

## UTJECAJ PROMJENA TEMPERATURE VODE NA ERITROCITNI PROFIL *CARASSIUS GIBELIO*

Radoslav Dekić<sup>\*1</sup>, Aleksandar Ivanc<sup>2</sup>, Maja Mandić<sup>1</sup>, Svjetlana Lolić<sup>1</sup>, Azra Bakrač-Bećiraj<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci, Mladena Stojanovića 2, 78000 Banja Luka, BiH / Faculty of Natural Sciences and Mathematics, University of Banja Luka, Bosnia and Herzegovina

<sup>2</sup> Državni Univerzitet u Novom Pazaru, Vuka Karadžića bb, 36300 Novi Pazar, Srbija / State University of Novi Pazar, Vuka Karadžića bb, 36300 Novi Pazar, Serbia

<sup>3</sup> Biotehnički fakultet, Univerzitet u Bihaću, Kulina bana 2, 77 000 Bihać / University of Bihać, Biotehnycal faculty, Kulina bana 2, 77 000 Bihać, BiH

\* Corresponding Author / Autor za korespondenciju, E-mail: rdekic@yahoo.com

### ARTICLE INFO / STATUS ČLANKA

Received/Priljeno: 15<sup>th</sup> April 2012

Received in revised form/Korigirano:

16<sup>th</sup> January 2013

Accepted/Prihvaćeno: 28<sup>th</sup> February 2013

Available online/Dostupno na internetskoj mreži: 29<sup>th</sup> March 2013

### SAŽETAK

Istraživanje promjene temperature vode na eritrocitni profil provedeno je na jedinkama babuške (*Carassius gibelio*) s područja Bardače (BiH). Istraživanjem je obuhvaćeno trideset osam jedinki koje su bile podijeljene u dva akvarija, prilagođene na eksperimentalne uvjete, a potom podvrgnute različitom temperaturnom režimu. Kontrolna grupa jedinki imala je konstantnu temperaturu vode 10 °C, dok je kod tretirane grupe jedinki temperatura vode postupno povećana na 20 °C u periodu od tri dana. Provedena analiza eritrocitnog profila koji obuhvaća: broj eritrocita, koncentraciju hemoglobina, hematokrit, MCV, MCH i MCHC, pokazuje da jedinke koje su izlagane povećanju temperature su imale značajno veće vrijednosti broja eritrocita i hematokrita, dok su jedinke kontrolne grupe imale veće vrijednosti MCH i MCHC.

### Ključne riječi:

eritrocitni profil, babuška, temperatura

### UVOD

Temperatura predstavlja jedan od najznačajnijih faktora sredine koji utječe na sva živa bića, a čije djelovanje je naročito izraženo kod poikilotermnih organizama. Utječe na niz fizioloških procesa u organizmu mijenjajući brzinu njihova odvijanja.

Slatkovodne ribe su ektotermni organizmi koji ne mogu regulirati svoju tjelesnu temperaturu fiziološkim sredstvima (Moyle i Cech, 2004) i čija tjelesna temperatura je identična ili približna temperaturi sredine na njihovoj specifičnoj lokaciji. Shodno tome, brzina biokemijskih reakcija u velikoj mjeri ovisi o tjelesnoj temperaturi, kao i svi aspekti fiziologije riba uključujući rast, reprodukciju i aktivnost (Ficke i sur., 2005).

Posljedice povećavanja temperature vode mogu utjecati na individue mijenjajući različite fiziološke

funkcije kao i sposobnost za održanje unutrašnje homeostaze nasuprot promjenljivoj spoljašnjoj sredini (Roessig i sur., 2004).

Faktori koji izazivaju stresno stanje kod riba prirodno su povezani sa promjenama fizičkih, kemijskih i bioloških faktora vodene sredine što utječe na povećanu osjetljivost riba prema bolestima (Kubilya i Ulukoy, 2002).

Stoga, istraživanja krvi i tjelesnih tekućina imaju veliki značaj za praćenje zdravlja i kondicije riba kako u prirodnim staništima, tako i u akvakulturi (Ivanc i sur., 2005). Istovremeno hematološki parametri predstavljaju pouzdane indikatore stanja životne sredine (Dekić i sur., 2009).

Cilj rada je ispitivanje utjecaja promjene temperature vode na eritrocitni profil babuške *Carassius gibelio* (Bloch, 1782).

## MATERIJAL I METODE

Utjecaj temperature vode na eritrocitni profil proveden je na jedinkama *Carassius gibelio* koje su ulovljene na hidrografskom području Bardače (BiH). Nakon izlovljavanja ribe su na transportirane u laboratorij i metodom slučajnog uzorka raspoređene u akvarije zapremine 170 l.

Jedinke su prilagođene na eksperimentalne uvjete, a tijekom perioda adaptacije temperature vode iznosila je 10 °C u oba akvarija. Dnevno je vršeno čišćenje filtera i izmjena 1/3 vode.

Za održavanje potrebne temperature vode korišteni su grijači „PEAR AQUATICS Y 978” (50 Hz, 100 W), dok su za aeraciju i čišćenje vode korištene pumpe „CHAMPION CX-0098” (50 Hz, 6 W) sa dva izlaza. Nakon perioda prilagodbe u jednom od akvarija pristupilo se postupnom povećanju temperature vode, koja je treći dan dostigla 20 °C.

Svi eksperimentalni zahvati provedeni su u skladu sa nacionalnim propisima o dobrobiti životinja i postupanja sa životinjama tijekom pokusa.

Standardna i totalna dužina su određeni pomoću ihtiometa, dok je masa određena pomoću tehničke vage (Kern 440-33).

Uzimanje krvi za hematološke analize obavljeno je punktiranjem srca oštrom i širokom sterilnom iglom (1,0 do 1,2 mm), uz primjenu pravila sterilnog rada. Krv bez dodatka antikoagulantnog sredstva koristila se za dalju analizu.

Analiza broja uobličjenih elemenata određena je postupkom brojanja u komori (hemocitometru) metodom Kekića i Ivanca (1982), dok je za određivanje koncentracije hemoglobina (Hb) korištena Drabkinova hemoglobin cijanidska metoda (Blaxhall i Daisly, 1973).

Hematokrit (Hct) je određen centrifugiranjem, korištenjem mikrohematokrit centrifuge, dok su hematološki indeksi dobiveni na osnovu vrijednosti hematokrita, broja eritrocita i koncentracije hemoglobina.

Srednja vrijednost zapremine eritrocita (MCV) računata je putem formule:

$$MCV = \frac{Hct}{Br. \text{ eritrocita } / l}$$

Za dobivanje srednje vrijednosti količine hemoglobina u eritrocitu (MCH) korištena je jednadžba:

$$MCH = \frac{Hb / l}{Br. \text{ eritrocita } / l}$$

Srednja vrijednost hemoglobina u litri eritrocita (MCHC) računata je na sljedeći način:

$$MCHC = \frac{Hb / l}{Hct}$$

Tablica 1. Deskriptivna statistika i fultonov koeficijent kondicije kontrolnih i termički tretiranih jedinki babuške  
 Table 1: Descriptive statistics and Fulton's condition factor of control and thermally treated individuals of Prussian carp

PARAMETRI/ PARAMETERS	Masa /Weight (g)	Totalna dužina/ Total length (cm)	Standardna dužina/ Standard length (cm)	Fultonov koeficijent kondicije/ Fulton condition factor
<b>Kontrolna skupina/Control group</b>				
Srednja vrijednost ± standardna devijacija/ Mean±standard deviation ( $\bar{X} \pm sd$ )	87,68 ± 7,31	17,71±0,65	14,39±0,45	2,94±0,14
Minimum/ Minimum	69,26	16,50	13,40	2,67
Maksimum/ Maximum	101,22	18,80	15,40	3,34
Variacioni koeficijent / Coefficient of variation (CV)	8,34	3,66	3,12	4,80
<b>Jedinke izložene povećanju temperature na 20 °C / Individuals exposed to temperature rise to 20 °C</b>				
Srednja vrijednost± Standardna devijacija/ Mean±standard deviation ( $\bar{X} \pm sd$ )	88,47±12,22	17,78±0,85	14,45±0,71	2,92±0,15
Minimum/ Minimum	61,77	16,3	12,9	2,67
Maksimum/ Maximum	113,25	19,2	15,5	3,24
Variacioni koeficijent / Coefficient of variation (CV)	13,81	4,76	4,92	4,97

Tablica 2. Parametri eritrocitne loze kontrolnih i termički tretiranih babuški<sup>1</sup>  
 Table 2: Parameters of erythrocyte lineage of control and thermally treated Prussian<sup>1</sup> carps

PARAMETRI/ PARAMETERS	Hb (g/l) / Hb (g/l)	Hct (l/l) / PCV (l/l)	Broj erit. (x10 <sup>12</sup> /l) / RBC (x10 <sup>12</sup> /l)	MCV (fl) / MCV (fl)	MCH (pg) / MCH (pg)	MCHC g/l erit. / (g Hb/l eryt.)
<b>Kontrolna skupina/Control group</b>						
Srednja vrijednost± Standardna devijacija/ Mean±standard deviation ( $\bar{X}$ ±sd)	<b>74.66</b> ±11.13	<b>0.450**</b> ± 0.085	<b>1.046**</b> ± 0.196	<b>438.60</b> ±91.49	<b>77.16**</b> ± 18.02	<b>172.79</b> ±49.52
Minimum/Minimum	55.55	0.303	0.730	310.00	36.07	105.02
Maksimum/Maximum	96.29	0.588	1.540	631.51	106.54	262.84
Variacioni koeficijent (CV)/ Coefficient of variation	14.91	18.94	18.77	20.86	23.36	28.66
<b>Jedinke izložene povećanju temperature na 20 °C/ Individuals exposed to temperature rise to 20 °C</b>						
Srednja vrijednost± Standardna devijacija/ Mean±standard deviation ( $\bar{X}$ ±sd)	<b>76.73</b> ±1.47	<b>0.545**</b> ± 0.076	<b>1.234**</b> ±0.161	<b>448.16</b> ±85.13	<b>63.31**</b> ±12.28	<b>144.35</b> ±35.69
Minimum/ Minimum	55.55	0.333	0.980	297.99	38.23	92.29
Maksimum/Maximum	92.59	0.667	1.550	623.47	84.65	266.93
Variacioni koeficijent (CV)/ Coefficient of variation	13.65	13.91	13.06	20.00	19.40	24.73

<sup>1</sup> Srednje vrijednosti jednog hematološkog parametra obilježene sa \*\* su statistički značajno različite (p < 0,05)

<sup>1</sup> Mean values of the same hematological parameter marked with \*\* in superscript are significantly different (p<0.05)

## REZULTATI I RASPRAVA

Istraživanjem je obuhvaćeno 38 jedinki babuške, od kojih je dvadeset jedinki služilo kao kontrola, a osamnaest jedinki bilo izloženo promjenama temperature vode.

Kod svih jedinki pored vrijednosti parametara eritrocitnog profila mjerena je totalna i standardna dužina, masa i Fultonov koeficijent kondicije. Rezultati su prikazani u tablici 1.

Komparacijom dobivenih vrijednosti za jedinke koje su služile kao kontrola i jedinke koje su izlagane povećanju temperature nisu primjećene značajne razlike. Rezultati deskriptivne statistike parametara eritrocitnog profila prikazani su u tablici 2.

Komparacija rezultata eritrocitnih parametara babuške koja je izlagana različitim temperaturama (kontrolna skupina 10 °C, jedinke izlagane povećanju 20 °C) pokazuje postojanje značajnih razlika kod većine ispitivanih parametara.

Kod jedinki koje su izlagane povećanju temperature primjećene su značajno veće vrijednosti hematokrita (p=0.0009) u odnosu na jedinke koje su služile kao kontrola, zatim vrijednosti broja eritrocita je značajno veća kod jedinki koje su izlagane povećanju temperature vode (p=0.002). Broj eritrocita u krvi riba zavisi od polne aktivnosti, vrste, pola, starosti i godišnjeg doba, kondicije riba, koncentracije kisonika i pH vrijednosti (Bogut i sar., 2006).

Vrijednost hemoglobina se ne razlikuje značajno kod istraživanih grupa organizama. Također, nisu uočene značajne razlike kod prosječne vrijednosti zapremine eritrocita i prosječne vrijednosti hemoglobina u litri eritrocita.

Međutim, kod jedinki koje su služile kao kontrola vidljivo je da imaju veće vrijednosti prosječne količine hemoglobina u eritocitu (p=0.009)

Gledajući ukupno parametre eritrocitne loze kod kontrolnih i termički tretiranih riba vidljivo je da se kod riba koje su izlagane povećanju temperature vode, povećane vrijednosti broja eritrocita i vrijednosti hematokrita. Istovremeno kod ove grupe jedinki primjećene su nešto veće vrijednosti koncentracije hemoglobina i prosječne zapremine eritrocita, dok kod kontrolnih riba uočene su značajno veće vrijednosti MCH i nešto veće vrijednosti MCHC.

Iz prikazanih rezultata proizilazi da se hematološki odgovor ogleda u produkciji stanica u cirkulatornom sustavu što uz povećanje vrijednosti MCV uzrokuje i značajno veće vrijednosti hematokrita. Također gledajući ukupno jedinki koje su izlagane povećanju temperature vode nešto je i veća koncentracija hemoglobina, ali prema eritrocitima (MCH) i litri eritrocita (MCHC) produkcija je slabija.

Prema Houstonu i sur. (1996) ključni događaj u hematološkom odgovoru na povećanje temperature je zamjena zrelih i ostarjelih eritrocita mladim

stanicama koje su metabolički kompetentne imajući u vidu redukciju efikasnosti transporta plinova kod starih eritrocita.

Istraživaja utjecaja termičkog stresa kod jedinki potočne mreke (*Barbus balcanicus*) pokazuje povećanje vrijednosti prosječne zapremine eritrocita i hematokrita kod termički tretiranih jedinki, dok su vrijednosti MCHC bile znatno veće kod jedinki koje nisu bile izlagane povećanju temperature (Ivanc i sur., 2007).

Osim toga, slična istraživanja provedena su u eksperimentu na tri vrste riba i to: tilapia (*Sarotherodon mossambicus*), šaran (*Cyprinus carpio*) i kalifornijska pastrva (*Oncorhynchus mykiss*). Jedinke korištene u ovom eksperimentu, bile su prilagođavane na laboratorijske uvjete u periodu od dva mjeseca. Temperatura vode u laboratoriju kretala se oko 19 °C. Nakon dva mjeseca individue svake vrste bile su izložene temperaturama od 15 °C, 20 °C i 25 °C u periodu od tri tjedna. Veće razlike primijećene su između jedinki izloženih na 15 °C i 20 °C nego između jedinki izloženih na 20 °C i 25 °C. Kod tilapije sa porastom temperature raste i srednja vrijednost broja eritrocita, dok su ove vrijednosti kod šarana i pastrve ostale konstantne. Povećanje broja eritrocita nije bilo praćeno kao niti povećanje koncentracije hemoglobina. MCV je bio temperaturno nezavisan kod svih vrsta. Kod šarana su MCH i MCHC temperaturno nezavisni, a kod pastrmke je MCH ostao nepromijenjen. MCH i MCHC su također bili temperaturno nezavisni i kod tilapie, dok je kod pastrve pozitivan odnos bio vidljiv samo za MCHC (Smit i sur., 1981).

Slično istraživanje na jedinkama kalifornijske pastrmke (*Oncorhynchus mykiss*) provedeno je pri temperaturama od 9 °C i 14 °C. U ovom slučaju istovremeno su praćeni podaci o vrijednostima parametara eritrocitne loze kod jedinki iz ribnjaka koje nisu bile izložene tretmanu.

Na osnovu rezultata primijećeno je da kod riba uzgajanih na 14 °C dolazi do povećavanja prosječne zapremine eritrocita, što uvjetuje veće vrijednosti hematokrita. Također, kod ovih jedinki primijećene su nešto veće vrijednosti koncentracije hemoglobina, a sukladno tome je i količina hemoglobina po eritrocitu veća kod jedinki izlaganih temperaturi od 14 °C. To vjerojatno predstavlja adaptaciju na povećavanje temperature vode (Dekić i sur., 2010).

## ZAKLJUČCI

1. Praćene morfolometrijske osobine i Fultonov koeficijent kondicije kontrolnih i termički tretiranih jedinki nisu pokazivali značajne razlike;
2. Jedinke koje su izlagane povećanju temperature

imale su značajno veće vrijednosti hematokrita i vrijednosti broja eritrocita;

3. Jedinke koje su služile kao kontrola imale su veće prosječne vrijednosti hemoglobina u eritrocitu (MCH).

## Abstract

### THE EFFECT OF TEMPERATURE CHANGE ON ERYTHROCYTE PROFILE OF *CARASSIUS GIBELIO*

A research on the effect of water temperature change on erythrocyte profile was conducted on Prussian carp (*Carassius gibelio*) from the Bardača area (BiH). The study included 38 individuals which were divided into two aquaria, adapted to experimental conditions and then subjected to different temperature regime. The control group had constant water temperature of 10 °C, while for treated fish water temperature was gradually increased to 20 °C for three days. Conducted analysis of erythrocyte profile, which includes erythrocyte count, hemoglobin concentration, packed cell volume, MCV, MCH and MCHC showed that individuals exposed to temperature increase had significantly higher values of erythrocyte count and packed cell volume, while control individuals had higher values of MCH and MCHC.

**Keywords:** erythrocyte profile, Prussian carp, temperature

## LITERATURA

- Bogut, I., Novoselić, D., Pavličević, J. (2006): Biologija riba. Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku, Sveučilište u Mostaru.
- Dekić, R., Ivanc, A., Bakrač-Bećiraj, A. (2009): Hematološki parametri kao indikatori stanja životne sredine. IV međunarodna konferencija „Ribarstvo“, Zbornik radova, Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu.
- Dekić, R., Ivanc, A., Mirošljević, D. (2010): Eritrogram kalifornijske pastrmke (*Oncorhynchus mykiss*) iz ribnjačkih i eksperimentalnih uslova. II simpozijum biologa Republike Srpske, 4-6. 11. 2010. Banja Luka. Zbornik sažetaka, 88.
- Ficke, A. A., Myrick, C. A., Hansen, L. J. (2005): Potential Impacts of Global Climate Change on Freshwater Fisheries, WWF- World Wide Fund for Nature, Colorado, USA, 91pp.
- Ivanc, A., Hasković, E., Jeremić, S., Dekić, R. (2005): Hematological Evaluation of welfare and health of fish, Praxis veterinaria 53 (3) 191-202, 2005.

- Ivanc A., Dekić R., Hasković E., Dulčić J., Glamuzina B., Mitrašinović M., Suljević D. i Bubić M. (2007): The effects of thermal stress on red blood cell parameters of *Barbus peloponnesis*. ECI XII, XII European Congress of Ichthyology, Cavtat (Dubrovnik), Croatia, Septembar, 2007.
- Kubilay, A., Ulukoy, G. (2002): The effects of Acute Stress on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Turk J Zool. 26 (2002) 249-254.
- Roessig, J.M.; Woodley, C.M.; Cech, J.J.; Hansen, L.J.(2004): Effects of global climate change on marine and estuarine fishes and fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 14: 251-275.
- Smit, G. L., Hattingh, J. and Ferreira, J. T. (1981): The physiological responses of blood during thermal adaptation in three freshwater fish species. *J. Fish Biol.* 19: 147-160.
- Houston, A.H., Dobric, N. and Kahurananga, R. (1996): The nature of hematological response in fish. Studies on rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* exposed to simulated winter, spring and summer conditions. *Fish Physiology and Biochemistry*. 15, 4: 339-347.
- Moyle P. B. and. Cech, J. J. (2004): *Fishes: An Introduction to Ichthyology*, 5th ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, N. J.