



Balık Hematolojisi ve Yeme Eklenen Bazı Tıbbi Bitkilerin Balıkların Kan Parametrelerine Etkisi Üzerine Bir Derleme

Ebru YILMAZ

Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü, Aydın, Türkiye

Received: 16.01.2015; Accepted: 11.02.2015

Özet. Bir canlının büyüebilmesi, vücudunda enerji depolayabilmesi ve sindirilmiş gıdaları dışarı atabilmesi, vücut içerisindeki bazı kimyasal maddelerin değişik yönlerde taşınması ile gerçekleştirilebilmektedir. Yapılan bu işlemlerin tümü kan ve kan yolunu oluşturan kan damarları ile sağlanmaktadır. Kan ve kandaki bozuklukları inceleyen bilim dalına hematoloji denilmektedir. Hematolojik analizler balık sağlığının belirlenmesinde önemli olup, hemoglobin yıkımı, eritrosit ve hematokrit miktarlarındaki azalmalar aneminin (kansızlık) göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Eritrosit sedimentasyon miktarı hastalıkların varlığı hakkında bilgi vermektedir. Toplam lökosit miktarı ve tipleri hastalıkların teşhisinde kullanılmaktadır. Balıktaki kan hücreleri, eritrosit, lökosit ve trombositlerden bahsedilmiştir. Aynı zamanda son yıllarda, üretimi arttırmak için yem katkı maddelerinin balık yemlerinde kullanımı yaygınlaşmaktadır. Bu derlemede, balık yemlerinde yem katkı maddesi olarak kullanılan tıbbi bitkilerin ve bitki ekstraktlarının balıkların hematolojik parametreleri üzerine etkisi yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Balık, hematoloji, tıbbi bitki

A Review on Hematology of Fish and Effect of Dietary Medicinal Herb on Blood Parameters of Fish Summary

Abstract. By moving some chemicals in body to different directions, it is possible to nourish an organism, to store energy in the body and to throw digested foods out. All these operations can be provided with blood vessels that compose the blood path. Hematology is a science which analyzes blood and the disorders in blood. Hematological analyses are important in determining the health of fish. Destruction of hemoglobin, decrease in erythrocytes and hematocrit amount can be considered as the indicator of anemia. Erythrocyte sedimentation quantity gives information about the existence of the disease. Total leukocyte count and type are used in the diagnosis of disease. Blood cells in fish in this review, erythrocytes, leukocytes and platelets are mentioned. Also in recent years, the use of ingredients in feed feeds has been spread in order to increase the production. In this review, it was touched on the effects of medicinal plants and herb extracts which were used as additive in fish feeds on hematological parameters of fish.

Key Words: Fish, hematology, medicinal herb

* Corresponding author. *Email address:* doktor_ebru@hotmail.com

1. GİRİŞ

Hematoloji, kanı ve kan hastalıklarını inceleyen tıp dalıdır ^[1]. Balıkların hematolojik parametreleri; balık yetiştiriciliğinde, balıkların fiziksel durumlarının belirlenmesinde, stres ve hastalıkların kontrolünde her geçen gün daha yaygın olarak kullanılan indikatörlerdir ^[2]. Hematolojik parametrelerdeki değişiklikler, çevresel strese karşı balıkta fizyolojik tepkilerin işaretidir. Balıklarda strese yol açan şartların tespitinde (hastalık, parazit enfeksiyonları, kirleticilerin biyolojik birikimi) farklı balık taksonları arasındaki filogenetik ilişkilerin açıklanmasında, fizyolojik sağlık durumunun tespit edilmesinde ve farklı kan hücrelerinin tanımlanmasında hematolojik parametreler kullanılır ^[3,4,5,6,7,8]. Balıklarda, hematolojik parametreler çevre şartlarındaki değişikliklere kısa sürede cevap verdiği için dolayı toksikolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır ^[9,10]. Bu parametreler organizmaların klinik durumları hakkında önemli bilgiler vermektedir. Balıklarda hematolojik değerler su sıcaklığı, iklimsel değişikliklerle ilişkili olan mevsimsel varyasyonların etkisiyle değişiklik göstermektedir ^[11,12]. Balıklarda kan hücrelerini, eritrositler (kırmızı kan hücreleri), lökositler (beyaz kan hücreleri) ve trombositler oluşturmaktadır ^[13].

1. Eritrositler

Balıklardaki eritrositler (kırmızı kan hücreleri) kan hücreleri arasında en fazla miktara sahip hücrelerdir ve memeliler dışındaki omurgalı canlıların kan hücrelerine benzer yapıdadır ^[13]. Eritrositler kırmızı renktedir ve bu renk bir protein olan globulin ile demir içeren hemoglobin pigmentlerinden kaynaklanmaktadır ^[14]. Balık eritrositlerinin kandaki miktarı türlere göre değişmekle beraber, $0,06 \times 10^3 / \mu\text{l} - 5,3 \times 10^6 / \mu\text{l}$ arasındadır ^[15,16]. Eritrosit miktarındaki değişimler balıkta herhangi bir hastalık belirtisi olarak kabul edilir. En önemli işlevleri içerdikleri hemoglobin sayesinde solungaçlardan dokulara O_2 ve dokulardan solungaçlara CO_2 taşımalarıdır. Kırmızı kan hücreleri sudaki erimiş oksijenin % 99 kısmını taşımaktadır ^[17]. Hemoglobin, hematokrit ve eritrosit miktarlarının tespiti ile anemi belirlenir. Ayrıca, Wintrobe indeksleri olarak adlandırılan; ortalama eritrosit hacmi (MCV), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin (MCH) ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) da aneminin tespitinde önemlidir ^[18]. Bitkilerin ve bitki ekstratlarının balıkların eritrosit miktarındaki değişimlere etkisi yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Tablo 1.) Sazan (*Cyprinus carpio*) balıklarının yemlerinde kullanılan *Azadirachta indica* ekstraktının eritrosit oranını arttırdığı belirtilmiştir ^[19]. Farklı bir sazan türü olan *Labeo rohita* balıklarının yemlerinde 0,1, 0,5, 1 g/100g olacak şekilde sarımsak kullanılmasının eritrosit miktarını arttırdığı tespit edilmiştir ^[20]. Farklı bir çalışmada tilapya (*Oreochromis niloticus*) balıklarının yemlerinde 50-250 mg/kg ginseng ekstratı kullanımının eritrosit miktarını arttırdığı saptanmıştır ^[21].

1.1. Hemoglobinin işlevi

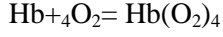
Balık Hematolojisi ve Yeme Eklenen Bazı Tıbbi Bitkilerin Balıkların Kan Parametrelerine Etkisi

Hemoglobin bir solunum pigmentidir. Atomlarının ortasında bir demir atomu bulunan bir pigmente heme adı verilir, heme hem kana kırmızı rengi verir hem de oksijeni kendine bağlayarak taşır. Her bir heme grubu iki veya dört aminoasit grubundan oluşur. Bunun protein kısmını ise globin molekülü oluşturur. Kanın oksijen taşıma kapasitesi bir solunum pigmenti olan hemoglobinin miktarına bağlıdır o da eritrositlerin sayısına göre değişir. Çünkü kanın oksijen bağlama kapasitesini arttıran hemoglobindir ^[17]. Hemoglobin, üzerinde yoğun olarak çalışılan bir proteindir. Hemoglobinin moleküler analizi özellikle kristalografik yapısının anlaşılması, proteinlerin yapı fonksiyonu ilişkisi, ligand bağlama, konformerler arasındaki yapısal geçişler ve allosterik etkileşimleri biyolojideki araştırma alanını oluşturmuştur ^[22,23]. Hemoglobin proteini gaz çözünmesini kolaylaştırarak ve gazları dokulara taşıyarak oksidatif katabolik reaksiyonlardan kaynaklanan elektronların son alıcısını harekete geçirir ^[24]. Hemoglobinin işlevi hayvanların farklı metabolik ihtiyaçlarına ve çevresel değişikliklerine uyum sağlamış görünmektedir ^[25]. Omurgalılar arasında balıklar, genotipik özellikleri nedeniyle ve evrim zincirindeki konumlarından dolayı üzerinde yoğun olarak araştırma yapılan hayvanlardır. Bu özellikler farklı balık türlerinin (oksijen uygunluğu, sıcaklık, basınç, tuzluluk gibi) farklı koşullarla nasıl mücadele ettiğini gösterir. Balıklar yüksek sayıda hemoglobin içeren hayvan grubudur ^[24]. Literatürde balıkların biyokimyasal adaptasyonlarını rapor eden çok sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmalara göre, balıklar çevresel koşullara göre değişikliğe uğrayabilen yüksek genotipik esnekliğe sahip canlılardır. Erkek Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) ve dişi Tambaqui (*Colossoma macropomum*) balıklarının birleşmesi ile oluşan Tambacu melezi örneğinde olduğu gibi farklı türler arasındaki genetik varyasyonlardan dolayı yeni türlerin oluşumu ve onların ataları ile aynı özelliklere sahip olan türlerin varlığı tespit edilmiştir ^[26]. Ortak bir atadan gelen alfa ve beta alt birimlerinin oluşumunu sağlayan ata genin çoğalması en az 450 yıl önce gerçekleşmiştir ve bu zaman süreci içerisinde büyük değişimler görülmüştür. Omurgalıların hemoglobin evrimi çok fazla sınırlamalara tabi olmuştur. Hemoglobinin evrimi çevresel ve fizyolojik değişiklikler ile ilişkilidir ^[27].

1.2. Hemoglobinin yapısı

Hemoglobin, globin olarak bilinen polipeptid zincirlerinden oluşur ve her bir zincir heme diye adlandırılan bir prostetik gruba sahiptir. Globinlerin, kuarter yapılarının farklılığı, oksijen taşınması, depolanması dışında önemli görevlerinin olduğu tespit edilmiş, tüm organizma ve dokularda varlığı belirlenmiştir ^[28,29]. Globin genlerinin organizasyonu memeliler, kuşlar ve kurbağalarda tam olarak tanımlanmıştır. Memelilerde, alfa ve beta globin genleri farklı kromozomlar üzerinde yer almaktadır. İnsanda, alfa globin geni 16. kromozom ve beta globin geni 11. kromozom üzerinde bulunur. Tavuklarda, alfa ve beta globin genleri farklı kromozomlar üzerinde de vardır. Örneğin amfibilerden *Xenopus*'da genler aynı kromozom üzerinde bulunur. Teleostlarda (*Salmo salar*, *Cyprinus carpio* ve *Danio rerio*) yetişkin alfa globin geni beta globin geni ile bitişik olarak bağlantılıdır ve embriyon

globinler yetişkin globinlerinden tamamen farklıdır ^[30]. Hemoglobin molekülü 4 globün zinciri içerir, tetramer formdadır ve beta zincirleri 141, alfa zincirleri 146 aminoasitten meydana gelmektedir. Hemoglobin molekülünün yapısında yer alan her globin zincirlerine bir tane de hem plağı bağlanmıştır. Bu yapı, hemoglobin molekülüne oksijen bağlanmasını sağlamaktadır. Aşağıda 1 heme grubuna 4 oksijen bağlandığı görülmektedir.



Hemoglobinin asıl görevi, gaz değişim organlarından çevresel dokulara oksijen taşımaktır. Gazın kısmi basıncına bağlı olarak oksijen sıkı bir şekilde tutulmalı fakat aynı zamanda gerektiğinde serbest bırakılmalıdır ^[31]. Tersinir oksijen bağlama hem grubu sayesinde F^{+2} formundaki demir atomu ile mümkündür. İlkel bazı balık türlerinde lamprey ve hagfishlerde tersinir hemoglobin ayrıştırıcısı oksijen bağlayıcıya yanıt olarak oluşur. Lampreylerde oksijenli form monomeriktir ^[32]. *Myxine glutinosa* (hagfish)'de oksijenli formda üç monomerik hemoglobin vardır fakat serbest oksijenin varlığı heterodimer ve heterotetramer formu ile ilişkilidir ^[33].

1.3. Allosterik kontrol

Hemoglobinin oksijeni bağlama yeteneği, ortamın pH'ı, pCO_2 (Bohr Etkisi), sıcaklık ve organik fosfatlara bağlıdır ^[34]. Bunlara toplu halde allosterik faktörler denir, çünkü bunların hemoglobin molekülünün bir bölgesi ile etkileşimleri molekül üzerindeki farklı bölgelerdeki hem gruplarının oksijenle bağlanmasını etkilemektedir. Hemoglobinlerde allosterik özellikleri açıklayan ve en çok kabul gören modellerden biri Monod ve arkadaşları tarafından 1965 yılında önerilmiştir. Hemoglobin oksijene bağlandığında farklı afinite oluşumları mevcuttur. Düşük afinite durumu (gergin) taut form veya T, yüksek afinite durumu relaks form veya R olarak bilinir. T formu hemoglobinin oksijene ilgisinin düşük olduğu formdur, R formu ise hemoglobinin oksijene ilgisinin yüksek olduğu formdur ^[27]. Bununla birlikte, diğer ligandlar oksijen hemoglobine bağlandığında onun yardımcı etkisini azaltırlar. Onlar fizyolojik ihtiyaçlar doğrultusunda gaz için afinite durumunu ayarlar. Bu mekanizmalar hemoglobin fonksiyonunun "ince ayarını" oluşturmaktadır, farklı bölgelere bağlanma esnasında O_2 tutucu bu durumu etkiler çünkü onlar heteroik allosterik etkileşimleri temsil ederler ^[24]. Bu tür değişikliklere neden olan kimyasal türler allosterik efektör veya ajanlar olarak adlandırılırlar bunlar tercihen T ve R'dir ve oksijen afinitesini artırır veya azaltırlar ^[35]. Heterotropik efektörler önceden belirtilenlere ek olarak farklı alt bölgeler oluşturabilirler. *Hoplosternum littorale* balığında bu şekilde bölgeler saptanmıştır. ^[36]. Heterotopik efektörler, daha önce belirtilenlere ek olarak, farklı substratlara neden olabilir, "tamoatá" (*Hoplosternum littorale*) balığında belirlenen hemoglobin gibi ^[37]. Ph düşürüldüğünde veya hemoglobin yüksek CO_2 parsiyel basıncında bulunuyorsa oksijenin hemoglobinden ayrılması kolaylaşır, her iki halde de hemoglobinin oksijene ilgisi azalır ve bu yüzden oksijen dissosiasyon eğrisinde sağa doğru kayma meydana gelir. Oksijen bağlanmasındaki bu

Balık Hematolojisi ve Yeme Eklenen Bazı Tıbbi Bitkilerin Balıkların Kan Parametrelerine Etkisi

değişikliğe Bohr etkisi denir. Çoğu hemoglobin için bohr etkisi H^+ konsantrasyonunda bir artış, pH da azalma, oksijen afinitesinde düşüşü ifade eder. Bu koşullar altında, hemoglobin daha düşük bir oksijen afinitesi gösterir ve gaz dokularda serbest kalır. Protein temel olarak çevreden gelen bir proteini kaldırırken, gaz değişim organlarında aksi görülebilir yani protonlar serbest bırakılabilir ve oksijen tutulabilir ^[24,38]. Alkalın, Bohr etkisinde önemli bir rol oynar. Özellikle egzersiz sırasında laktik asit iskelet kas dokularından serbest kalır, akciğer ve solungaçların doygunluğunu artırır ^[39]. Bohr etkisinde kalıntılar tespit edilmiştir, deoksijen formunda Asp94α ile iyonik bir etkileşimi şekillendiren His146β kalıntısı vardır. Bir diğer önemli kalıntı Val1β'dir ve katılımı çeşitli faktörlere bağlıdır. Bu faktörler; 1- Klorür varlığı, 2- Kalıntının asetilasyon veya formilasyonu 3- N ucu ile bağlantılı CO₂ oranı ^[24]. Organik fosfatlar, özellikle 2,3 - BPG, IPP, ATP ve GTP tercihen deoksi-hemoglobine bağlanır ve oksijen afinitesini düşürür. Fosfatın deoksi-hemoglobine bağlanmasından sorumlu olan kalıntılar pozitif yüklüdür. Alfa zincirlerinden Val1 amino grubu ve beta zincirlerinden His2, Lys82 ve His143 grubudur. Kanın oksijen afinitesi, hemoglobin konsantrasyonuna bağlıdır ve duyarlılığı heterotopik efektörler ile ilişkilidir ^[40].

1.4. Balık Hemoglobinleri

Omurgalılarda hemoglobinler, kırmızı hücre ya da eritrosit olarak bilinen özel olmayan hücreler içerir. Balıkların büyük çoğunluğunda, eritrositler ovaldir ve memelilerdekinden daha büyüktür, sayıları 800 bin ile 3,5 milyon/mm³ arası değişmektedir. Lökosit sayıları 20-50 bin arasındayken bazı türlerde 100.000/mm³e kadar artmaktadır ^[41,42]. Balıkta eritropoez (alyuvar oluşumu) bir ara hücre kitlesini takiben yumurta kesesi içinde başlar. Bu bölgelerin geçişken kökenleri vardır, bu bölge balıklarda filogenetik bir görünüm yaratan kırmızı hücrelerin atalarını oluşturur ve memelileri de içeren omurgalıların tüm sınıflarında bulunur. Eritrositlerin üretimi gastrointestinal sistemin dalağında ve ön dalak dokusunda gerçekleşirken (*Cyclostoma*, *Sarcopterygii* ve *Chondrichthyes* gibi), teleostlarda böbreklerde gerçekleşir ^[43]. Gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) , embriyon globinleri orta düzey hücre kitlelerinde notokordun altında 6-7 günlük embriyoların içinde yer alırken, olgun globinler kanda, böbrekte ve karaciğerde bulunur ^[30]. Hemoglobinler balık adaptasyonunda önemlidirler, organizma ile çevre arasında bir ara yüzey oluştururlar ^[44].

Balıklar oksijen kullanımında karasal hayvanların aksine çok değişik çevresel değişimlere maruz kalırlar. Amazon balıkları hipoksiye maruz kaldıkları zaman havadan doğrudan oksijeni temin ederken zorlanırlar. Solungaçlar, ağız, mide, bağırsak ve yüzme kesesi vaskularizasyonlarında anatomik değişiklikler meydana gelir ^[45,46]. Hipoksik durumlarda, kanda organik fosfat seviyesi artar, bu ise hemoglobinin oksijen afinitesini azaltır. Balıklarda artan organik fosfat/hemoglobin oranı anemiye yol açar ^[47]. *Prochilodus nigrans* balığında eritrositlerin içinde GTP ve ATP seviyelerinin mevsimsel değişimi hemoglobin O₂ afinitesinin değişimine bağlıdır. GTP ve ATP seviyeleri yükseldiğinde yaz boyunca düşük afinite gözlenmiştir. GTP ve ATP seviyeleri düştüğünde kış boyunca yüksek bir O₂

afinitesi gözlenmiştir ^[26]. *Pterygoplichthys multiradiatus* (yelken yüzgeçli kedi balığı) hipoksik koşullara maruz kaldığında organik fosfatların intra eritrosit seviyelerindeki değişimlere göre yüksek bir oksijen afinitesine sahiptirler ^[48]. Amazon balıkları hipoksiye maruz kaldıklarında ATP ve GTP konsantrasyonlarında düşüş vardır. Çevre sıcaklığında bir artış meydana geldiğinde, organik fosfat konsantrasyonlarında bir azalma gözlenmiştir. Hipoksiye maruz kalan balıklarda trifosfat nükleotid konsantrasyonunda bir azalma bildirilmiştir ^[49]. Ortam sıcaklığı arttığında, sudaki oksijen konsantrasyonu düşer. Cinsiyet, yaş, mevsim ve çevre hemoglobin konsantrasyonlarını etkileyebilir. Örneğin, Tambaqui (*Colossoma macropomum*) balığında günlük ve mevsimsel dalgalanmalar sırasında suda meydana gelen fizikokimyasal parametrelerdeki değişikliklere direnç, sudaki oksijen miktarı ve pH değişimlerine karşı bir tolerans mevcuttur ^[50]. Crucian sazan (*Carassius carassius*) gibi bazı türlerde, Kuzey Avrupa kışlarında uzun süre boyunca anoksi, hipoksi ve direnç sağlayan son ürün etanoldür ^[51]. Bazı türlerde, kan pH düşürücüsü tüm hemoglobinlerin deoksijenasyonun tamamlanmasına sebep olmaz. Çok düşük pH'da dahi küçük bir bölüm oksijenli kalır. Bu durum birçok hemoglobinden ve onların farklı oksijen bağlama özelliklerinden kaynaklanmaktadır ^[52,53]. Balık türlerinde mevcut hemoglobinlerin çeşitli formları izohemoglobin olarak adlandırılır. Bu çeşitli formların kökeni polimorfizmdir. Nötr mutasyonlar sonucunda hemoglobin çeşitliliğini açıklayan teoriler tarafsızlık ve seleksiyonist teorileri olarak adlandırılmaktadır ^[54,55]. Memeliler ve kuşlarla karşılaştırıldığında hemoglobin bileşeni sadece balıkta değil sürüngen ve amfibilerde de önemlidir. Balık türlerinin büyük çoğunluğunda simetrik hemoglobinler mevcuttur, bu aynı globin zincirlerinden iki çift olması demektir. Bununla birlikte, bir tek hemoglobin molekülünden az üç farklı globin zinciri içeren asimetrik hemoglobinlerde vardır ^[40,56]. Yapılan araştırmalarda balık hemoglobinleri elektroforetik davranışlarına göre katodik ya da anodik olarak sınıflandırılırlar. Katodik hemoglobinler (II. Sınıf hemoglobin) olarak adlandırılır en yüksek izoelektrik noktasına ve düşük O₂ afinitesine sahiptirler. Anodik hemoglobin (sınıf I), daha düşük bir afiniteye ve yüksek proton bağlama duyarlılığına sahiptir. Kullanılan analitik yöntem izohemoglobin sayısının tespitini belirleyebilir ^[57]. Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) kanına ilişkin, hemoglobin formları sayısı hakkında tartışmalar vardır, analitik yöntemle bağlı olarak 6-9 fraksiyon rapor edilmiştir. Hızlı Performanslı Sıvı Kromatografisi 9 fraksiyon gösterir bunlardan 5'i alfa 4'ü beta zinciri olarak tanımlanmıştır. Bu durum eritrosit içinde daha iyi bir pH tamponlama ve yüksek hemoglobin konsantrasyonu sağlayacaktır. Alabalıkta (*Oncorhynchus mykiss*) hemoglobin I (Toplamın % 20 si) Bohr etkisine ve organik fosfat duyarlılığına sahip değilken hemoglobin 4 (Toplamın % 60 ı) Bohr etkisine ve organik fosfat duyarlılığına sahiptir ^[58]. Hemoglobin IV üç tip alfa ve üç tip beta zincirinden oluşan büyük bir O₂ taşıyıcısıdır. Hemoglobin I'in alfa ve beta zincirleri Hemoglobin IV'den farklıdır ^[59,60]. Alabalıkta (*Oncorhynchus mykiss*) hemoglobin I, Bohr etkisi göstermez oksijen afinitesi pH'a bağlı değildir. Hemoglobin IV Bohr etkisi ve organik duyarlılık gösterir. Düşük pH, yüzme kesesi ve retina içine oksijen salınımı sağlayan bir Root etkisi gösterir. Hemoglobin IV pH 6'da tamamen oksijensiz iken

Balık Hematolojisi ve Yeme Eklenen Bazı Tıbbi Bitkilerin Balıkların Kan Parametrelerine Etkisi

pH 7,8'de oksijenlidir ^[58,60]. Hemoglobin I'in görevi, acil durumlarda gaz temini için dokularda oksijeni muhafaza etmek, Hemoglobin IV'in görevi ise yüzme kesesi içinde yüksek basınca karşı oksijeni salıvermektir ^[60]. Balıkların çoğunda kandaki oksijenin büyük bir kısmı hemoglobin tarafından taşınırken geri kalan az kısmı ise plazmada erimiş halde taşınır. Örneğin Köpekbalıklarında (*Heterodontus portusjacksoni*) 20 °C'de oksijenin % 93'ü hemoglobin tarafından bağlanarak, % 7'si de plazmada erimiş halde taşınır. Bununla beraber soğuk ortamlarda plazmada erimiş oksijen miktarı artabilir. Örneğin Antartikte yaşayan *Nototheniidae* familyasından bir tür olan *Trematomus bernacchii*'de bu miktar -1,5 °C'de % 12'dir. Hatta buz balığının (*Channichthyidae*) kanında eritrosit de, hemoglobin de yoktur. Bu balıklarda metabolik oksijen gereksinimi azdır ve soğuk sularda yüksek oranda erimiş oksijen bulunur. Böylece ortamla kan plazması ve kan plazmasıyla hücre içerikleri arasındaki oksijen gradiyentinin yeterince büyük oluşu oksijen difüzyonuna olanak verir ^[61]. Enfeksiyon ve stres gibi durumlarda balıklarda hemoglobin değerinin düştüğü bilinmektedir ^[62,63]. Bitkilerin ve bitki ekstraktlarının balıklarda hemoglobin değerini farklı şekilde etkilediğini gösteren birçok çalışma yapılmıştır (Tablo 1). Tilapya (*Oreochromis niloticus*) balıklarının yemlerinde %1,2,3,4 oranlarında kullanılan sarımsağın hemoglobin oranında artışa neden olduğu bildirilmiştir ^[64]. Benzer bir şekilde tilapya (*Oreochromis niloticus*) balıklarının yemlerine %0,005-0,025 oranlarında ginseng ilavesiyle hemoglobin oranında artış tespit edilmiştir ^[21]. Dünyada yetiştiriciliği yoğun olarak yapılan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) yemlerine farklı oranlarda timol-karvakrol, zencefil ve sarımsak katıldığında hemoglobin miktarında değişme görülmemiştir ^[65,66,67]. Farklı bir çalışmada tilapya (*Oreochromis niloticus*) balıklarının yemlerine 0,5, 1, 1,5 g/100g oranlarında çemen kullanılmasının hemoglobin oranını arttırdığı tespit edilmiştir ^[68].

2.LÖKOSİTLER

Balık kanında beyaz kan hücreleri lökosit (akyuvarlar) olarak adlandırılır. Bu kan hücreleri oval veya yuvarlak şekillidirler ^[13]. Balık kanındaki lökosit hücre sayısı ise 10–282x10³/μl arasında değişmektedir ^[15,16]. Yani eritrositlerden daha azdır. Lökositler; granüler (nötrofil, eozinofil, bazofil) hücreler ve granüler olmayan hücreler (lenfosit ve monositler) olarak ikiye ayrılmaktadır ^[69]. Granülositlerden nötrofil ve eozinofiller genelde fagositik özelliğe sahip olup, hastalıklarla savaşta rol oynarlar ^[70]. Granülositler bir takım granüller içerirler. Bu granüller boyama reaksiyonuna göre yani asit, baz ve nötr boylarla boyanabilme kabiliyetine göre asidofil, bazofil ve nötrofil olmak üzere başlıca 3 tiptedir ^[17]. Nötrofil ve asidofiller balıklarda en yaygın görülen hücrelerdir, bazofiller ise birçok balık türünde bulunmaz. Granülositlerde, makrofajlar gibi kandan (monosit), lenfoid organlardan (böbrek) ve periton boşluğundan kolaylıkla izole edilebilirler. Balık kanında granülosit sayıları stresli koşullarda artış göstermektedir. İzole edilen granülositlerin, en göze çarpan özelliği, sitoplazmalarında granülün bulunmasıdır, bu granüller hücrelerin tanımlanmasını sağlar.

Salmonidlerin nötrofillerinde, hücrelerin tanımlanmasını sağlayan polimorfonükleerler bulunmaktadır. Son yıllarda salmonlarda nötrofil özel monoklonal antikor hücreleri (MoAb) gündemdedir. İzole edilen granülositler (özellikle nötrofiller) hareketli, fagositik ve reaktif oksijen türleri üretir, fakat onların bakteriyel aktiviteleri makrofajlar ile karşılaştırıldığında nispeten zayıftır. Eozinofilik granüler hücreler (EGS), bağırsağın, solungacın, derinin, meninkslerin (beyin ve omurilik zarlarının) ve kan damarlarının çevresindeki stratum granulosumlarında bulunur, bu hücreler eozonofil olarak kabul edilmezler daha çok mast hücrelerinin yerine kullanılırlar ^[71]. Asidofil (eozinofil) lökositler sitoplazmalarında geniş kırmızı granülleri olan lökosit hücreleridir. Nükleuslarındaki loplama, nötrofil lökositlere göre daha az belirgindir. Görevleri çok az bilinmektedir. Bazı bulgular bu hücrelerin kanın histamin kaynağını oluşturduğunu göstermektedirler. Bazofil lökositler kanda normal olarak çok az sayıda bulunurlar. Sitoplazmalarında bazik boyalarla boyanan granülleri içerir. Bazofil lökositlerin granüllerinde histamin ve heparin bulunur. Nötrofil lökositler birçok akut inflamasyonda çok önemli hücrelerdir. Bunlar damar duvarından ameboid aktivite ile zarar gören dokuya göç ederler. Bu hücrelerin görevi bakterilerin ve zarar görmüş doku parçacıklarının fagositozudur. Zarar verici etki yok edilene kadar lökositler sayıca çoğalırlar. Nötrofil lökositler segmentli veya lobüllü çekirdekleri ile tanınırlar. Çok loblu çekirdek ve çok sayıda stoplazmik granüle sahip olan beyaz kan hücreleri granülosit olarak bilinir. Tek loblu ve loblara ayrılmamış bir çekirdeği olan ve sitoplazmasında çok az veya hiç granüle sahip olmayanlar ise granülsüz lökositler olarak bilinirler. Granülsüz lökositler lenfoid veya miyeloid seri öncü hücrelerden türerler ve dolaşımdaki lökositlerin yaklaşık olarak %35-38'ini oluştururlar ^[14]. Balık kanındaki monositlerin sayısı normalde çok düşük miktarda olmasına rağmen yabancı bir maddenin vücuda girmesiyle çok kısa bir sürede sayıları artabilmektedir ^[69]. Lenfositler kazanılmış bağışıklıktan sorumludurlar ve kazanılmış bağışıklık belli bir antijeni özel olarak tanıyan spesifik lenfositlerin uyarılması ve aktive olmasıyla ortaya çıkmaktadır ^[70]. Lökosit hücrelerinin bol miktarda bulunması balıkların sağlıklı olduklarının göstergesidir ^[72]. Bitkilerin balıklarda lökosit miktarını artırıp azaltmalarına yönelik farklı çalışmalar yapılmıştır (Tablo 1). Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*) yemlerinde Maça ekstratının (*Lepidium meyenii*) 5-15 g/100 g olarak kullanımının lökosit miktarını arttırdığı bildirilmiştir ^[73]. Tilapya (*Oreochromis niloticus*) balıklarının yemlerine ekinezya (*Echinacea purpurea*) bitkisi 0,25 ppt oranında katıldığında lökosit miktarının arttığı tespit edilmiştir ^[74].

Tablo 1. Tıbbi bitkilerin balık hematolojisi üzerine etkisi

Kullanılan Bitki	Balık Türü	Etki	Kaynak

Balık Hematolojisi ve Yeme Eklenen Bazı Tıbbi Bitkilerin Balıkların Kan Parametrelerine Etkisi

Maça (<i>Lepidium meyenii</i>)	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LM (↑), Hb (↔)	Lee [73]
Sarımsak	<i>Oreochromis niloticus</i>	EM (↑), Hb (↑)	Shalaby [64]
Ginseng (Ekstrakt)	<i>Oreochromis niloticus</i>	LM (↑), EM (↑), Hb (↑)	Goda [21]
Çemen	<i>Oreochromis niloticus</i>	EM (↑), Hb (↑)	Mostafa [68]

LM: Lökosit Miktarı, EM: Eritrosit Miktarı, Hb: Hemoglobin.

3. TROMBOSİTLER

Sağlıklı balık türlerinde trombosit sayıları 2.000-78,900 μ L arasında değişim göstermektedir. Yaş, sezon, cinsiyet, su sıcaklığı, pH, oksijen ve stresten balıklardaki trombosit sayısı değişmektedir ^[75,76].

4.SONUÇ

Bu derlemede, balıklardaki kan hücreleri incelenmiş ve tıbbi bitkilerin, bitki ekstraktlarının balıkların hematolojik parametrelerine etkilerine ilişkin çalışmalar ele alınmıştır. Böylece tıbbi bitkilerin balıkların sağlığını olumsuz yönde etkilemediği farklı çalışmalarla ortaya konulmuştur.

KAYNAKLAR

- [1] Tondre R, Lebegue C., 2010, Eds., Handbook of Hematology Research, Chapter 1, Nova Science.
- [2] Hickey C.R., 1976, Fish haematology, its uses and significance. N.Y. Fish Game J., 23, 170-175.
- [3] Kakuta I, Nakai T., 1992, Blood changes in Japanese *Anguilla*, *Anguilla japonica*, experimentally infected with typical or atypical *Aeromonas salmonicida*. Comp. Biochem. Phys. A, 103, 151-155.
- [4] Anderson D.P., Zeeman M.G., 1995, Immunotoxicology in fish. In: G.M. Rand (Ed.) Fundamentals of Aquatic Toxicology, pp. 371-404.
- [5] Sasal P., Morand S., Guegan J.F., 1997, Determinants of parasite species richness in Mediterranean marine fishes. Mar. Ecol. Prog. Ser., 149, 61-71.
- [6] Van Ginneken V.J.T., Maes G.E., 2005, The European eel (*Anguilla anguilla*, Linnaeus), its lifecycle, evolution and reproduction, a literature review. Rev. Fish. Biol. Fisheries, 15, 367-398. doi: 10.1007/s11160-006-0005-8.

- [7] Bartoli P., Gibson D.I., 2007, The status of *Lecithochirium grandiporum* (Rudolphi, 1819) (Digenea: *Hemiuridae*), a rarely reported and poorly known species from the Mediterranean moray eel *Muraena helena* L. in the Western Mediterranean. *Syst. Parasit.*, 68, 183-194.
- [8] Clauss T.M., Dove A.D.M., Arnold J.E., 2008, Hematologic disorders of fish, *Veterinary clinics of North America. Ex. Anim. Pract.*, 11, 445-462.
- [9] Bridges D.W., Cech J.J., Petro D.N., 1976, Seasonal Hematological Changes in Winter Flounder, *Pseudopleuronectes americanus*. *Trans. Am. Fish. Soc.* 5, 596-599.
- [10] Sharma J.P., Gupta V.K., 1994, Morphological and Haematological Alterations in Urea Exposed Fish, *Puntius sophore*. *Curr. Agric.* 18, 45-48.
- [11] Vuren J.H.J.V., Hattingh J., 1978, A Seasonal of the Haematology of Wild Freshwater Fish. *J. Fish. Biol.* 13, 305-313.
- [12] Lie Ø., Lied E., Lambertsen G., 1989, Haematological Values and Fatty Acid Composition of Erythrocyte Phospholipids in Cod (*Gadus morhua*) Fed at Different Water Temperatures. *Aquaculture*, 79: 137-144.
- [13] Baştusta G.A., 2005, Fish Hematology and Hematological Techniques. In: Karatas, M., Ed. *Research Techniques in Fish Biology* (in Turkish). Nobel Publications, Ankara, 275–300.
- [14] Timur M., 2006, *Balık Fizyolojisi* (1. Baskı). Nobel Yayın Dağıtım, Ankara. 192 p.
- [15] Fange R., 1992, Fish Blood Cells. In: Hoar WS, Randall DJ, Farrell AP, editors. *Fish Physiology*, Vol 12B:1-54. San Diego, CA: Academic Press Inc.
- [16] Hrubec T.C., Smith S.A., 2000, Hematology of fish. In: B.F. Feldman, J.G. Zinkl & N.C. Jain (Eds.) *Schlam's Veterinary Hematology*, pp. 1120-1125. Lippincott Williams and Wilkins. Int.
- [17] Karataş M., 2010, *Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri*, Nobel yayıncılık, 512.
- [18] Stoskopf M., 1993, *Fish Medicine* (1st Ed.). Saunders Company, Philadelphia. 882 p.
- [19] Harikrishnan R., Nisha R.M., Balasundaram C., 2003, Hematological and Biochemical Parameters in Common Carp, *Cyprinus carpio*, Following Herbal Treatment for *Aeromonas hydrophila* Infection. *Aquaculture*, 221: 41–50.
- [20] Sahu S., Das B.K., Mishra B.K., et al. 2007, Effect of *Allium sativum* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Applied Ichthyology* 23, 80–86.
- [21] Goda A.M.A.S., 2008, Effect of Dietary Ginseng Herb (Ginsana G115) Supplementation on Growth, Feed Utilization, and Hematological Indices of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), Fingerlings. *Journal of the World Aquaculture Society*, 39(2): 205-214.
- [22] Perutz M.F., 1984, Species adaptation in a protein molecule. *Adv Protein Chem* 36: 213-244.
- [23] Berenbrink M., 2006, Evolution of vertebrate haemoglobins: Histidine side chains, specific buffer value and Bohr effect. *Respir Physiol Neurobiol* 154: 165-184.

Balık Hematolojisi ve Yeme Eklenen Bazı Tıbbi Bitkilerin Balıkların Kan Parametrelerine Etkisi

- [24] Giardina B., Mosca D., De Rosa M.C., 2004, The Bohr effect of haemoglobin in vertebrates: an example of molecular adaptation to different physiological requirements. *Acta Physiol Scand* 182: 229-244.
- [25] Riggs A., 1976, Factors in the evolution of hemoglobin function. *Fed Proc* 35, 2115-2118.
- [26] Almeida-Val V.M.F., Val A.L., 1992, Adaptação bioquímica em peixes da Amazônia. *Cienc Hoje* 120: 124-129.
- [27] Brittain T., 2005, Root effect hemoglobins. *J Inorg Biochem* 99: 120- 129.
- [28] Weber R.E., Voelter W., 2004, Novel' factors that regulate oxygen binding in vertebrate hemoglobins. *Micron* 35: 45-46.
- [29] Fago A., Hundahl C., Malte H., Weber R.E., 2004, Functional properties of neuroglobin and cytoglobin. *Insights into the ancestral physiological roles of globins* 56: 689-696.
- [30] Maruyama K., Yasumasu S., Naruse K., Mitani H., Shima A., Iuchi I., 2004, Genomic organization and developmental expression of globin genes in the teleost *Oryzias latipes*. *Gene*. 335, 89-100.
- [31] Perutz M.F., 1978, Hemoglobin structure and respiratory transport. *Sci Am* 239: 92-125.
- [32] Qiu Y., Maillett D.H., Knapp J., Olson J.S., Riggs A.F., 2000, Lamprey hemoglobin. Structural basis of the Bohr effect. *J Biol Chem* 275: 13517-13528.
- [33] Muller G., Fago A., Weber R.E., 2003, Water regulates oxygen binding in hagfish (*Myxine glutinosa*) hemoglobin. *J Exp Biol* 206: 1389-1395.
- [34] Sripanitan R., 1983, Structural Characterization of the Four Component of Hemoglobin Constant Spring. M.S. Thesis, Mahidol University. Bangkok.
- [35] Tsuneshige A., Park S., Yonetani T., 2002, Heterotropic effectors control the hemoglobin function by interacting with its T and R states - a newview on the principle of allostery. *Biophys Chem* 98: 49-63.
- [36] Bonilla Rodriguez G.O., Poy C.D., 2004, The combined effect of phosphate binding to two sites and protons can lock the major hemoglobin from *Brycon cephalus* (matrinxã) in a T-state. *The Molecular Basis of Environmental Adaptation: Symposium Proceedings*. August 1-5; Manaus. American Fisheries Society; p 83-96.
- [37] Peres P., De Azevedo Junior W.F., Bonilla Rodriguez G.O., 2004, Allosteric water and phosphate effects in *Hoplosternum littorale* hemoglobins. *Eur J Biochem* 271: 4270-4274.
- [38] Jensen F.B., 2004, Red blood cell pH, the Bohr effect, and other oxygenation- linked phenomena in blood O₂ and CO₂ transport. *Acta Physiol Scand* 182: 215-227.
- [39] Tavares Dias M., 2006, Cytochemical method for staining fish basophils. *J. Fish Biol.*, 69, 312-317.

- [40] Val A.L., Almeida Val V.M.F., 2000, Fishes of the Amazon and the environment. Manaus: Springer.
- [41] Tociłowski M.E., Lewbart G.A., Stoskopf M.K., 1997, Hematologic study of red pacu (*Colossoma brachypomum*). Vet Clin Pathol 26: 119-125.
- [42] Junqueira L.C.V., Carneiro J., 1991, Biologia celular e molecular. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- [43] Glomski C.A., Tamburlin J., Chainani M., 1992, The phylogenetic odyssey of the erythrocyte. III. Fish, the lower vertebrate experience. Histol Histopathol 7: 501-528.
- [44] Landini G.F., Schwantes A.R., Schwantes M.L., 2002, *Astyanax scabripinnis* (Pisces: Characidae) hemoglobins: structure and function. Braz J Biol 62: 595-599.
- [45] Val A.L., 1996, Surviving low oxygen levels: Lessons from fishes of the Amazon. In: Val AL, Almeida-Val VMF, Randall DJ (Editors), Physiology and biochemistry of the fishes of the Amazon. Manaus: INPA; p 59-73.
- [46] De Oliveira C., Taboga S.R., Smarra A.L., Bonilla Rodriguez G.O., 2001, Microscopical aspects of accessory air breathing through a modified stomach in the armoured catfish *Liposarcus anisitsi* (Siluriformes, *Loricariidae*). Cytobios 105: 153-162.
- [47] Vale A.D., Afonso A., Silva M.T., 2002, The Professional Phagocytes of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.): Cytochemical Characterisation of Neutrophils and Macrophages in the Normal and Inflamed Peritoneal Cavity. Fish & Shellfish Immunology, 13: 183–198.
- [48] Val A.L., Almeida Val V.M.F., Afonso E.G., 1990, Adaptative features of Amazon fishes: hemoglobins, hematology, intraerythrocytic phosphates and whole blood Bohr effect of *Pterygoplichthys multiradiatus*. Comp Biochem Physiol B 97: 435-440.
- [49] Weber R.E., 1996, Hemoglobin adaptations in Amazonian and temperate fish with special reference to hypoxia, allosteric effectors and functional heterogeneity. In: Val AL, Almeida-Val VMF, Randall DJ (Editors), Physiology and Biochemistry of the fishes of the Amazon. Manaus: INPA; p 75-90.
- [50] Marcon J.L., Filho S.W., 1999, Antioxidant processes of the wild tambaqui, *Colossoma macropomum* (Osteichthyes, Serrasalminidae) from Amazon. Comp Biochem Physiol C; 123: 257-263.
- [51] Nilsson G.E., 2001, Surviving anoxia with the brain turned on. News Physiol Sci 16: 217-221.
- [52] Verde C., Carratore V., Riccio A., Tamburrini M., Parisi E., Di Prisco G., 2002, The functionally distinct hemoglobins of the Arctic spotted wolffish *Anarhichas minor*. J Biol Chem 277: 36312-36320.
- [53] Fago A., Bendixen E., Malte H., Weber R.E., 1997, The anodic hemoglobin of *Anguilla anguilla*. Molecular basis for allosteric effects in a Rooteffect hemoglobin. J Biol Chem 272: 15628-15635.
- [54] Pérez J., Rylander K., Nirchio M., 1995, The evolution of multiple haemoglobins in fishes. Rev Fish Biol Fish 5: 304-319.

Balık Hematolojisi ve Yeme Eklenen Bazı Tıbbi Bitkilerin Balıkların Kan Parametrelerine Etkisi

- [55] Kimura M., 1989, The neutral theory of molecular evolution and the World view of the neutralists. *Genome* 31: 24-31.
- [56] Dafré A.L., Reischl E., 1997, Asymmetric hemoglobins their thiol content and blood glutathione of the scalloped hammerhead shark, *Sphyrna lewini*. *Comp Biochem Physiol B* 116: 323-331.
- [57] Fago A., Forest E., Weber R., 2002, Hemoglobin and subunit multiplicity in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hemoglobin system. *Fish Physiol Biochem* 24: 335-342.
- [58] Gabbianelli R., Zolese G., Bertoli E., Falcioni G., 2004, Correlation between functional and structural changes of reduced and oxidized trout hemoglobins I and IV at different pHs. A circular dichroism study. *Eur J Biochem* 271: 1971-1979.
- [59] Cepreganova B., Wilson J.B., Webber B.B., Kjovkareska B., Efremov G.D., Huisman T.H., 1992, Heterogeneity of the hemoglobin of the Ohrid trout (*Salmo L. typicus*). *Biochem Genet* 30: 385-399.
- [60] Frey B.J., Weber R.E., Van Aardt W.J., Fago A., 1998, The haemoglobinsystem of the mudfish, *Labeo capensis*: adaptations to temperature and hypoxia. *Comp Biochem Physiol* 120: 735-742.
- [61] Demir N., 2006, İhtiyoloji, Nobel Yayın, Ankara, 252.
- [62] Foda A., 1973, Changes in haematocrit and haemoglobin in Atlantic salmon as a result frunculosis disease. *J. Fish. Res. Board. Can.*, 30 (3): 467-467.
- [63] Cruz M.C.D.L., Muroga K., 1989, The effects of *Vibrio anguillarum* extracellular products on Japanese eels. *Aquaculture*, 80: 201-210.
- [64] Shalaby A.M., Khattab Y.A., Abdel Rahman A.M., 2006, Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases* 12, 172-201.
- [65] Ahmadifar E., Falahatkar B., Akrami R., 2011, Effects of dietary thymol-carvacrol on growth performance, hematological parameters and tissue composition of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Appl. Ichthyol.* 27, 1057-1060.10.1111/j.1439- 0426.2011.01763.x
- [66] Nya E.J., Austin B., 2009, Use of dietary ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases* 32, 971-977.
- [67] Nya E.J., Austin B., 2011, Development of immunity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) to *Aeromonas hydrophila* after the dietary application of garlic. *Fish and Shellfish Immunology* 30, 845-850.
- [68] Mostafa A.A.Z.M., Ahmad M.H., Mousallamy A. et al., 2009, Effect of Using Dried Fenugreek Seeds as Natural Feed Additives on Growth Performance, Feed Utilization, Whole-body Composition and Entropathogenic *Aeromonas hydrophilachallinge* of Monsex Nile Tilapia *O. niloticus* (L) Fingerlings. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(2): 1234-1245.
- [69] Roberts R.J., 2001, *Fish Pathology* (3rd Ed.). WB Saunders, Toronto. 472 p.

- [70] Diker K.S., 2005, İmmunoloji (2. Baskı), Medisan, Ankara. 304 p.
- [71] Vallejo A.N., Ellis A.E., 1989, Ultrastructural study of the response of eosinophilic granule cells to *Aeromonas salmonicida* extracellular products and histamine liberators in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Developmental and Comparative Immunology*,13, 133-148.
- [72] Morgan J.D., Iwama G.K., 1997, Measurements of Stressed States in the Field. In:Iwama, G.K.; Pickering, A.D.; Sumpter, J.P.; Schreck C.B., Eds. *Fish Stress and Health in Aquaculture*. Cambridge University Press, Cambridge. 247-270.
- [73] Lee K., Dabrowski K., Rinchar J., et al, 2004, Supplementation of Maca (*Lepidium meyenii*) Tuber Meal in Diets Improves Growth Rate and Survival of Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) Alevins and Juveniles. *Aquaculture Research*, 35: 215-223.
- [74] Aly S., Fathi M., John G., 2008, Echinacea as Immunostimulatory Agent in Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*: via Earthen Pond Experiment. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture. Cairo, Egypt, 1033–1042.
- [75] Dias M.T., Oliveira S.R., 2009, A Review of the Blood Coagulation System of Fish. *R. bras. Bioci.*, 7(2): 205-224.
- [76] Hrubec T.C., Smith S.A., 2010, Hematology of Fishes. In: Weiss, D.J., Wardrop, K.J.,Eds. *Schalm's Veterinary Hematology*. Blackwell Publishing, 994-1003.