

Originalni naučni rad

HISTOLOŠKE KARAKTERISTIKE OVARIJA KALIFORNIJSKE PASTRMKE *ONCORHYNCHUS MYKISS* (WALBAUM, 1792) UZGAJANE U RAZLIČITIM MIKROAMBIJENTALNIM UVJETIMA^{1*}

Selma PILIĆ¹, Nadžida MLAČO^{2*}, Amela KATICA², Velija KATICA², Indira MUJEZINović², Jasmin KATICA²

¹Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Sarajevu, Bosna i Hercegovina

²Veterinarski fakultet, Univerzitet u Sarajevu, Bosna i Hercegovina

* Korespondentni autor: nadzida.mlaco@yahoo.com

Kratak sadržaj: Akvakultura kao poljoprivredna djelatnost u našoj zemlji je u stanju proizvoditi velike količine ribe različitih vrsta i kategorija. Klimatske i geografske karakteristike naše zemlje, njen reljef i razvoj poljoprivredne proizvodnje kao i poštovanje principa „održivog razvoja”, mjesta i značaja ribarstva u višenamjenskom korišćenju voda, moraju da određuju pravac razvoja proizvodnje pastrmki u budućnosti. Najvažnija riblja vrsta koja se uzgaja u pastrmskim ribnjacima kod nas je kalifornijska pastrmka, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). Osim što je gajenje ove vrste ribe privlačno za veliki broj proizvođača, s obzirom na mogućnost postizanja visokih prinosa, nju odlikuje i značajna tolerantnost na variranja mikroambijentalnih uvjeta okoliša. S obzirom za značaj proizvodnje ribe u Bosni i Hercegovini, koja je jedna od rijetkih grana prehrambenog sektora koja je uspjela ispuniti međunarodne standarde i postavljene kriterije te osigurati izlazak na tržište zemalja Europske unije, neophodno je ustanoviti optimalne uslove koji obezbjeđuju visoku produktivnost salmonidnog gospodarstva. Proučavanje reproduktivnog ciklusa može dati vrlo precizne i značajne rezultate o stanju organizma za vrijeme ovog vrlo složenog fiziološkog procesa, kao i populacije u datom ekosistemu.

Кljučне riječi: kalifornijska pastrmka (*Oncorhynchus mykiss*), gonade, mikroklimatski uvjeti

^{1*} Презентован на 23. Годишњем савјетовању доктора ветеринарске медицине Републике Српске (БиХ). Теслић, 6-9- јуна 2018.

UVOD

Poznata je činjenica da ribarstvo u našem regionu ima dugu i uspješnu tradiciju koja se već gotovo vijek potvrđuje kroz čitav niz naučnih i stručnih radova eminentnih stručnjaka sa ovih prostora koji zauzimaju značajno mjesto u ovoj oblasti u svijetu, uspješno realiziranih projekata lokalnog i svjetskog karaktera, vrhunskih slatkovodnih i morskih ribogojilišta i pogona za preradu ribe i ribljih proizvoda. Neizostavno treba napomenuti veliki broj endemskih ribljih vrsta i što je možda najvažnije, možemo slobodno reći, neiscrpnih prirodnih resursa visokokvalitetne riječne, jezerske, pa i morske vode. Pravilan izbor matičnog materijala u intenzivnom uzgoju kalifornijske pastrmke osigurava visoke proizvodne parametre potomstva (Korjenić, 2010). Za intenzivnu proizvodnju kalifornijske pastrmke (*Oncorhynchus mykiss*) potrebno je zadovoljiti i niz faktora koji trebaju omogućiti najpovoljnije uslove za život i brzi rast riblje populacije, odnosno doprinijeti što bržem ostvarivanju planirane proizvodnje i plasiranju finalnog proizvoda za tržište. Proizvođači moraju obezbijediti prije svega što kvalitetniji genetički potencijal riba, kvalitetne vrste hrane prema uzrasnim kategorija-

ma, zdravstveni veterinarski nadzor i fizičko-hemijske parametre kvaliteta vode od kojih su najbitniji: dovoljna količina vode kojom se ribogojilište snadbijeva, temperatura vode, koncentracija rastvorenog kiseonika u vodi i pH vrijednost vode (Aganović, 1979; Treer i sar, 2001; Ćuk i sar, 2006; Katavić, 2009). Neznatne promjene uslova držanja i ishrane remete iskorištavanje biološkog potencijala riba, a preko određenih granica ugrožavaju fiziološke funkcije, odnosno do vode do poremećaja zdravstvenog stanja organizma (Jeremić i sar, 2004). Među najvažnije vanjske faktore u kontroli reprodukcije ubrajamo: temperaturu i kvalitet vode, sadržaj otopljenog kiseonika, svjetlosni režim, fotoperiod, prisutnost specifičnog supstrata za razmnožavanje, strujanje vode, plima, godišnji ciklusi, ishrana, pa do moguće intervencije čovjeka kroz aplikaciju hormona kojim se podstiče mrijest (Sofradžija, 2009; Suljević, 2012).

Našim istraživanjima pokušali smo spoznati koliki utjecaj imaju različiti mikroambijentalni uvjeti na, intenzitet oogeneze i histološku sliku jajnika kalifornijske pastrmke.

MATERIJAL I METODE RADA

Istraživanje histoloških karakteristika gonada kalifornijske pastrmke iz tri bosanskohercegovačka ribogojilišta koji pripadaju različitim slivovima obuhvatala su rad na terenu i laboratorijske analize.

Materijal za naša istraživanja uzorkovali smo iz tri bosanskohercegovačka ribogojilišta: Royal-fish smještenom na Jablaničkom jezeru (Donja Jablanica), hidroakumulaciji rijeke Neretve,

Magazin MAPRIM smještenom na toku Ramičkog potoka (Pazarić-Resnik) koji se ulijeva u rijeku Bosnu te Eko-projekt smještenom na toku rijeke Krupice (Jeleć-Miljevina) koja se zajedno sa Govzom ulijeva u Bistricu, a zatim u Drinu. U toku istraživanja uzeta je u obzir temperatura vode u (°C), nadmorska visina, pH vrijednost i zasićenost kiseonikom. Za histološku studiju gonada uzorkovano je 24 spolno zrelih jedinki u dobi od dvije do pet godina.

Gonade su posebno odvajane u etiketirane plastične boce i fiksirane pomoću 10% formaldehida te dopremljene do laboratorija gdje je vršena njihova dalja analiza i priprema histoloških preparata.

Postupak prije kalupljenja podrazumjevaao je prethodnu dehidraciju uzoraka provlačeći ih kroz niz alkohola rastuće koncentracije. Uzorci su prvo stavljani u 70% alkohol u trajanju od dva dana, zatim prebačeni u 96% alkohol jedan dan i na koncu u 100% alkohol takođe jedan dan. Poslije ovog postupka uzorci su prebačeni u mješavinu 100% alkohola i toluola na dva sata, a nakon toga samo u toulol još četiri sata. Tako pripremljeni uzorci ostavljeni su u parafin pet sati, a zatim ponovno u dvanaest sati. Time je postupak kalupljenja u parafinske blokove bio završen. Postupak obrade uzoraka od fiksacije do kaluplje-

na u parafin rađen je na rotacionom tkivnom procesoru marke MICROM model STP-120. Nakon završenog procesa kalupljenja uzorci su rezani digitalnim mikrotomom marke LEICA RM 2145 u više serijskih rezova debljine 0,5 do 1,5 mikrometara. Ukupno je izrađeno 400 preparata od 80 uzoraka (40 lijevih i 40 desnih spolnih žlijezda). Rezove smo postavljali na predmetna stakla i deparafinirali provlačeći ih kroz niz alkohola opadajuće koncentracije. Nakon toga, rezovi su bojeni hematoksilin-eozinom, pokriveni pokrovnim stakalcem, te učvršćeni Canada balsamom.

Mikroskopski preparati su izrađivani i analizirani u laboratoriji za Histologiju i embriologiju Veterinarskog fakulteta u Sarajevu od januara 2013. do jula 2014. godine.

Deskripciju histoloških preparata vršili smo svjetlosnim mikroskopom opremljenim sa kamerom marke MOTIC TYPE 102M pod uvećanjem 100, 200 i 400x. Provedene analize histoloških struktura su izvršene primjenom posebnog programa Motic Images Plus 2.0 ML.

Mikroskopskim istraživanjem obuhvatili smo analizu spolnih žlijezda ženki u periodu mrijesta prateći razvojne faze i stepen sazrijevanja na različitim ribogojilištima.

REZULTATI

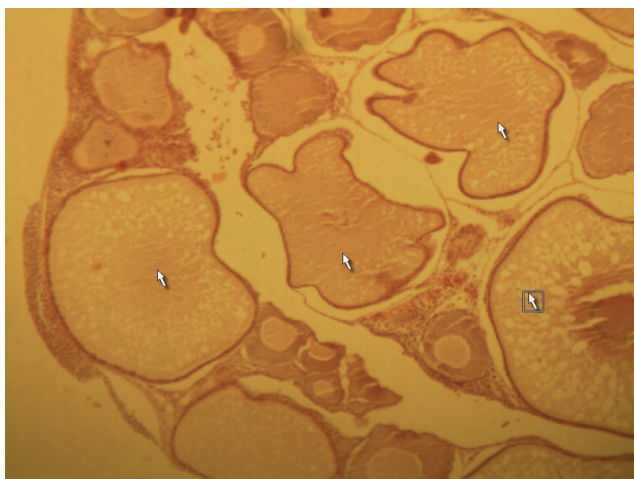
Na ribogojilištu Eko-projekt smještenom na nadmorskoj visini od 760 m, temperatura vode u momentu uzorkovanja je iznosila 7 °C. Konstatovana je pH vrijednost vode od 7,8, a rastvorljivost kiseonika u vodi iznosila je 10,5 mg/l.

U Magazin MAPRIM ribogojilištu, koje se nalazi na nadmorskoj visini od 653 m, očitane su vrijednosti temperature vode od 11 °C, pH od 8,3, te rastvorljivost kiseonika od 10 mg/l.

Izmjerena temperatura vode na ribogojilištu Royal-fish, smještenom na nadmorskoj visini od 202 m, iznosila je 8 °C. Utvrđena je pH vrijednost vode od 8,15,

a rastvorljivost kiseonika iznosila je 8,27 mg/l.

Na istraživanim histološkim preparatima ovarija jedinki iz Royal fish ribogojilišta, možemo konstatovati da je uočljivo i prisustvo folikula nakon ovulacije, međutim, u znatno manjem obimu nego kod ovarija jedinki iz drugih ribogojilišta. Postovulatorne folikule karakteriše prisustvo granulosa, teka luteinskih stanica, degradiranog folikula i krvnih kapilara sa slobodnim eritrocitima, ovalnog izgleda i jasno uočljivih bazofilnih jedara (Slika 1).

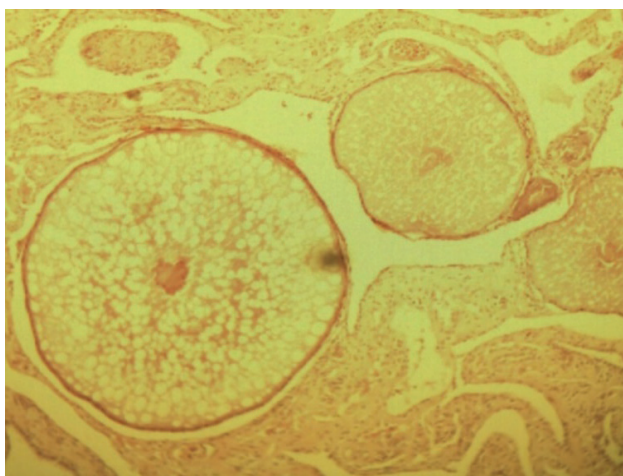


Slika1. Vitelogena faza: bijele strelice označavaju sekundarne i tercijarne razvojne oblike oocita (HE X 200)

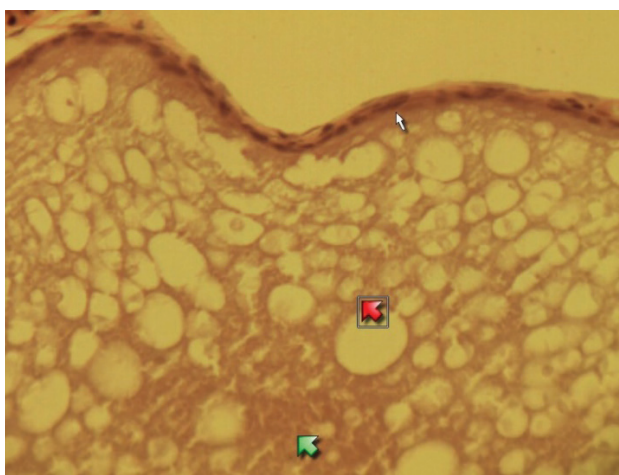
Posebnu pažnju naših istraživanja privukli su histološki preparati ovarija jedinki uzgajanih na ribogojilištu Eko-projekt (lokalitet Jeleć-Miljevina). Naime, histološka istraživanja uzoraka

prikupljenih iz ovog ribogojilišta pokazivala su različitost histološkog nalaza, što se očitovalo, općenito, u generalnoj slici ovarija (Slika 2). Parenhim ovarija je obilovao oocitima

u fazi prematuracije, maturacije i množtvom postovulatornih folikula. Nakon detaljne histološke analize, uočili smo dosta vitelogenih oocita iznimno velikih dimenzija, ispunjenih žumančanim granulama i masnim vakuolama (Slika3). Na površini ovih folikula bila je jasno očuvana zona radijata.



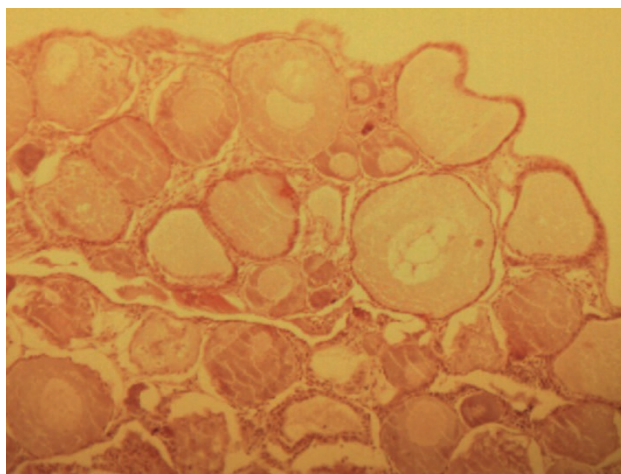
Slika 2 . Generalna slika ovarija u vrijeme mrijesta: mnoštvo velikih vitelogenih oocita (HE X 200)



Slika3. Sekundarna žumančana oocita: bijela strelica označava zonu radijatu; zelena strelica označava žumančane granule; crvena strelica označava vakuole (HE X 400)

Ambijentalni uvjeti su vjerovatno pogodovali ovakvoj slici intenziteta oogeneze. Možemo konstatovati da je oogeneza jedinki sa ovog ribnjaka u poređenju sa druga dva ribogojilišta, u istom periodu godine, u mjesecu novembru, bila na samom vrhuncu s obzirom na znatno prisustvo maturiranih oocita. Ribe iz ribogojilišta Eko-projekt (lokalitet Jeleć-Miljevina) su uzgajane u betonskim bazenima sa protočnom izvorskom vodom.

Iako su histološke analize jajnika kalifornijske pastrmke izlovljene na različitim lokalitetima, pokazivale izvjesne razlike u građi i prisustvu razvojnih oblika oocita, možemo reći da su jajnici jedinki uzorkovanih iz ribogojilišta Magazin MAPRIM (lokalitet Ramički potok-Pazarić) pokazivali različitosti u histološkoj slici ovariaja. Desne, ali i lijeve gonade obilovale su još uvijek nezrelim razvojnim oblicima oocita (Slika 4).



Slika 4. Generalna slika ovarija u vrijeme mrijesta jedinki uzorkovanih sa ribogojilišta Magazin MAPRIM (HE X 200)

Ribe u ribogojilištu Magazin MAPRIM su uzgajane u betonskim bazenima.

DISKUSIJA

U literaturi se mogu naći podaci da na reproduktivni ciklus kalifornijske pastrmke snažno utiču fotoperiod i drugi ekološki faktori te njihovom manipulacijom može se diktirati vrijeme mrijesta (Randall, 2001).

Variranja ekoloških faktora značajno

utiču na rast i vremenski interval razvoja gonada kod riba (Ekanem i sar, 2013). Morfološki opis i detaljnu deskripciju jajnika kalifornijske pastrmke izložili su u svojoj studiji (Grier i sar 2007). Fotoperiod i temperatura imaju različit učinak na različite vrste riba.

Djelovanjem različitih temperatura vode na kalifornijsku pastrmku rezultira različitim vremenom mriješta i veličinom jaja (Pornsoping i sar, 2007), čime možemo objasniti i rezultate naše histološke deskripcije ovarija. Iako su rezultati provedenih mjerenja pokazali različite fizičko-hemijske parametre vode na sva tri bosanskohercegovačka ribogojilišta, literaturni izvori potvrđuju da su oni bili u fiziološkim granicama koje zahtijeva kalifornijska pastrmka u intenzivnom uzgoju (Ćuk i sar, 2006; Vranić i sar, 2011; Marković & Mitrović-Tutundžić, 2003; Marković i sar, 2006)

što je u skladu sa našom histološkom deskripcijom ovarija. U tehnologiji uzgoja kalifornijske pastrmke neophodno je da se obezbijede elementarni uslovi: čista voda sa ispunjenim zahtjevima za sadržajem kiseonika (9-11 mg/l), odgovarajuća temperatura (8-12 °C), pH vrijednost (6,5–8,5) i dovoljan protok vode te sistemska ishrana različitim vrstama industrijske i prirodne hrane (Ćuk i sar, 2006; Marković i sar, 2006; Vranić i sar, 2011) što, okvirno, zadovoljavaju ribnjaci koji su bili predmet naših istraživanja.

ZAKLJUČCI

Histološkom analizom ovarija kalifornijske pastrmke uzorkovane na različitim ribogojilištima koje karakterišu različiti ambijentalni-mikroambijetalni uvjeti, utvrdili smo da je oogeneza najvećeg intenziteta bila kod uzoraka iz

ribogojilišta Eko-projekt, lokalitet Jelec - Miljevina (bazenski sistem uzgoja sa protočnom vodom, nadmorska visina 760 m, temperaturom vode 7 °C, pH od 7,8, rastvorljivosti kiseonika 10,5 mg/l).

LITERATURA

1. Aganović M. (1979): Salmonidne vrste riba i njihov uzgoj. Igkro „Svjetlost“ OOUR, Sarajevo
2. Ćuk D., Marković Z., Grubić G. (2006): Uticaj različitog sadržaja masti u dve smeše koncentrata na prirast kalifornijske pastrmke (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) u kaveznom sistemu gajenja. *Biotechnology in animal husbandry*, 22: 351-358.
3. Ekanem A.P., Eyo V.O., James P., Udoh U., Nsisong E. (2013): Effects of Unical Feed on Fecundity and Gonad Development of *Clarias gariepinus*; A Comparative Study with Coppens Commercial Feed in Erthen Pond. *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 2(10):8-14.
4. Grier H.J., Uribe M.C., Parenti L.R. (2007): Germinal Epithelium, Folliculogenesis, and Postovulatory Follicles in Ovaries of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792). *Journal of Morphology*, 268:293-310.

5. Jeremić S., Radosavljević V., Ćirković M., Jakić-Dimić D. (2004): Aktualna bakterijska oboljenja slatkovodnih riba. Zbornik kratkih sadržaja „VI Simpozijum o ribarstvu Srbije i Crne Gore sa međunarodnim učešćem”, 46.
6. Katavić I. (2009): Okolišni aspekti akvakulture s posebnim osvrtom na organski otpad i prihvatni kapacitet uzgajališta. Uzgoj slatkovodne ribe, stanje i perspektive zbornik radova, Hrvatska gospodarska komora, Sektor za poljoprivredu, prehrambenu industriju i šumarstvo. Udruženje ribarstva i prerade ribe, Zagreb.
7. Korjenić E. (2010): Salmonikultura. Autorizovana skripta sa radnom sveskom. Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Sarajevu.
8. Marković Z., Mitrović-Tutundžić V. (2003): Gajenje riba, Zadužbina Andrejević, Beograd.
9. Marković Z., Poleksić V., Dulić Z. (2006): Optimalna koncentracija kiseonika u vodi pastrmskih ribnjaka-preduslov dobre proizvodnje. *Biotehnologija u stočarstvu*, 22: 103-112.
10. Sofradžija A.(2009): Slatkovodne ribe Bosne i Hercegovine. Bemust Sarajevo.
11. Suljević D. (2012): Biohemijski status vrsta *Salmo trutta fario* (Linnaeus, 1758) i *Salmo farioide* (Karaman, 1938) tokom i nakon mrijesta u Centru za ribarstvo Neretva-Konjic. Doktorska disertacija.
12. Pornsoping P., Unsrising G., Vearsalip T., Wessels S., Horsteng-Schwark G. (2007): Reproductive performance of female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*(Walbaum) kept under water temperatures and photoperiods of 131 and 511N latitude. *Aquaculture Reserach*, 38(12):1265-1273.
13. Randall C. (2001): Photoperiod effects on reproduction and growth in rainbow trout. *Trout News*, 32: 12-16.
14. Treer T., Safner R., Aničić I. (2001): Modeli malih obiteljskih ribnjaka. Hrvatski zadružni savez. Zagreb.
15. Vranić D., Đinović-Stojanović J., Spirić A. (2011): Kalifornijska pastrmka (*Oncorhynchus mykiss*) iz akvakulture-kvalitet mesa i značaj u ishrani. *Tehnologija mesa*, 52(1): 122-133.

Rad primljen: 10.09.2018.

Rad prihvaćen: 15.10.2018.