
THE INFLUENCE OF REARING TECHNOLOGY AND PHYSICO-CHEMICAL PARAMETRES OF WATER TO PLASMATIC IONS IN BLOOD OF RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Lang Š., Kopp R., Mareš J.

Department of Zoology, Fisheries, Hydrobiology and Apiculture, Faculty of Agronomic, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: stepanlang@gmail.com, fcela@seznam.cz, mares@mendelu.cz

ABSTRACT

Plasma ions in rainbow trout (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) from three various trout farms in the Czech Republic were assessed using automated blood plasma analyser. Non-haemolysed serum from the heart of 48 healthy, randomly selected fish (standard length, mean \pm SD = 247.3 \pm 24.2 mm; body mass, mean \pm SD = 262.18 \pm 87.28 g) was analysed for the following plasma ions: Ca, Mg, P, Fe, Na, K and Cl. All data were analysed statistically such as normality assessment by means of Kolmogorov–Smirnov test and adequate statistical testing using various parametric and non-parametric tests for each variable. With regard to data distribution, all 7 indices (Ca, Mg, P, Fe, Na, K and Cl) were normally distributed. The indices were affected by handling time and, accordingly to the physical and chemical properties of water. Estimates obtained were compared with previously reported ranges. The blood automated analyser proved to be a valuable and reliable instrument for the estimation of plasma i determining normal ranges in rainbow trout.

Key words: fish, biochemical variables, ions, aquaculture.

Acknowledgements: Financial support by the Internal Grant Agency of the Faculty of Agronomy, MENDELU (IP12/2010) and TP 5/2011 is greatly acknowledged.

ÚVOD

Stále se rozvíjející chov ryb v intenzivních akvakulturních zařízeních si vyžaduje věnovat zvýšenou pozornost kontrole zdraví ryb a jedním z možných způsobů vyšetření ryb jsou i klinická biochemická vyšetření rybí krve. Složení rybí krve může indikovat začínající kolaps některého z orgánů z důvodu použití špatného krmiva, nebo v kombinaci s fyzikálně-chemickými parametry odhalit problém způsobený nákazou či parazity. Pro zjištění tolika patologických ukazatelů, kolik je možné, je třeba doporučit využití více, než jednoho způsobu vyšetření (Řehulka a Minařík, 2008). Biochemické vyšetření krevní plasmy je jednou ze základních částí komplexních metod vyšetření ryb a zároveň hraje velkou roli při hodnocení krmných testů a testů využití specificky aktivních látek (Řehulka a Minařík, 2001). Biochemie krevní plasmy je slibnou součástí studia biologie ryb a klinické patologie, ale vyžaduje rozsáhlý budoucí výzkum obzvláště pro určení normálního rozpětí zkoumaných hodnot pro jednotlivé druhy ryb. Problémy se stanovením normálních hodnot u pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) byly zdůrazněny mnoha autory (Wedemeyer and Chatterton, 1970; McCarthy *et al.*, 1973; Wedemeyer and Nelson, 1975; Meade and Perrone, 1980; Hille, 1982; Roscoe Miller *et al.*, 1983). Navíc určení normálních hodnot pro pstruha ztěžují nevyhnutelné rozdíly například v metodice, velikostech a liniích ryb, ročním období a momentálním fyziologickém stavu ryb. Na základě tohoto je obvykle obtížné shromáždit dostatek vzorků krve během jediné studie (Manera a Britti, 2006). Zaměřením provedeného pokusu bylo zjistit závislost obsahu iontů v krevní plazmě pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*) chovaného v různých typech intenzivních akvakulturních zařízení na fyzikálně chemických parametrech vody v odchovném zařízení.

MATERIÁL A METODIKA

Pokusné ryby

Klinicky zdraví, dospělí pstruzi duhová (*Oncorhynchus mykiss*) byli odebráni ze tří rybích farem od 19. listopadu 2009 do 4. srpna 2010. Bylo odebráno celkem 5 vzorků a každý vzorek byl tvořen 10 rybami. Vzorky jsme odebírali na rybí farmě Pravíkov (recirkulační odchovný systém Dánského typu) v červenci (19.7.) a listopadu (19.11.), na rybí farmě Skalní mlýn (průtočný systém) v srpnu (4.8.) a březnu (11.3.) a na rybí farmě Litomyšl (průtočný systém) pouze v březnu (25.3.). Fyzikální a chemické parametry vody jsou zobrazeny v Tabulce 1. Nасыcení vody kyslíkem pH a teplota vody byly měřeny přenosnou sondou Hach HQ40D (Hach Lange, USA). Vodivost vody byla měřena přenosnou sondou HI 98129 (Hanna Instruments, USA). Ostatní parametry byly stanovovány standardními metodami (APHA, 1998). Ryby byly krmeny komerčními krmnými směsmi s obsahem proteinu 40 – 43%, tuku 23 – 28 %, bezdusíkatých látek výtažkových 12 – 20 %, popela 6 – 8,3 %, vlákniny 1 – 3,8 %, Ca 1,3 % a P 0,9 % od firmy Biomar (Dánsko).

U každé ryby ($n = 48$) byla individuálně měřena tato biometrická data a počítány následující koeficienty (Průměr \pm SD): TL (celková délka těla), SL (délka těla), W (hmotnost celková), WL (hmotnost vykuchané ryby), HSI (hepato-somatický index), F (Fultonův koeficient vyživenosti) (Fulton, 1904). Biometrická data jsou zobrazena v tabulce 2. Každá jednotlivá ryba byla před odběrem krve vyšetřena, abychom vyloučili ovlivnění výsledků patologickými změnami na rybách. K odběru krve byly použity pouze ryby bez patologických změn a parazitů.

Odběr vzorků a měření biochemických parametrů krve.

Vzorek krve byl odebírán okamžitě po odlovení ryby z odchovného zařízení. Nevhodné a hemolytické vzorky byly vyřazeny a nahrazeny novými. Krev byla odebírána kardiální punkcí do heparinovaných injekčních stříkaček. Pro stabilizaci krve byl použit heparin o koncentraci 50 m.j. na ml. Krev byla odstředěna při přetřžení 400 G po dobu 15 min. při teplotě 4 °C a plasmatický supernatant byl skladován při teplotě -80 °C až do provedení vlastní analýzy. Vlastní analýza krve byla provedena automatickým analyzátozem ADVIA 1650 (Siemens, USA) za použití komerčně dostupných reagentů. Analýza krevní plasmy ryb byla prováděna při teplotě 37 °C. Analýza vápníku (Ca) a hořčíku (Mg) byla provedena modifikovanou kolorimetrickou metodou s arzenazo III (Ichaylova and Ilkova, 1971; Skavrada, 1999). Fosfor (P) byl analyzován kolorimetricky reakcí s amonno-molybdenatým reagentem (Kratochvila and Garcic, 1977). Analýza železa (Fe) byla provedena fotometrickou metodou s ferenem (reagent feroninového typu) bez odstranění proteinů (Higgins, 1981). Hladina elektrolytů (Cl, K, Na) byla stanovena pomocí iontově selektivních elektrod (Eisenman, 1967).

Statistická analýza

Během statistického zpracování dat jsou obsahy vybraných iontů v krvi ryb vyjadřovány průměrnými hodnotami doplněnými o směrodatnou odchylku. Normální rozdělení parametrů krevní plasmy bylo analyzováno pomocí Kolmogorova-Smirnova testu na hladinu průkaznosti $p < 0,05$. Korelace obsahu iontů v krevní plasmě k fyzikálně chemickým parametrům vody jako teplota, nasycení kyslíkem, pH, atd. byla analyzována pomocí Spearmanova testu směru korelace. Hodnoty vycházející na hladině průkaznosti $p < 0,001$ byly pro tento případ považovány za statisticky průkazné. Veškeré analýzy byly vyhodnocovány statistickým programem Statistica 8.0 pro Windows (StatSoft).

Tabulka 1: Fyzikálně chemické parametry vody na rybních farmách při odběru ryb.

| | | | | | |
|---------------------------------------------------------------------------|--------|-------|-------|-------|------|
| Datum měření | 19.11. | 11.3. | 25.3. | 19.7. | 4.8. |
| Teplota [°C] | 2,6 | 3,3 | 8,0 | 20,4 | 11,3 |
| pH | 7,26 | 6,55 | 7,87 | 7,34 | 7,79 |
| Nasycení vody kyslíkem [%] | 97 | 101 | 89 | 79 | 87 |
| Vodivost [mS.m ⁻¹] | 18,6 | 18,6 | 60,6 | 16,3 | 42,6 |
| Celkový dusík [mg.l ⁻¹] | 4,3 | 10,0 | 11,6 | 2,0 | 5,6 |
| Celkový fosfor [mg.l ⁻¹] | 0,25 | 0,51 | 0,09 | 0,11 | 0,14 |
| Celkový organický uhlík (TOC) [mg.l ⁻¹] | 16,9 | 12,4 | 13,6 | 12,4 | 13,5 |
| Chemická spotřeba kyslíku (Cr) [mg.l ⁻¹] | 15,6 | 13,1 | 6,4 | 27,4 | 10,6 |
| Chemická spotřeba kyslíku (Mn) [mg.l ⁻¹] | 10,3 | 5,8 | 3,2 | 11,2 | 4,7 |
| Biologická spotřeba kyslíku (BSK ₅) [mg.l ⁻¹] | 0,49 | 2,36 | 1,47 | 5,39 | 2,28 |
| Kyselinná neutralizační kapacita (KNK) [mmol.l ⁻¹] | 0,46 | 0,21 | 3,97 | 0,67 | 2,91 |
| Amonné ionty (N-NH ₄ ⁺) [mg.l ⁻¹] | 0,11 | 0,35 | 0,08 | 0,16 | 0,09 |
| Dusitany (N-NO ₂ ⁻) [mg.l ⁻¹] | 0,01 | 0,04 | 0,01 | 0,36 | 0,00 |
| Dusičnany (N-NO ₃ ⁻) [mg.l ⁻¹] | 4,0 | 8,8 | 5,9 | 1,0 | 5,4 |
| Ortofosforečnany (P-PO ₄ ³⁻) [mg.l ⁻¹] | 0,19 | 0,38 | 0,05 | 0,00 | 0,10 |
| Chloridy (Cl ⁻) [mg.l ⁻¹] | 15,4 | 8,2 | 17,6 | 18,4 | 20,9 |
| Sírany (SO ₄ ²⁻) [mg.l ⁻¹] | 11 | 17 | 49 | 17 | 43 |
| Vápník (Ca ²⁺) [mg.l ⁻¹] | 6,7 | 14,8 | 121,0 | 12,5 | 73,1 |
| Hořčík (Mg ²⁺) [mg.l ⁻¹] | 4,1 | 5,2 | 6,9 | 6,6 | 7,3 |
| Celkové železo [mg.l ⁻¹] | 0,20 | 0,06 | 0,03 | 0,24 | 0,06 |
| Draslík (K ⁺) [mg.l ⁻¹] | 3,3 | 1,7 | 3,5 | 2,8 | 3,0 |
| Sodík (Na ⁺) [mg.l ⁻¹] | 4 | 12 | 21 | 15 | 18 |

Tabulka 2: Biometrické údaje odebraných ryb (N=50, průměr ± SD), Vysvětlení tabulky v textu.

| Parametry | TL [mm] | SL [mm] | W [g] | WL [g] | F | HSI |
|-----------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|
| 19.11. | 249,7 ± 13,1 | 227,1 ± 13,4 | 206,7 ± 32,0 | 2,64 ± 0,32 | 1,76 ± 0,15 | 1,52 ± 0,33 |
| 11.3. | 278,3 ± 12,2 | 249,2 ± 10,4 | 225,6 ± 34,7 | 2,61 ± 1,02 | 1,45 ± 0,12 | 1,31 ± 0,09 |
| 25.3. | 274,5 ± 12,9 | 244,8 ± 11,5 | 236,1 ± 24,3 | 2,75 ± 0,45 | 1,61 ± 0,15 | 1,35 ± 0,10 |
| 19.7. | 261,8 ± 17,7 | 230,3 ± 15,5 | 241,4 ± 57,1 | 2,95 ± 0,77 | 1,95 ± 0,19 | 1,44 ± 0,13 |
| 4.8. | 316,7 ± 20,4 | 285,5 ± 19,7 | 416,3 ± 80,4 | 4,27 ± 0,93 | 1,77 ± 0,12 | 1,45 ± 0,10 |

VÝSLEDKY

Obsahy iontů v krevní plasmě ryb jsou zobrazeny v tabulce 3. U většiny iontů, krom železa a fosforu, byla prokázána poměrně nízká variabilita mezi jednotlivými odběry i systémy. Kolmogorovův-Smirnovův test prokázal normální rozdělení u všech hodnot obsahu iontů v krevní plasmě. Hodnoty obsahu vápníku prokazatelně rostly se zvyšující se hmotností ryb na rozdíl od obsahu chloridů, jejichž hodnoty s rostoucí hmotností ryb klesaly. Nebyl prokázán vliv fyzikálně chemických parametrů na obsah sodíku (Na) v krevní plasmě ryb. Minimální vliv měly fyzikálně chemické parametry vody i na obsah fosforu. Železo a vápník vykazovaly nejvyšší hodnoty v červenci a srpnu a nejnižší v březnu a listopadu. Vyšší pH způsobilo nárůst obsahu vápníku a pokles obsahu chloridů v krvi. Naopak vyšší nasycení vody kyslíkem způsobilo nárůst obsahu chloridů a pokles obsahu vápníku a železa.

Chemické parametry vody měly nejvyšší vliv na obsah hořčíku v krevní plasmě pstruha duhového. Zvýšený obsah organického zatížení a železa ve vodě způsobil prokazatelný nárůst obsahu hořčíku v krevní plasmě pstruhů. Naproti tomu vyšší kyselinová neutralizační kapacita (KNK), vodivost a vyšší hodnoty celkového dusíku, síranů, sodíku, hořčíku a vápníku ve vodě obsah hořčíku v krevní plasmě snížily. Vyšší obsah hořčíku, chloridů, síranů, sodíku a vyšší teplota vody snížily obsah vápníku v krevní plasmě pstruhů. Vyšší obsah fosforu a kyslíku ve vodě zvýšily obsah chloridů v krevní plasmě. Vyšší hodnota pH, obsah síranů, dusíku, chloridů a hořčíku chloridy snížily.

Tabulka 3: Hodnoty obsahu vybraných iontů v krevní plazmě pstruhů duhových (*Oncorhynchus mykiss*) z jednotlivých odběrů (průměr ± SD). Hodnoty jsou vysvětleny v textu.

| Ukazatel | 19.11. | 11.3. | 25.3. | 19.7. | 4.8. |
|----------------------------|------------------|------------------|---------------|---------------|---------------|
| P [mmol.l ⁻¹] | 4,07 ± 0,61 | 2,77 ± 0,34 | 3,33 ± 0,42 | 3,17 ± 0,39 | 3,27 ± 0,37 |
| Ca [mmol.l ⁻¹] | 2,13 ± 0,39 | 2,50 ± 0,19 | 2,61 ± 0,15 | 3,06 ± 0,18 | 3,14 ± 0,36 |
| Mg [mmol.l ⁻¹] | 1,41 ± 0,17 | 0,93 ± 0,05 | 0,75 ± 0,18 | 1,22 ± 0,09 | 0,97 ± 0,07 |
| Fe [μmol.l ⁻¹] | 13,28 ± 5,59 | 10,09 ± 2,27 | 20,76 ± 7,52 | 25,15 ± 4,88 | 21,85 ± 4,03 |
| Na [mmol.l ⁻¹] | 170,94 ± 4,28 | 172,97 ± 3,27 | 169,91 ± 3,87 | 172,24 ± 2,85 | 169,31 ± 3,28 |
| K [mmol.l ⁻¹] | 2,07 ± 0,90 | 0,84 ± 0,19 | 1,74 ± 0,44 | 1,00 ± 0,20 | 1,90 ± 0,69 |
| Cl [mmol.l ⁻¹] | 139,97 ± 4,88 | 140,94 ± 6,42 | 135,33 ± 3,03 | 134,88 ± 1,42 | 130,04 ± 3,30 |

DISKUSE

Pokud vezmeme v potaz starší metody hodnocení a nesoulad použitých jednotek v mnoha případech určování obsahu iontů v krevní plasmě ryb, můžeme naše výsledky jen částečně porovnat s výsledky ostatních autorů. Naše výsledky jsou porovnatelné pouze s pracemi, ve kterých byl pro analýzu krevní plasmy použit automatický analyzátor. Kompletní výzkum o normálních hodnotách biochemie krevní plasmy pstruha duhového předložili Manera a Britti (2006). Vyhodnotili, že 7 z 19 jimi zkoumaných hodnot včetně chloridů vykazuje nenormální rozdělení a zároveň nezkoumali všechny ionty, které jsme zkoumali my. V jejich práci jsme zároveň objevili mnoho dalších nesrovnalostí. V rozporu s naší analýzou určili mnoho parametrů, včetně chloridů, jako nenormálně rozdělené.

Naše analýzy určily hodnoty vápníku a hořčíku na stejné úrovni, jaká je zmíněna v literatuře (Manera a Britti 2006; Meka a McCormick 2005; Řehulka a Minařík 2008; Řehulka a Minařík 2001; Řehulka a Párová 2000a, 2000b; Velíšek *et al.* 2008; Velíšek *et al.* 2009). Námi naměřené hodnoty fosforu, železa, sodíku, draslíku a chloridů se pohybovaly na úrovni horních a dolních hranic intervalů zmíněných v literatuře (Manera a Britti 2006; Řehulka a Párová 2000a, 2000b; Velíšek *et al.* 2008; Velíšek *et al.* 2009). Vezmeme-li v potaz námi naměřené hodnoty, můžeme konstatovat, že hodnoty obsahu iontů v krevní plasmě pstruha duhového jsou ovlivněny mnoha metodickými i individuálními faktory. Na základě zjištěných hodnot v porovnání s literaturou ale můžeme vyloučit působení patologických vlivů působících na ryby během našeho výzkumu. V literatuře není zmínka o normálních hodnotách obsahu několika námi analyzovaných iontů (Cl, Fe). Naše práce přinesla nové informace o normálních hodnotách obsahu iontů v krevní plasmě zdravých pstruhů duhových chovaných v podmínkách intenzivní akvakultury.

Změny biochemického složení krevní plasmy ryb je rovněž ovlivněno dalšími faktory jako stress, chemikálie (Manera and Britti 2006; Řehulka a Párová 2000a, 2000b; Velišek *et al.* 2008; Velišek *et al.* 2009) a pohlaví ryb (Řehulka a Minařík, 2008). Obsah vápníku a fosforu dosahoval nejvyšších hodnot v létě, kdy ryby přijímají nejvíce krmiva, což bylo potvrzeno i našimi výsledky. V literatuře není dostatek dat k porovnání vlivu fyzikálních a chemických vlivů na složení krevní plasmy pstruhů duhových. Obecně převažuje názor, že hlavním zdrojem elektrolytů pro udržení acido-bazické rovnováhy pstruha duhového je potrava.

Pstruzi žijící v hypoosmotickém prostředí kompenzují nedostatek elektrolytů jejich aktivním příjmem přes žaberní epitel a vylučováním velkého množství vody ledvinami. Důležitost příjmu iontů v potravě se zvyšuje s rostoucí hodnotou pH, kdy je příjem sodíku a chloridů žaberním epitelem omezen (D'Cruz and Wood, 1998).

ZÁVĚR

Naše výsledky potvrdily hypotézu, že fyzikálně chemické parametry vody mají značný vliv na obsah iontů v krevní plasmě ryb a zároveň naznačují, že tento vliv může být mnohem zřetelnější, než jsme si dříve mysleli. Hypotéza o vlivu použité technologie chovu (recirkulace vs. průtočný systém) nebyla potvrzena.

Vzhledem k dnešním znalostem zahrnujícím obsah iontů v krevní plasmě ryb a jejich kolísání ovlivněném řadou vnitřních a vnějších faktorů, musíme toto zohlednit při klinické interpretaci laboratorních výsledků. Aby bylo možné rozlišit fyziologické a patologické kolísání obsahu iontů v krevní plasmě ryb, budeme potřebovat ještě mnoho dalších informací, abychom určili individuální variabilitu těchto hodnot. Naše studie předpokládá, že složení krevní plasmy ryb bude patřit k cenným hodnotám laboratorního vyšetření, pokud budeme schopni určit a interpretovat vyčerpávající souhrn fyziologických odpovědí organismu. Poznání normálních hodnot obsahu iontů v krevní plasmě ryb a vlivu fyzikálně chemických parametrů vodního prostředí na tyto hodnoty by mohlo do budoucna napomoci k optimalizaci iontové rovnováhy rybího těla pomocí změny složení vody. To by mohlo pomoci zamezit nadměrným ztrátám ryb vlivem oslabení jejich organismu fyziologickou nevyrovnaností.

LITERATURA:

APHA, 1998: Standard methods for the examination of water and wastewater. *American Public Health Association Inc.*, Washington D.C.

D'Cruz, L. M., Wood, C. M., 1998: The influence of dietary salt and energy on the response to low pH in juvenile rainbow trout. *Physiol Zool* 71: 642–657.

Eisenman, G., 1967: Glass Electrodes for Hydrogen and Other Cations, Principles and Practice. New York, Marcel Dekker Inc., 594 pp.

Higgins, T., 1981: Novel chromogen for serum iron determinations. *Clin Chem.* 9: 1619–1620.

- Ichaylova, V., Ilkova, P., 1971: Photometric determination of micro amounts of calcium with arsenazo III. *Anal. Chim. Acta* 53: 194–198.
- Kratochvila, J., Garcic, A., 1977: Assignment of organic phosphorus in biological matter. *Biochem. Clin. Bohemoslov.* 6: 65–77 (Czech).
- Manera m., Britti, D. 2006: Assessment of blood chemistry normal ranges in rainbow trout. *Journal of Fish Biology* 69: 1427–1434.
- McCarthy, D. H., Stevenson, J. P., Roberts, M. S., 1973: Some blood parameters of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) I. the kamloops variety. *Journal of Fish Biology* 5: 1–8.
- Meade, T. L., Perrone, S. J., 1980: Selective haematological parameters in steelhead trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *Journal of Fish Biology* 17: 9–12.
- Meka, J. M., McCormick, D. S., 2005: Physiological response of wild rainbow trout to angling: Impact of angling duration, fish size, body condition, and temperature. *Fisheries Research* 72, 2–3: 311–322.
- Roscoe, Miller W. R. III., Hendricks, A. C., Cairns, J. J. R., 1983: Normal ranges for diagnostically important haematological and blood chemistry characteristics of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 40: 420–425.
- Hille, S., 1982: A literature review of the blood chemistry of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Rich. *Journal of Fish Biology* 20, 535–569.
- Řehulka J., Minařík B., 2008: Total calcium and inorganic phosphate in blood plasma in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Research*, 39: 1161–1168.
- Řehulka, J., Minařík, B., 2001: Effect of some physical and chemical characteristics of water on the blood indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed an astaxanthin-containing diet. *Czech. J. Anim. Sci.*, 46: 413–420.
- Řehulka, J., Párová, J., 2000a: Influence of three types of oil in diet upon some blood and condition indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Czech J. Anim. Sci.*, 45: 127–132.
- Řehulka, J., Párová, J., 2000b: Effect of diets with different lipid and protein contents on some blood and condition indices of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Czech J. Anim. Sci.*, 45: 263–269.
- Skavrada, J., 1999: Diagnostic agent for magnesium determination. Utility model CZ 8152 U1 (Czech).
- Velisek, J., Svobodova, Z., Piackova, V., 2009: Effects of acute exposure to bifenthrin on some haematological, biochemical and histopathological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) *Veterinarni Medicina* 54: 131–137.
- Velisek, J., Svobodova, Z., Piackova, V., Novotny, L., Blahova, J., Sudova, E., Maly, V., 2008: Effects of metribuzin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Veterinarni Medicina* 53: 324–332.

MENDELNET 2011

Wedemeyer, G., Chatterton, K., 1970: Some blood chemistry values for the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 27: 1162–1164.

Wedemeyer, G.A., Nelson, N. C., 1975: Statistical methods for estimating normal blood chemistry ranges and variance in rainbow trout (*Salmo gairdneri*), Shasta strain. *Journal of Fisheries Research Board of Canada* 32: 551–554.