

GAMBARAN DARAH IKAN PAWEH (*Osteochilus hasselti* C.V.) DARI DANAU LUBUK SIAM, KECAMATAN SIAK HULU KABUPATEN KAMPAR

Titrawani*, Windarti, Vera Angraini

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau

*Corresponding author: titrawani@yahoo.com.au

Abstract

The study on the haematological condition of *Osteochilus hasselti* C.V. has been conducted on January to February 2011 and aims to understand the blood parameter values of *O. hasselti* living in the healthy area. Fish samples were obtained from the Lubuk Siam dam that has good water quality. There were 30 fishes (15 males and 15 females), ranged from 9.5 to 14.5 cm SL. The blood was taken from the caudal vena using 1 ml syringe wet with 10% EDTA. Haematological parameters measured were haematocrit and leucocrit levels (Anderson and Siwicki, 1994), total erythrocyte and leukocyte (Schaperclaus, 1992). Results shown that the haematocrit and leucocrit level were 17–33.33 % and 1.72 - 3.12 % respectively. Total erythrocyte was 98,000 - 3,330,000 cells/mm³, total leukocytewas 125,000 - 333,000 cells/mm³.

Keywords : *Osteochilus hasselti* C.V., blood parameter, fish haematology, Lubuk Siam

PENDAHULUAN

Ikan paweh (*Osteochilus hasselti*) tergolong famili *Cyprinidae* yang sering tertangkap nelayan di Danau Lubuk Siam (Fatma, 2007). Ikan paweh merupakan jenis ikan air tawar yang potensial untuk dikembangkan karena memiliki kandungan protein dan kalsium yang cukup tinggi (Abdullah dalam Syafriadi, 2007).

Informasi tentang kondisi darah ikan yang hidup di perairan tropis terutama ikan yang hidup liar sangat terbatas. Informasi mengenai kondisi darah ikan lebih banyak pada ikan yang hidup di perairan subtropis, misalnya kondisi darah ikan *Cyprinus carpio* yang memiliki total eritrosit sebesar 1.430.000 sel/mm³ dan haematokrit sebesar 27,1 % (Moyle & Cech, 2004). Penelitian mengenai kondisi darah ikan yang hidup di perairan tropis pada umumnya dan di Riau pada khususnya hanya terpusat pada ikan-ikan budidaya seperti kondisi darah ikan baung, lele dumbo, mas, bawal, gurami dan nila (Lukistyowati *et al.*, 2007). Sedikitnya informasi mengenai kondisi darah ikan yang hidup liar di perairan tropis perlu untuk

diteliti, karena ikan paweh merupakan ikan tropis yang hidup di perairan umum dan sering tertangkap di Danau Lubuk Siam. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai gambaran darah ikan paweh sehat dari Danau Lubuk Siam.

Nilai normal gambaran darah ikan diperlukan untuk menentukan status kesehatan ikan. Status kesehatan ikan sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan perairan. Setiap jenis ikan memiliki kondisi haematologi yang spesifik dan nilai dari setiap parameter haematologi pada ikan bervariasi tergantung dari jenis, umur serta jenis kelamin ikan tersebut. Danau Lubuk Siam memiliki kondisi perairan yang mendukung untuk kehidupan organisme perairan seperti ikan paweh. Hal ini dapat dilihat dari parameter fisik kimia air di Danau Lubuk Siam seperti suhu yang berkisar antara 26,8-29,1°C, pH 6,14-6,53 dan oksigen terlarut 6,16-6,63 mg/l (Indra, 2011). Data mengenai gambaran darah ikan paweh sehat yang hidup liar di Riau belum pernah ada. Karena belum ada informasi mengenai gambaran darah ikan paweh sehat yang hidup

liar di Riau, maka perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan informasi tersebut.

MATERIAL DAN METODE

Metode yang digunakan untuk melihat kondisi darah ikan paweh adalah metode survei. Lokasi pengambilan sampel yaitu Desa Lubuk Siam Kecamatan Siak Hulu Kabupaten Kampar. Pengambilan sampel darah ikan langsung dilakukan di lapangan. Adapun prosedurnya adalah pertama ikan dibius dengan minyak cengkeh dengan dosis 5 tetes/liter air selama 5 menit. Darah ikan diambil melalui vena caudalis menggunakan jarum suntik yang telah dibasahi dengan EDTA 10%, kemudian darah ikan dimasukkan ke dalam tabung ependorff yang telah dibasahi EDTA 10%. Data kuantitatif yang meliputi persen-tase haematokrit, persentase leukokrit, jumlah eritrosit, jumlah leukosit yang kemudian dianalisis menggunakan uji-t dan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh data mengenai nilai haematokrit (%), leukokrit (%), total eritrosit ($\times 10^4$ sel/mm³) dan total leukosit ($\times 10^3$ sel/mm³) dari masing-masing ikan baik yang jantan maupun betina pada setiap kelas ukuran (Tabel 1).

Berdasarkan Tabel 1 dan Gambar 2,3,5 dan 6 dapat dilihat bahwa kadar haematokrit, leukokrit, total leukosit dan total eritrosit ikan paweh jantan dan betina pada setiap kelas mempunyai ukuran tidak berbeda nyata. Hal ini ditunjukkan dengan hasil t-test, semua nilai t-stat lebih kecil dari t-tabel (2,042). Hasil penelitian ini berbeda dengan yang dilaporkan Orun & Erdemli (2002 dan 2003) yang menyatakan bahwa terjadi perubahan jumlah parameter darah seiring dengan penambahan ukuran panjang pada ikan *Capoeta trutta* dan *C. umbla*. Perbedaan hasil penelitian ini dengan hasil penelitian Orun dan Erdemli (2002 dan 2003) tersebut mungkin disebabkan karena ikan-ikan sampel yang diambil pada penelitian ini semuanya sudah memasuki masa dewasa. Hal ini ditunjukkan dengan adanya gonad yang

berkembang pada semua ikan sampel yang diambil. Diperkirakan status reproduksi ikan-ikan tersebut sama, sehingga kondisi darah ikan juga sama.

Sopinska (1983) melaporkan bahwa ikan mas yang termasuk dalam tingkatan reproduksi yang sama mempunyai kondisi darah yang relatif sama dan nilai parameter hematologi ikan dipengaruhi oleh jenis ikan, umur dan perioda reproduksi/tingkat kematangan gonad. Pada ikan jantan dari kelas ukuran V, nilai parameter darahnya berbeda dengan ikan-ikan lain. Pada ikan ini nilai hematokrit dan total eritrosit lebih rendah sedangkan nilai leukokrit dan total leukosit lebih tinggi daripada ikan lain. Nilai haematokrit yang rendah dapat dijadikan petunjuk mengenai rendahnya defisiensi vitamin atau ikan terkena infeksi (Wedemeyer & Yasutake, 1977). Jika dilihat dari kadar leukokrit dan total leukosit yang lebih tinggi dari ikan lainnya mencapai 3,57% dan total leukosit 333.500 sel/mm³ diduga ikan terkena infeksi penyakit.

Menurut Anderson & Siwicki (1994) yang menyatakan bahwa kadar leukokrit dan total leukosit tinggi menunjukkan kemungkinan tahap awal infeksi. Menurut Moyle & Cech (2004) leukosit membantu membersihkan tubuh dari benda asing termasuk infasi patogen lewat sistem tanggap kebal. Ikan sakit akan menghasilkan lebih banyak sel darah putih untuk menghasilkan antibodi. Infeksi dapat terjadi akibat kondisi stress atau perubahan kondisi lingkungan/temperatur (Dooley *et al.*, 1985). Dengan demikian data ikan paweh jantan dari kelas ukuran V tidak diikutkan dalam perhitungan parameter haematologi ikan paweh sehat dari Danau Lubuk Siam.

Haematokrit

Haematokrit adalah perbandingan antara volume sel darah merah dengan volume total darah (Schaperclause, 1992). Pada penelitian ini, kadar haematokrit ikan paweh jantan dan betina berdasarkan kelas ukuran tidak berbeda nyatayaitu berkisar antara 17-33,33% (Gambar 1). Rata-rata kadar hematokrit ikan paweh jantan dan betina (Gambar 3). Hasil penelitian ini berbeda dengan yang dilaporkan Orun dan Erdemli (2002 dan 2003) yang

menyatakan bahwa terjadi peningkatan kadar haematokrit seiring dengan pertambahan ukuran panjang pada ikan *Capoeta trutta* dari 18% (SL=15-19 cm) menjadi 20% (SL=20-24 cm) dan pada *C. umbla* dari 18,3% (SL=7-12 cm) menjadi 22,54% (SL=13-17 cm).

Perbedaan hasil penelitian ini dengan hasil penelitian di atas mungkin disebabkan kisaran ukuran ikan paweh yang diambil tidak begitu bervariasi (berkisar antara 9,5-14,5 cm), sehingga diperkirakan status reproduksi ikan-ikan tersebut sama dan kondisi darah ikan juga sama. Selain itu perbedaan ini juga disebabkan oleh suhu atau musim, dimana kadar haematokrit menurun pada semua kelompok umur selama musim dingin (suhu berkisar 3-5°C). Hal ini dikarenakan penurunan proses metabolisme termasuk aktivitas hemopoietik (pembentukan sel darah) sedangkan ikan-ikan yang didapat dalam penelitian ini diambil pada satu periode/musim sehingga fluktuasi suhu lingkungan tidak jauh berbeda dan aktivitas pembentukan sel darah relatif sama sepanjang tahun. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa kadar hematokrit relatif sama.

Ikan paweh jantan dari kelas ukuran III memiliki kadar haematokrit dan total eritrosit yang lebih tinggi dari kelas yang lainnya (Gambar 1). Diduga bahwa ikan mengalami stress, hal ini mungkin disebabkan karena ikan terlalu lama dipegang dan dipingsankan menjelang pengambilan darah. Menurut Wedemeyer (1996), pada kondisi stress darah ikan yang ada di dalam ginjal akan terpompa keluar/ke pembuluh darah sehingga konsentrasi sel darah merah yang ada di dalam darah meningkat dan kadar haematokrit juga meningkat. Kadar haematokrit tidak hanya dipengaruhi oleh jenis kelamin tetapi juga dipengaruhi oleh umur, waktu pemeriksaan, temperatur air, metode pengambilan sampel dan lama anestesi (Ferguson, 1988 dalam Mones, 2008).

Menurut Anderson dan Siwicki (1994) nilai haematokrit ikan teleostei berkisar antara 20-30%. Kadar haematokrit ikan paweh pada penelitian ini tidak berbeda jauh dengan kadar haematokrit ikan mas (*Cyprinus carpio*) budidaya di Pekanbaru yang dilaporkan

Lukistyowati *et al.* (2007) yang berkisar antara 25,22-40,52%. Berdasarkan hasil penelitian Wandi (2009) pada ikan kelemak yang menunjukkan bahwa kadar haematokrit berkisar antara 26,37-27,66%.

Penurunan nilai haematokrit dapat dijadikan petunjuk mengenai rendahnya kandungan protein, defisiensi vitamin atau ikan terkena infeksi. Bila dibandingkan dengan hasil-hasil penelitian di atas, dapat dikatakan bahwa kadar haematokrit ikan paweh dalam penelitian ini berada dalam kisaran normal.

Leukokrit

Leukokrit merupakan persentase volume leukosit di dalam volume darah (Morgan dan Iwama, 1997). Pada penelitian ini, kadar leukokrit ikan paweh jantan dan betina setiap kelas ukuran tidak berbeda nyata yaitu berkisar antara 1,72-3,12% (Gambar 2). Rata-rata kadar leukokrit ikan paweh dapat dilihat pada Gambar 3.

Kadar leukokrit ikan paweh dalam penelitian ini berbeda dengan yang dinyatakan Anderson dan Siwicki (1990), kadar leukokrit pada ikan *rainbow trout* sebesar 1-2%, tetapi kadar leukokrit ikan paweh pada penelitian ini tidak jauh berbeda dengan kadar leukokrit ikan mas yang dilaporkan Lukistyowati *et al.* (2007) berkisar antara 1,91%-2,4%. Perbedaan hasil penelitian ini mungkin disebabkan karena perbedaan area dan jenis ikan. Pada daerah subtropis suhu udara relatif dingin sehingga mikroorganisme patogen lebih sedikit dibandingkan dengan daerah tropis yang memiliki suhu relatif tinggi.

Suhu air yang relatif tinggi ini memungkinkan mikroorganisme patogen untuk berkembang dan mempunyai kesempatan besar untuk menyerang ikan. Oleh karena itu ikan mempertahankan dirinya dengan cara membentuk sel darah putih yang relatif banyak dari pada ikan-ikan di daerah sub-tropis. Jadi tingginya kadar leukokrit merupakan bentuk adaptasi dari ikan-ikan yang hidup di daerah panas seperti Pekanbaru (Lukistyowati *et al.*, 2007).

Total Eritrosit

Pada penelitian ini, total eritrosit ikan paweh jantan dan betina setiap kelas ukuran

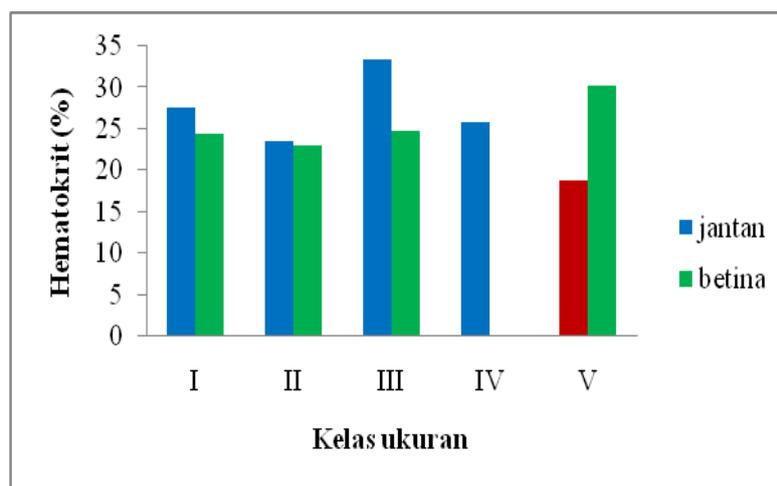
tidak berbeda nyata yaitu berkisar antara 980.000-3.330.000 sel/mm³ (Gambar 4). Rata-rata total eritrosit ikan paweh jantan dan betina dapat dilihat pada Gambar 6. Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian

Orun dan Erdemli (2002 dan 2003) yang menyatakan bahwa seiring pertambahan ukuran ikan *Capoeta capoeta umbla* dan *C. trutta* maka terjadi penambahan total eritrosit.

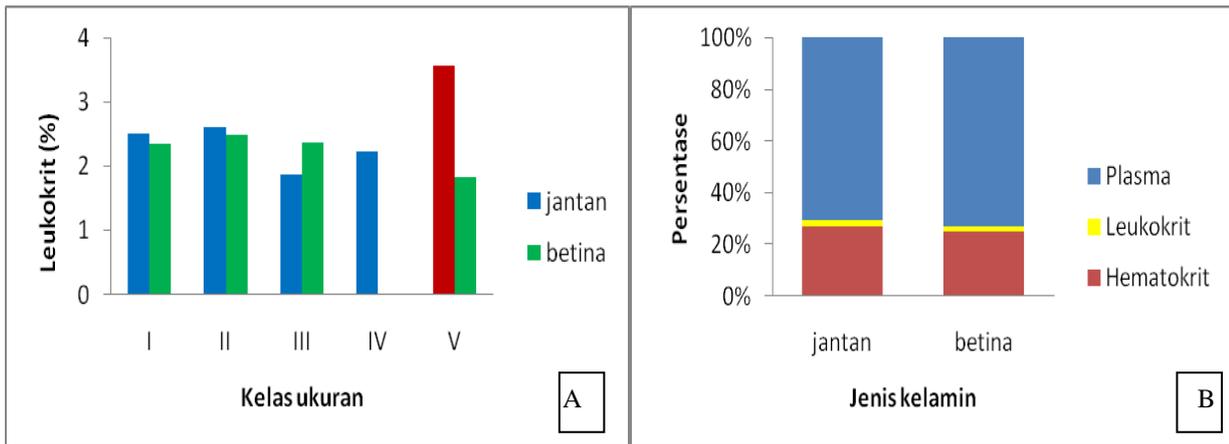
Tabel 1. Kadar haematokrit, leukokrit, total eritrosit dan total leukosit ikan paweh berdasarkan jenis kelamin dan kelas ukuran

Kelas ukuran	Panjang baku (cm)	Jenis kelamin	Haematokrit (%)	Leukokrit (%)	Total Eritrosit (x 10 ⁴)	Total Leukosit (x 10 ³)
I	9,5-10,5	Jantan	27,52	2,52	219,11	220,50
		Betina	24,31	2,35	191,50	208,17
II	10,6-11,6	Jantan	23,58	2,60	150,00	193,25
		Betina	22,98	2,49	158,00	249,00
III	11,7-12,7	Jantan	33,33	1,88	323,00	127,50
		Betina	24,80	2,37	190,00	203,00
IV	12,8-13,8	Jantan	25,83	2,22	227,50	254,50
		Betina	-	-	-	-
V	13,9-14,9	*Jantan	18,75	3,57	123,00	333,50
		Betina	30,20	1,84	296,00	142,50
Rata-rata		Jantan	27,13	2,44	217,86	214,82
		Betina	24,84	2,32	196,20	209,27
<i>t-stat</i>			1,47	0,89	0,80	0,26
<i>Signifikansi</i>			NS	NS	NS	NS

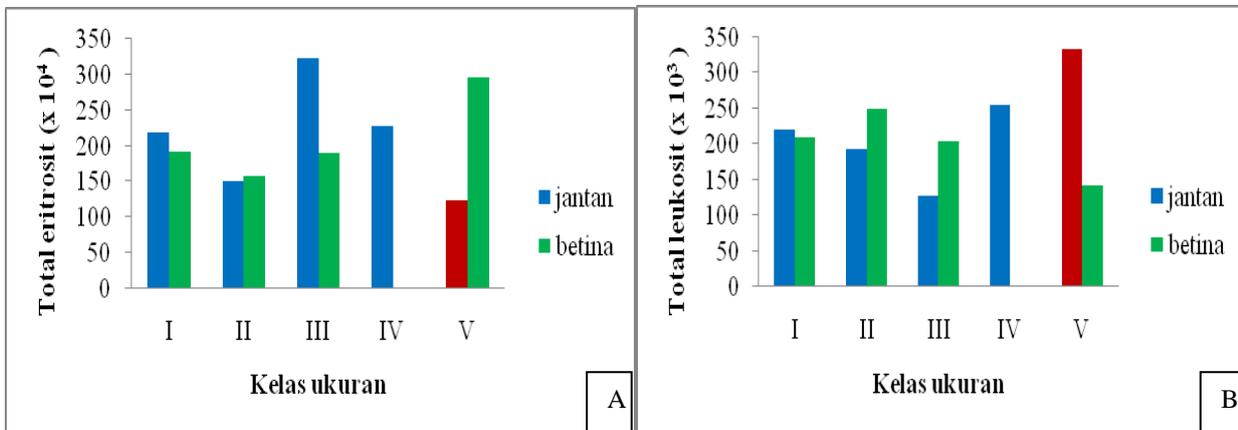
Ket: * menunjukkan ikan diduga terinfeksi



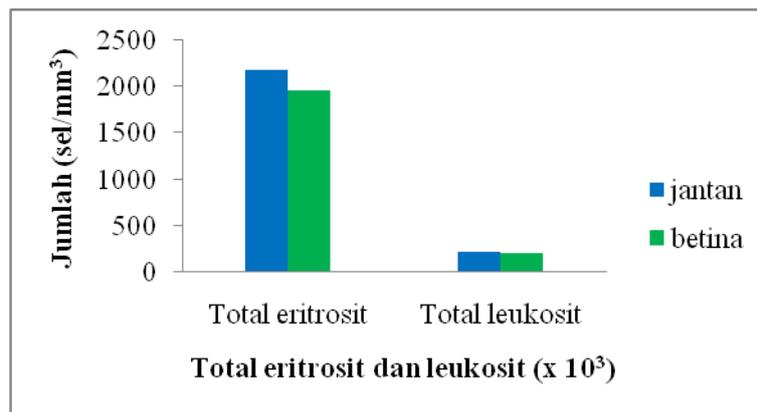
Gambar 1. Kadar haematokrit ikan paweh jantan dan betina berdasarkan kelas ukuran (Diagram berwarna merah menunjukkan kadar haematokrit dan parameter haematologi lainnya pada ikan jantan dari kelas ukuran V yang diduga mengalami infeksi)



Gambar 2. Kadar leukokrit (A) dan persentase plasma, leukokrit serta hematokrit ikan paweh jantan dan betina (B)



Gambar 3. Total eritrosit (A) dan leukosit (B) ikan paweh jantan dan betina



Gambar 4. Total eritrosit dan leukosit ikan paweh jantan dan betina

Hal ini mungkin disebabkan karena kisaran ukuran ikan paweh yang diambil tidak begitu bervariasi (berkisar antara 9,5-14,5 cm), sehingga diperkirakan status reproduksi

ikan-ikan tersebut juga sama dan kondisi darah ikan juga sama.

Selain itu perbedaan hasil penelitian ini dengan hasil penelitian Orun & Erdemli (2002 dan 2003) sama halnya dengan kadar

hematokrit, yaitu disebabkan oleh perbedaan musim. Sopinska (1983) menyatakan bahwa jumlah eritrosit pada ikan meningkat selama musim panas dan hal ini dipengaruhi oleh suhu air.

Hasil penelitian ini berbeda dengan yang dilaporkan oleh Bond (1979) yang menyatakan bahwa jumlah eritrosit ikan normal berkisar antara 2-3 juta sel/mm³. Total eritrosit ikan paweh juga tidak jauh berbeda dengan yang dilaporkan Lukistyowati *et al.* (2007) yang menyatakan bahwa jumlah eritrosit ikan mas budidaya di Pekanbaru berkisar antara 78-227 (x 10⁴ sel/mm³).

Jumlah eritrosit ikan paweh pada penelitian ini tidak menunjukkan bahwa ikan tersebut mengalami stress. Menurut laporan Mones (2008) pada ikan mas strain Majalaya yang mengalami stress, jumlah total eritrosit dapat mencapai 3.720.000 sel/mm³, sedangkan Vonti (2008) menyatakan bahwa total eritrosit ikan mas strain Sinyonya yang mengalami stress juga tinggi, mencapai 4.470.000 sel/mm³. Menurut Affandi dan Tang (2002) stress bisa disebabkan oleh kondisi lingkungan yang buruk dan tidak nyaman lagi bagi kehidupan ikan. Dari uraian di atas dapat dikatakan bahwa total eritrosit ikan paweh berada dalam kondisi normal.

Total Leukosit

Pada penelitian ini, total leukosit ikan paweh jantan dan betina setiap kelas ukuran tidak berbeda nyata yaitu berkisar antara 125.000-330.000 sel/mm³ (Gambar 5). Rata-rata total leukosit ikan paweh jantan dan betina dapat dilihat pada Gambar 6. Hasil penelitian ini sama halnya dengan hasil penelitian Bastami (2009) pada ikan mas (*C. carpio*) liar yang menyatakan bahwa pada kisaran ukuran yang tidak bervariasi (jantan=46 dan betina=47) maka total leukosit ikan mas jantan dengan betina tidak berbeda nyata.

Total leukosit ikan paweh pada penelitian ini berbeda dengan pendapat Lagler *et al.*, (1977) yang menyatakan rata-rata jumlah leukosit ikan normal berkisar antara 20.000-150.000 sel/mm³. Hal ini disebabkan oleh pengaruh suhu, suhu di daerah tropis lebih tinggi dibandingkan daerah subtropis.

Tetapi total leukosit pada ikan paweh tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Lukistyowati *et al.*, (2007) yang melaporkan bahwa jumlah leukosit ikan mas yang dibudidaya di Pekanbaru berkisar antara 108.000-341.417 sel/mm³. Tingginya total leukosit ikan-ikan yang berada di Pekanbaru merupakan bentuk adaptasi ikan terhadap lingkungan dengan suhu relatif tinggi yang memungkinkan mikroorganisme patogen berkembang biak.

KESIMPULAN

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa nilai parameter darah pada ikan jantan dan betina pada setiap kelas ukuran (9,5-14,9 cm) tidak berbeda nyata, yaitu haematokrit (17-33,33%), leukokrit (1,72-3,12%), total eritrosit (980.000-3.330.000 sel/mm³) dan total leukosit (125.000-330.000 sel/mm³).

DAFTAR PUSTAKA

- Affandi, R. & Tang, U. M. (2002). *Fisiologi Hewan Air*. Riau: Unri Press.
- Anderson, D. P. & Siwicki, A. K. (1994). *Simplified Assays for Measuring Nonspecific Defense Mechanisms in Fish*. Hal. 26. Dalam Fish Health Section/American Fisheries Society Meetings. Washington.
- Bastami, K. D., Moradlou, H. A., Zaragabadi, M. A., Salehi Mir, S. V., & Shakiba, M. M. (2009). Measurement of some Haematological Characteristics of the Wild Carp. Iran: Fisheries Faculty, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
- Bond, C. E. (1979). *Biology of fishes*. Philadelphia: Saunders College Publishing.
- Fatma, Y. (2007). Jenis-Jenis Ikan yang terdapat pada Danau Lubuk Siam dan Danau Putus di Desa Lubuk Siam. Skripsi. Pekanbaru: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau.
- Imagawa, T., Hashimoto, Y., Kitagawa, H., Kon, Y. Kudo, N., & Sugimura, M. (1989). Morphology of Blood Cells in Carp (*Cyprinus carpio* L.). Japan:

- Department of Veterinary Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Hokkaido University.
- Indra, E. D. (2011). Pembesaran Benih Ikan Motan (*Thynnichthys thynnoides* Blk) dalam Keramba yang Ditempatkan di Perairan Sungai Kampar dengan Padat Tebar Berbeda. Skripsi. Pekanbaru: Fakultas Per-ikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau.
- Lagler, K. F., Bardach, J. E., Miller, R. R., & Dassino, D. R. (1977). *Ichthyologi*. New York: John Wiley and Sons Inc.
- Lukistyowati, I., Windarti, & Riau waty, M. (2007). Analisis Hematologi sebagai Penentu Status Kesehatan Ikan Air Tawar di Pekanbaru. Pekanbaru: Laporan Hasil Penelitian. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau.
- Mones, R. & Adelbert. (2008). Gambaran Darah Ikan Mas (*Cyprinus carpio* Linn.) strain Majalaya Yang Berasal dari Daerah Ciampea-Bogor. Skripsi. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan IPB.
- Morgan, J. D. & Iwama, G. K. (1997). *Measurement of stressed states in the field* in Iwama, G.K., Pickering, A.D, Sumpter, J.P. and Schreck, C.B. (eds). *Fish stress and health in Aquaculture*. Cambridge University Press. Cambridge. 247-278 pp.
- Moyle, P. B. & Cech, J. J. (2004). *Fish an Introduction to Ichthyology Fifth Edition*. Prentice Hall: Upper Saddle River.
- Orun, I. & Erdemli, U. (2002). A study on Blood Parameters of *Capoeta trutta* (Heckel, 1843). Turkey: Department of Biology, Faculty of Arts and Science, Inonu University.
- Orun, I. & Erdemli, U. (2003). A study on Blood Parameters of *Capoeta-capoeta umbla* (Heckel, 1843) Captured From Karakaya Dam Lake. Turkey: Department of Biology, Faculty of Arts and Science, Inonu University.
- Orun, I., Dorucu M., & Yazlak, H. (2003). Haematological Parameters of Three Cyprinid Fish Species from Karakaya Dam Lake, Turkey. Turkey: Departement of Biology, Faculty of art and science, University Malatya.
- Schaperclaus, W. (1992). *Fish Diseases.Vol I*. Rotterdam: A.A. Balkema.
- Sopinska, A. (1983). Effect of Physiological Factors, Stress, and Diseases on Hematological Para-meters of Carp with Particular Reference to Leukocyte Pattern. I. Variability of Hematological Indices of Carp in Relation to Age and Gonad Maturity Stage. Vo.XIII Fasc. 2. Institute of Infectious and Invasive Diseases, Lublin: Department of Fish Diseases Academy of Agriculture.
- Syafpriadi. (2007). Aspek Biologi Reproduksi Ikan Paweh (*Osteochilus hasselti* C.V.) di Waduk PLTA Koto Panjang Kecamatan XIII Koto Kampar Kabupaten Kampar Provinsi Riau. Skripsi. Pekanbaru: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau.
- Vonti, O. (2008). Gambaran Darah Ikan Mas (*Cyprinus carpio* Linn) strain Sinyonya yang Berasal dari Daerah Ciampea-Bogor. Skripsi. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan IPB.
- Wedemeyer, G. A., Barton, N. & McLeay, D. J. (1990). *Stress and acclimation*. Hal. 450-477. In: Shareck, C.V. & Moyle B. P. B. (eds). *Methods for Fish Biology*. American Fisheries Society. U.S.A.: Bethesda.
- Wedemeyer, G. A. (1996). *Physiology of fish in intensive culture system*. New York: Chapman and Hall.
- Wedemeyer, G. A. & Yasutake, W. T. 1977. *Clinical method for the assessment of the effect of enviromental stress on fish health*. Technical Paper of the U.S. Fish and Wildlife Service. US Department of Interior. Fish and Wildlife Services. 89. 1-171.