmaz, O.: Elazığ Hazar Gölü'nde yaşayan *Capoeta capoeta umbla* (Heckel, 1843)'nin total yağ asidi miktarı ve yağ asitleri cinslerinin mevsimlere göre değişimi. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enst. Elazığ, 1995.
14. Steffens, W.: Effect of variation in essential fatty acid in fish feeds on nutritive value of freshwater fish for humans. Aquaculture. 1997; 151: 97-119.
15. Okumuş, İ.: Kültür balıklarında kalite ve 'Doğal balık kültür balığı' tartışması. 4. Su Ürünleri Sempozyumu, 28-30 Haziran 2000, 843-864. Erzurum.
16. Vazquez, R., Gonzalez, S., Rodriguez, A., Mourente, G.: Biochemical composition and fatty acid content of fertilized eggs, yolk sac stage larva and first-feeding larvae of the Senegal sole (*Solea senegalensis* Kaup). Aquaculture. 1994; 119: 273-286.
17. Jobling, M.: Fish Bioenergetics. Fish and Fisheries Series 13. Chapman & Hall, London. 1994; p. 309.
18. Bao, D.Q., Mori, T.A., Burke, V.: Effects of dietary fish and weight reduction on ambulatory blood pressure in overweight hypertensives. Hypertension, 1998; 32: 710-717
19. Stoll, A.L., Severus, W.E., Freeman, M.P.: Omega 3 fatty acids in bipolar disorder. Arch. Gen. Psychiatry. 1999; 56: 401-412.
20. Munehira, J., Matsumoto, M., Iwai, K.: Effects of eicosapentaenoic acid on the physical properties of the common carotid artery in elderly patients with atherosclerosis. Curr. Ther. Res. 1999; 60: 112-118.
21. Bell, M.V., Dick, J.R.: Molecular species composition of the major diacyl glycerophospholipids from muscle, liver, retina and brain of cod (*Gadus morhua*). Lipids. 1991; 26: 565-573.
22. Tocher, D.R., Mourente, G., Sargent, J.R.: Metabolism ($1^{14}C$) docosahexaenoate (22:6 n-3), ($1^{14}C$) eicosapentaenoate (20:5 n-3) and ($1^{14}C$) linolenate (18:3 n-3) in brain cells from juvenile turbot *Scophthalmus maximus*. Lipids. 1992; 27: 494-499.
23. Navarro, J.C., Sargent, J.R.: Behavioural differences in starving herring *Clupea harengus* L. larva correlate with body levels of essential fatty acids. J. Fish Biol. 1992; 41: 509-513.