

NORMALNE HEMATOLOŠKE VRIJEDNOSTI GAJENOG LIPLJENA

¹RADOSLAV DEKIĆ, ²ALEKASANDAR IVANČ, ³AZRA BAKRAČ-BEĆIRAJ,

²JELENA BOŠKOVIĆ, ¹SVJETLANA LOLIĆ ¹DRAGOJLA VUKOVIĆ

¹*Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci, Mladena Stojanovića 2, 78
000 Banja Luka, rdekic@yahoo.com*

²*Fakultet za biofarming, Megatrend Univerzitet Beograd, Maršala Tita 39, 24 300
Bačka Topola*

³*Biotehnički fakultet, Univerzitet u Bihaću, Kulina bana 2, 77 000 Bihać*

NORMAL HEMATOLOGICAL VALUES OF CULTURED GRAYLIN

Abstract

In this research haematological parameters analysis of grayling was carried out in Martin Brod fish pond and Krušnice river. At the tested specimens were determined parameters: the number of erythrocyte, number leukocyte, hemoglobine concentration, packed cell volume, Mean Corpuscular Volume (MCV), Mean Corpuscular Haemoglobin (MCH) and Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration (MCHC). The comparison and analysis of monitored parameters by gender was performed on the basis of obtained results. Comparison of parameters by gender, as well as the comparison parameters grayling from this two locations, indicates the existence of significant differences in certain parameters.

Key words: hematological parameters, grayling, pond

UVOD

Definisanje fizioloških karakteristika vrste omogućava razumijevanje funkcionalnih adaptacija vrste na njenu nišu i posebno je značajno u proučavanju blisko srodnih vrsta, odnosno individua iste vrste u različitim uslovima sredine (K e k i ć i sar. 1985; G v o z d e n o v i ć i sar. 1988; I v a n č i sar. 1996, 1997).

Posebno treba naglasiti da promjene koje se javljaju u krvnoj slici riba pri određenim fiziološkim stanjima mogu da budu specifičnog ili nespecifičnog karaktera. Promjene nespecifičnog karaktera ukazuju na postojanje određenih promjena u organizmu, dok

specifične promjene omogućavaju neposrednu dijagnostiku datog fiziološkog ili ekofiziološkog stanja organizma (Ivančić, 1999).

Potrebno je istaći da svaka vrsta ima svojstvene karakteristike pojedinih hematoloških parametara, odnosno broja i veličine eritrocita, te broja i distribucije leukocita (Romančić, 1983; Ramboškarić, 1987; Ivančić, 1994; 1995).

Dijagnostika fiziološkog i zdravstvenog stanja riba korištenjem hematološkog statusa je jedan od osnovnih uslova za uspješnu proizvodnju riba i njihovo održavanje životnih funkcija u određenim fiziološkim granicama, koje su svojstvene organizmu svake vrste i to prema vrsti i starosti ribe (Ivančić, 2005).

S ciljem utvrđivanja normalnih vrijednosti hematoloških parametara rađena je analiza krvi lipljena iz ribnjaka Martin Brod, a uporedo sa ovim analizama praćeni su isti parametri kod lipljena iz otvorenog vodotoka (rijeka Krušnica).

MATERIJAL I METODE

Za istraživanje hematologije lipljena korištene su jedinke iz ribnjaka Martin Brod kao i jedinke iz rijeke Krušnice koji pripada slivu Une.

Ribnjak Martin Brod

Uzvodno od mosta na rijeci Unac u samom mjestu Martin Brod u kanjonu je smješten jedan od najvećih punosistemskih salmonidnih ribnjaka u Bosni i Hercegovini (slika 1). Ovdje se uzgajaju i proizvode potočna pastrmka (*Salmo trutta morfa fario*), kalifornijska pastrmka (*Oncorhynchus mykiss*) i lipljen (*Thymallus thymallus*).



Slika 1. Ribnjak Martin Brod i rijeka Krušnica

Ribnjak je izgrađen 1985. godine i ima 100 bazena. Od toga su 62 bazena dimenzija 25 m x 4 m i u njima je konzumna riba-kalifornijska pastrmka. U manjih 38 bazena je mlađ i rasplod. Osim kalifornijske pastrmke ima potočne pastrmke i lipljena. Iz godine u godinu povećava se kapacitet proizvodnje pa je sada dostigao godišnju proizvodnju od 300 tona.

Rijeka Krušnica

Rijeka Krušnica je desna pritoka rijeke Une i u njoj završava ušćem, koje se nalazi u Bosanskoj Krupi. Na taj način Krušnica u odnosu na tok Une predstavlja pritoku prvog reda. To je veoma vodonosan tok, kratke doline i korita i nema razvijenu površinsku riječnu mrežu, pa ga ne bogate površinski tokovi. Krušnica je tok koji nema izvorišnu čelenku. Ona nastaje direktno iz izvora koji ima oblik vrela.

Uzorkovanje riba

Uzorkovanje riba za hematološke analize na ribnjaku Martin Brod rađeno je u novembru mjesecu 2007. godine, te je prilikom uzimanja ribe korišten ručni sak čiji je dijametar okaca bio različit. U istim periodu obavljen je lov riba na rijeci Krušnici, a korištena je sportskoribolovna tehnika mušičarenja (fly-fishing).

Hematološke metode

Uzimanje krvi za hematološke analize obavljeno je punktiranjem srca oštrom i širokom sterilnom iglom (1,0 do 1,2 mm), uz dezinfekciju mjesta uboda i primjenu svih pravila sterilnog rada. Nativna krv bez dodatka antikoagulativnog sredstva koristila se za dalju analizu.

Analiza broja uobličjenih elemenata određena je postupkom brojanja u komori (hemocitometru) metodom K e k i ć a i I v a n c a (1982), dok je za određivanje koncentracije hemoglobina korištena je Drabkinova hemiglobin cijanidska metoda (B l a x h a l l i D a i s l y, 1973).

Hematokrit je određen centrifugiranjem, korištenjem mikrohematokrit centrifuge, a vrijednosti hematoloških indeksa su određuju računski na osnovu vrijednosti hematokrita, broja eritrocita i koncentracije hemoglobina.

REZULTATI I DISKUSIJA

U posmatranom uzorku lipljena iz ribnjaka Martin Brod bilo je zastupljeno ukupno 15 jedinki, od kojih je bilo devet jedinki muškog i šest jedinki ženskog pola. Vrijednosti praćenih parametara su statistički obrađeni (tab. 1), a potom je izvršena i komparacija dobijenih rezultata. U okviru obrade podataka date su srednje, minimalne i maksimalne vrijednosti do kojih se došlo u toku istraživanja.

Tabela 1. Hematološki parametri lipljena iz ribnjaka Martin Brod.

	Broj eritrocita (x 10 ¹²)	Hct (l/l)	Hb (g/l)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC g/l (eri.)	Broj leukocita (x 10 ⁹)
Srednja vrijednost	1,387	0,429	61,81	308,77	44,33	143,15	2,460
Standardna devijacija	1,636	0,067	14,40	31,71	8,46	20,54	1,006
Minimum	1,095	0,277	30,40	252,27	27,76	109,75	1,100
Maksimum	1,735	0,548	83,60	349,26	59,08	176,74	4,800
Koeficijent variranja	11,79	15,66	23,29	10,27	19,09	14,35	40,88

Uporedo je urađena i hematološka analiza lipljena iz rijeke Krušnice, a rezultati statističke obrade za ove jedinice predstavljani su u tabeli 2.

Tabela 2. Hematološki parametri lipljena iz rijeke Krušnice.

	Broj eritrocita (x 10 ¹²)	Hct (l/l)	Hb (g/l)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC g/l (eri.)	Broj leukocita (x 10 ⁹)
Srednja vrijednost	1,561	0,477	69,21	306,92	44,43	145,40	6,660
Standardna devijacija	1,068	0,030	7,73	25,83	4,86	17,93	1,455
Minimum	1,360	0,450	53,20	266,67	32,44	11,41	5,250
Maksimum	1,740	0,550	79,80	340,28	53,09	176,55	10,000
Koeficijent variranja	6,84	6,25	11,16	8,42	10,95	12,33	21,85

Komparacija vrijednosti hematoloških parametara lipljena sa dva lokaliteta pokazuje da su vrijednosti broja eritrocita ($p=0,002$) i hematokrita ($p=0,020$) značajno veće kod jedinica iz rijeke Krušnice, a ove jedinice imale su i statistički značajno veći broj leukocita.

Prateći literaturne podatke hematoloških parametara kod lipljena dolazimo do saznanja da je vrlo malo ovakvih istraživanja provedeno na ovoj vrsti. Radi toga naše podatke možemo da poredimo sa rezultatima istraživanja hematoloških parametara lipljena u rijeci Svratka u Čehoslovačkoj koje navodi Hlavová (1993), te sa podacima koje navode Ivančić i sar., (1985) koji su rezultat istraživanja hematoloških parametara lipljena iz dvije bosanske rijeke, Kozica i Bioštica i sa istraživanjima hematoloških parametara na drugim vrstama riba (Lusková i sar., 1995; Lusková i Hlaváčková., 1996; Švobodová i sar., 1998; Hlavová, 1993a).

Prema navodima Hlavová (1993) srednja vrijednost broja eritrocita kod lipljena iz rijeke Svratka iznosi $1,290 \times 10^{12}/l$, a vrijednosti su se kretale od $0,500 \times 10^{12}/l$ do $2,000 \times 10^{12}/l$, dok su se vrijednosti koncentracije hemoglobina kod lipljena iz rijeke Svratka kretale u intervalu od 40,00 g/l do 120,00 g/l. Srednja vrijednost koncentracije hemoglobina za ribe ženskog pola bila je 73,72 g/l, a za ribe muškog pola iznosila je 81,50 g/l.

Prema istom autoru H l a v o v a (1993), vrijednost hematokrita kretala se od 0,2000 l/l do 0,6000 l/l, kod riba muškog pola srednja vrijednost hematokrita bila je 0,4500 l/l, a kod ribe ženskog pola iznosila je 0,4000 l/l.

Kako navode P e u r a n e n i s a r., (2003) porast vrijednosti hematokrita i koncentracije hemoglobina se mogu javiti i kada se ribe u eksperimentu izlože uticaju vode kontaminirane aluminijumom i željezom. Srednja vrijednosti MCH u ovim istraživanjima iznosila je 60,81 pg, a vrijednosti su se kretale u intervalu od 30,00 pg do 100,00 pg, pa se prema tome vrijednosti uklapaju u navedene, s tim da su srednje vrijednosti manje.

Prosječna zapremina eritrocita za lipljena iz rijeke Svratka imala je vrijednost od 200,00 fl do 500,00 fl, sa srednjom vrijednosti od 338,80 fl, na osnovu čega možemo zaključiti da se podaci iz istraživanja uklapaju u do sada dostupne podatke o hematološkim parametrima lipljena iz različitih rijeka. Kako navodi H l a v o v a (1993) srednja vrijednost broja leukocita kod lipljena iz rijeke Svratka iznosila je $11,430 \times 10^9/l$, a vrijednost se kretala u intervalu od 1,000 do $30,000 \times 10^9/l$. Na osnovu iznesenih podataka možemo zaključiti da lipljeni iz rijeke Svratka imaju veću vrijednost broja leukocita nego lipljeni iz Krušnice i Martin Broda.

I drugi naučnici koji izučavaju lipljena i njegove hematološke karakteristike daju podatke o drugačijoj krvnoj slici u različitim sezonama. Tako su lipljeni iz rijeke Kozica u ljeto imali srednju vrijednost broja leukocita $3,679 \times 10^9/l$, a u zimu $8,400 \times 10^9/l$, iz rijeke Bioštica u ljeto srednja vrijednost broja leukocita je bila $5,143 \times 10^9/l$, a u zimu $7,583 \times 10^9/l$ (I v a n c i s a r. 1985).

Veće vrijednosti parametra eritrocitne loze u perifernoj krvi lipljena i rijeke Krušnice doveli smo u vezu sa stepenom njihove veće aktivnosti u odnosu na ribe iz ribnjaka Martin brod. Ovakvu interpretaciju podupiru i istraživanja I v a n c i s a r. (1994; 1995), koji porede idioekološke karakteristike riba sa njihovim hematološkim statusom i konstatuju da u istom staništu ribe veće pokretljivosti i opšte aktivnosti imaju i veće vrijednosti broja eritrocita i koncentracije hemoglobina.

Analiza praćenih parametara po polovima pokazuje da nema značajne razlike u poređenju mužjaka i ženki iz ribnjaka Martin Brod, dok je kod lipljena iz rijeke Krušnice konstatovano da jedinke ženskog pola imaju značajno veće vrijednosti eritrocita ($p = 0,029$) i količinu hemoglobina po litri eritrocita ($p = 0,047$), dok su kod mužjaka konstatovane značajno veće vrijednosti MCV-a ($p = 0,016$). Poređenje dobijenih rezultata između jedinki muškog pola iz rijeke Krušnice i ribnjaka Martin Brod pokazuje postojanje značajnih razlika u slučaju vrijednosti broja leukocita ($p = 0,001$), sa većim vrijednostima kod jedinki iz rijeke Krušnice. Ostali praćeni parametri ne pokazuju značajne razlike, s tim da je razlika u vrijednostima hematokrita blizu statističke značajnosti ($p = 0,060$). Slično prethodnom poređenje parametara kod jedinki ženskog pola pokazuje značajnu razliku kod vrijednosti broja leukocita ($p = 0,000$), sa većim vrijednostima kod jedinki ženskog pola iz rijeke Krušnice, a ženke iz ove rijeke imale su i značajno veće vrijednosti broja eritrocita ($p = 0,032$).

Hematološka istraživanja na lipljenu, a i na drugim vrstama daju podatke o višim vrijednostima broja eritrocita, hematokrita i koncentraciji hemoglobina kod riba muškog pola nego kod riba ženskog pola (H l a v o v a 1993; L u s k o v á i s a r 1995; L u s k o v á i H a l a č k a, 1996; S v o b o d o v á i s a r. 1998). Ova istraživanja su to i potvrdila, s tim da je koncentracija hemoglobina bila veća kod riba ženskog pola samo u rijeci Krušnici.

Poredeći naše rezultate sa istraživanjima I v a n c a i s a r. (1993; 1994) uočavamo isti tip odgovora organizma na uslove biotopa – veće vrijednosti broja leukocita u krvi liplje-

na iz rijeke Bioštica u toku ljeta koja je tada pokazivala i veći pritisak faktora sredine na imuni sistem. U jednom drugom radu posvećenom istraživanju evaluacije hematološkog statusa u procjeni fiziološkog i zdravstvenog stanja riba I v a n c i sar. (2005) nalaze veće vrijednosti broja leukocita kod riba iz staništa u kojima postoji stalna ili povremena potreba organizma za višim stepenom aktivnosti nespecifičnog imunskog odgovora.

ZAKLJUČCI

- Utvrđene su vrijednosti hematoloških parametara lipljena iz ribnjaka Martin Brod i rijeke Krušnice.
- Komparacija rezultata dobijenih istraživanjem jedinki lipljena iz ribnjaka Martin Brod i rijeke Krušnice pokazuje postojanje značajnih razlika.
- Jedinke iz rijeke Krušnice imale su značajno veće vrijednosti broja eritrocita i vrijednosti hematokrita i broja leukocita.
- Veće vrijednosti parametra eritrocitne loze u perifernoj krvi lipljena iz rijeke Krušnice doveli smo u vezu sa stepenom njihove veće aktivnosti u odnosu na ribe i iz ribnjaka Martin brod.
- Veće vrijednosti broja leukocita u krvi lipljena iz rijeke Krušnice mogu se tumačiti većim pritiskom faktora sredine na imuni sistem

LITERATURA

Blaxhall, P.C., Daisly, K.W. (1973). Routine hematological methods for use with fish blood. J. Fish. Biol. 5, 771-781.

Gvozdrenović, O., Ivanc A., Kekić H., Pavlović V., Pejić K., Mijatović N. (1988): The effects of migration on the eel (*Anguilla anguilla*) metabolism. Iugoslav. Physiol. Pharmacol. Acta. 24, Suppl.6, 121-122.

Hlavova, V. (1993). Reference values of the haematological indices in grayling (*Thymallus thymallus*, Linnaeus), Comp. Biochem. Physiol. 05 A, 3, 525-535.

Hlavova, V. (1993a). Selected blood characters in chub, *Leuciscus cephalus* L. and brown trout, *Salmo trutta m. fario* L. with regard to the problems of reference values. Folia Zoologica. 42, (4), 341-348.

Ivanc, A., Pavlović V., Kekić H., Gvozdrenović O., Pejić K., Mijatović N. (1985). Differential blood count in *Thymallus thymallus* from different populations in various seasons.

Ivanc, A., Maletin, S., Kojčić, N., Đukić, N., Pujin, V. (1993). Leukocitarna formula riba kao pokazatelj uticaja organskog opterećenja vode Kanala Hidrosistema DTD kod Vrbasa. "Zaštita voda '93", Arandelovac, Zbornik radova: 240-245.

Ivanc, A., Maletin, S., Đukić, N., Pujin, V., Miljanović, B. (1994). Populations-und saisonmassige Schwankungen der Leukocytenzahl und des Differentialblutbildes der Aesche (*Thymallus thymallus* L.), 30. Arbeitstagung der IAD, Zuoz - Engadin (Schweiz), Limnologische Berichte Donau 1994, Band I, Wissenschaftliche Kurzreferate : 207-210.

Ivanc A., Maletin, S., Đukić, N., Miljanović, B. (1995). Comparative haematology of some European Percidae species. Percis II, Second International Percid Fish Symposium, Vaasa, Finland, 1995, Abstracts: 37.

Ivanc, A., Maletin, S., Đukić, N., Pujin, V., Miljanović, B., Zhenjun S. (1996). Haematology of Percidae from the Yugoslav section of the Danube river system. Arch. Hydrobiol. Suppl., Stuttgart 113, Large Rivers 10, 1-4, 529-534.

Ivanc, A., Etinski, M., Maletin, S., Đukić, N., Miljanović, B., Pujin, V. (1997). Grgeč kao test organizam u proceni kvaliteta vode. "Zaštita voda '97", Sombor, Zbornik radova 253-257.

Ivanc, A., Jeremić, S. (1999). Hematološki status riba u dijagnostici fiziološkog i zdravstvenog stanja riba. U monografiji "Zaštita životne sredine pri intenzivnom gajenju riba" Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za biologiju, Ekološki pokret grada Novog Sada Urednici: Smiljka Simić i Aleksandar Ivanc, 86-95. Novi Sad,

Ivanc, A., Hasković, E., Jeremić, S., Dekić, R. (2005). Hematological evaluation of welfare and health of fish, Praxis veterinaria. 53, (3), 191-202.

Kekić, H., Ivanc, A. (1982). A new direct method for counting fish blood cells. Ichthyologia. 14, 1, 55-61.

Kekić, H. Pavlović, V, Gvozdenović, O, Ivanc, A, Mijatović, N, Pejić, K. (1985). Differential blood count in brown trout (*Salmo trutta m. fario*) under natural conditions of habitat in various seasons. Jugoslav.Physiol. Pharmacol. Acta. 21, Suppl. 4, 121.

Lusková, V., Halačka K. (1996). Some hematological indices in barbel, *Barbus barbus*. Folia Zool. 45,1, 103-108.

Lusková, V., Halačka K., Lusk S. (1995). Dynamics of the haemog in the nase, *Chondrostoma nasus*. Folia Zool. 44, 1, 69 – 74.

Peuranen, S., Keinänen, M., Tigerstedt, C., Vuorinen, P.J. (2003). Effects of temperature on the recovery of juvenile grayling (*Thymallus thymallus*) from exposure to Al⁺ Fe. Aquatic Toxicology. 65, 1, 73.

Rambhaskar, B. Srinivasa Rao, K. (1987). Comparative haematology of ten species of marine fish from Visakhapatnam coast. J. Fish. Biol. 30, 59-66.

Romestand, B., Halsband, E., Bragoni, G., Knežević, B., Marić, D. Prochnow F. (1983). Etude hematologique comparé des constantes erythrocytaires de quelques poissons marins et d'eaux douces. Rev. Trav. Inst. Pech. marit. 46, 147-156.

Svodobová, Z., Kolářová J., Flajšhans M. (1998). The first findings of the differences in complete blood count between diploid and triploid tench, *Tinca tinca* L. Acta. Vet. 67, 243-248.