

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ
ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Μορφολογία και αριθμός ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων στο
αίμα τιλάπιας»**

Σπηλιοπούλου Ειρήνη

ΒΟΛΟΣ 2020

**«Μορφολογία και αριθμός ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων στο αίμα
τιλάπιας»**

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

1. **Παναγιώτης Βερίλλης**, Αναπληρωτής Καθηγητής, Μικροσκοπία και Ανάλυση Εικόνας στην Ιστολογία και στους Υδρόβιους Οργανισμούς, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Επιβλέπων**.
2. **Έλενα Μεντέ**, Καθηγήτρια, Φυσιολογία Θρέψης Υδρόβιων Ζωϊκών Οργανισμών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**.
3. **Ελένη Γκολομάζου**, Επίκουρη Καθηγήτρια, Προστασία – Ευζωΐα Ιχθύων, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**.

*Σε όσους είναι δίπλα μου,
ακόμα και αν δεν τους βλέπω..*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους τους ανθρώπους που συνέβαλλαν στο να φέρω εις πέρα την παρούσα Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντα της εργασίας αυτής, τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Παναγιώτη Βερίλλη για την πολύτιμη βοήθεια του και τη διαρκή υποστήριξη του, τόσο κατά τη διεξαγωγή της ερευνητικής διαδικασίας όσο και κατά τη διεκπεραίωση της παρούσας εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα υπόλοιπα μέλη της εξεταστικής επιτροπής μου αποτελούμενη από την Καθηγήτρια κ. Μεντέ Έλενα και την Επίκουρη Καθηγήτρια κ. Γκολομάζου Ελένη για την καλή διάθεση και τον χρόνο που διέθεσαν καθώς και τον Δρ. Βλάχο Νικόλαο και την Ε.ΔΙ.Π. κ. Αποστολογάμβρου Χρυσούλα για την άμεση και πολύτιμη βοήθεια τους.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένεια και τους φίλους μου για την αμέριστη συμπαράσταση, βοήθεια και προπάντων κατανόηση και ανοχή καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μέτρηση και η μορφολογική μελέτη των ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων καθώς και ο υπολογισμός της μεταξύ τους αναλογίας στο είδος *Oreochromis niloticus*. Αρχικά, συλλέχθηκε δείγμα περιφερικού αίματος από τρεις ενήλικες αρσενικές τιλάπιες. Η αιμοληψία έγινε από την ουραία φλέβα ύστερα από την αναισθητοποίηση τους σε διάλυμα φαινοξυαιθανόλης. Τα επιχρίσματα αίματος που δημιουργήθηκαν στέγνωσαν στον αέρα και μονιμοποιήθηκαν σε 100% αλκοόλη. Ακολούθησε η χρώση κατά Giemsa και η παρατήρηση τους σε οπτικό μικροσκόπιο. Σε κάθε δείγμα, μετρήθηκαν στα ερυθρά αιμοσφαίρια ο μικρός και ο μεγάλος άξονας του πυρήνα και ολόκληρου του κυττάρου και υπολογίστηκαν η επιφάνεια, ο όγκος και η αναλογία των αξόνων του πυρήνα και του συνολικού ερυθροκυττάρου. Επίσης, υπολογίστηκαν η αναλογία όγκων πυρήνα – κυττάρου και η αναλογία επιφανειών πυρήνα – κυττάρου και έγινε διαφοροποίηση των λευκών αιμοσφαιρίων. Τέλος, υπολογίστηκε η αναλογία ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων στο αίμα του συγκεκριμένου είδους.

Λέξεις κλειδιά: τιλάπια, περιφερικό αίμα, λευκά αιμοσφαίρια, ερυθρά αιμοσφαίρια

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1.Γενικά χαρακτηριστικά και οικονομική σημασία του είδους.....	1
1.2.Αίμα και κύτταρα του αίματος.....	2
1.3.Σύγκριση αίματος οστεϊχθύων και υπόλοιπων σπονδυλωτών.....	3
1.4.Σκοπός διατριβής.....	5
2.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	7
3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	17
4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	26
5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	40
➤ ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Γενικά χαρακτηριστικά και οικονομική σημασία του είδους

Συστηματική κατάταξη της τιλάπιας του Νείλου (*Oreochromis niloticus*):

Φύλο: Chordata

Υπερκλάση: Osteichthyes

Κλάση: Actinopterygii

Τάξη: Perciformes

Οικογένεια: Cichlidae

Γένος: Oreochromis

Είδος: niloticus (Linnaeus, 1758)

Εικόνα 1: Η τιλάπια του Νείλου *O. niloticus* (Φωτογραφία: Germano Roberto Schüür)



Τα εξωτερικά μορφολογικά χαρακτηριστικά του είδους *O. niloticus* περιλαμβάνουν ένα συμπίεσμένο σώμα, καφέ ή γκρι χρώματος, με διακεκομμένη πλευρική γραμμή. Το ουραίο πτερύγιο είναι αποκοπτόμενο και φέρει πολυάριθμες μαύρες γραμμές.

Πρόκειται για ένα τροπικό παμφάγο είδος που προτιμά να ζει σε ρηχά γλυκά ή υφάλμυρα νερά και τρέφεται με φυτοπλαγκτόν, υδρόβια φυτά, μικρά ασπόνδυλα και βενθοπανίδα. Επίσης, μπορεί να τραφεί φιλτράροντας αιωρούμενα σωματίδια (FAO, 2006).

Συγκαταλέγεται στους πιο σημαντικούς ιχθύες από οικονομικής σκοπιάς λόγω της ανθεκτικότητας και της προσαρμοστικότητας σ' ένα ευρύ φάσμα συστημάτων εκτροφής και περιβαλλοντικών συνθηκών. Μπορεί να εκτραφεί εντατικά και οικονομικά δεδομένου ότι αναπτύσσεται γρήγορα με τεχνητές τροφές που περιέχουν χαμηλότερα επίπεδα πρωτεϊνών και υψηλότερα επίπεδα φυτικών πρωτεϊνών και υδατανθράκων, είναι σχετικά ανθεκτικό στην κακή ποιότητα των υδάτων, στις ασθένειες και σε μεγάλες διακυμάνσεις της θερμοκρασίας. Παράλληλα, μπορεί να ανεχθεί υψηλές ιχθυοπυκνότητες (MaueI et al., 2007). Είναι το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο είδος σε συστήματα ενυδρείοπονίας ενώ είναι δυνατή και η εκτροφή του σε συστήματα πολυκαλλιέργειας μαζί με διάφορα κυπρινοειδή.

Σύμφωνα με τον FAO (2018), η τιλάπια του Νείλου είναι το πιο εμπορικό εκτρεφόμενο είδος ιχθύος σε περισσότερες από εκατό (100) χώρες. Το μεγαλύτερο ποσοστό της παγκόσμιας παραγωγής καταγράφεται σε Κίνα, Ινδονησία και Αίγυπτο.

1.2. Αίμα και κύτταρα του αίματος

Αίμα είναι το παχύρρευστο υγρό ερυθρού χρώματος που κυκλοφορεί στο αγγειακό σύστημα των οργανισμών. Είναι ένας εξειδικευμένος τύπος συνδετικού ιστού ο

οποίος αποτελείται από έμμορφα κύτταρα που συγκρατούνται μέσα σε ένα υγρό μέσο, το πλάσμα (Rigos et al., 2010).

Οι λειτουργίες που επιτελεί σχετίζονται με τη μεταφορά θρεπτικών ουσιών, ορμονών, βιταμινών, θερμότητας και οξυγόνου στους ιστούς, την παροχή άμυνας και την παράλληλη απομάκρυνση διοξειδίου του άνθρακα και ουσιών που παράγονται κατά το μεταβολισμό.

Τα κύτταρα του περιφερικού αίματος εξυπηρετούν παρόμοιες λειτουργίες σε ιχθύες και θηλαστικά (Cambell, 1990). Πιο αναλυτικά για τους ιχθύες, τα ερυθρά αιμοσφαίρια (erythrocytes) αποτελούν την πλειονότητα των κυττάρων του αίματος, αν και ο αριθμός τους ποικίλλει ανάλογα με το είδος. Περιέχουν αιμοσφαιρίνη, ένζυμα και κάποια λιπίδια. Τα λευκά αιμοσφαίρια (leukocytes) παρέχουν άμυνα στον οργανισμό έναντι των λοιμώξεων και διακρίνονται σε κοκκιοκύτταρα (granulocytes) και σε μη κοκκιώδη (agranulocytes). Θρομβοκύτταρα (thrombocytes) είναι υπεύθυνα για την θρόμβωση του αίματος και την προστασία απώλειας υγρών από τους ιστούς κατά τους επιφανειακούς τραυματισμούς.

1.3. Σύγκριση αίματος οστεϊχθύνων και υπόλοιπων σπονδυλωτών

Αν και σε όλα τα σπονδυλωτά η σύνθεση του αίματος αντανακλά μεταβολικές και φυσιολογικές διεργασίες, εντοπίζονται διαφορές ανάμεσα στα είδη. Πιο συγκεκριμένα, το αίμα των ιχθύων αποτελεί το 1,3-7% του συνολικού σωματικού τους βάρους και πήζει πιο γρήγορα (Κουφός και Βορεινάκης, 1994). Όσον αφορά τα έμμορφα στοιχεία, στα θηλαστικά παράγονται και ωριμάζουν αρχικά στον μυελό των οστών και στη συνέχεια υπό φυσιολογικές συνθήκες απελευθερώνονται στο αίμα ανάλογα με τις ανάγκες (Rigos et al., 2010), ενώ στους ιχθύες ένα από τα κέντρα της αιμοποίησης είναι και ο πρόσθιος νεφρός. Ο σπλήνας παρουσιάζει μια ασθενή

ερυθροποιητική δραστηριότητα (Fange, 1994). Η κυτταρική σύνθεση του πρόσθιου νεφρού μοιάζει με εκείνη του μυελού των οστών στα θηλαστικά. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια προέρχονται από τους ερυθροβλάστες και έχουν παραπλήσιο μέγεθος και δομή σε όλα τα σπονδυλωτά. Τα ερυθροκύτταρα όλων των μη-θηλαστικών σπονδυλωτών (ιχθύες, αμφίβια, ερπετά, πουλιά) έχουν πυρήνα, είναι επίπεδα, ελλειψοειδή και ορισμένες φορές φέρουν μικροπυρηνίσκους (Najiah et al., 2008). Αντίθετα με τα ερυθροκύτταρα των θηλαστικών όπου κυριαρχεί ο αναερόβιος μεταβολισμός, στους ιχθύες ο κυτταρικός μεταβολισμός είναι κυρίως η οξειδωτική φωσφορυλίωση και έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή ATP. Τα ερυθροκύτταρα των ιχθύων εμφανίζουν συνήθως μεγαλύτερη διάρκεια ζωής από εκείνα των ομοιοθερμων το οποίο σχετίζεται με τον χαμηλότερο μεταβολικό ρυθμό (Witeska, 2013).

Όσον αφορά τα θρομβοκύτταρα στα θηλαστικά, δεν έχουν πυρήνα και είναι οι πρόδρομοι των αιμοπετάλιων. Σπάνια βρίσκονται στην κυκλοφορία του αίματος. Αντιθέτως, εμπύρηννα θρομβοκύτταρα κυκλοφορούν στο αίμα των ιχθύων (Κουφός και Βορεινάκης, 1994)

Κύτταρα ανάλογα με τα κοκκιοκύτταρα, τα μακροφάγα και τα λεμφοκύτταρα των θηλαστικών έχουν ταυτοποιηθεί σε όλες τις ομάδες ψαριών, συμπεριλαμβανομένων των πιο πρωτόγονων ειδών κυκλόστομων (Corebel, 1975). Οι Nussey et al. (1995) χρησιμοποιώντας την ιριδίζουσα πέστροφα παρατήρησαν ότι ο μηχανισμός ελέγχου των λευκοκυττάρων και η φυσιολογική απόκριση κάθε κυτταρικού τύπου φαίνεται να είναι συγκρίσιμη με εκείνη των θηλαστικών.

Πιο συγκεκριμένα, η μορφολογία των λεμφοκυττάρων είναι παρόμοια σε όλη τη συνομοταξία των σπονδυλωτών αν και ο αριθμός τους είναι αισθητά μεγαλύτερος στα ψάρια από ότι στα θηλαστικά. Έχουν ένα μεγάλο στρογγυλό ή οβάλ πυρήνα που

καταλαμβάνει σχεδόν ολόκληρο το κυτταρόπλασμα (Sarrafzadeh et al., 2014). Όσον αφορά τα βασεόφιλα είναι μορφολογικά όμοια σε ιχθύες και θηλαστικά, αν και σπάνια εντοπίζονται σε τελεόστεους (Nussey et al., 1995). Ο πυρήνας των βασεόφιλων χωρίζεται σε δύο λοβούς και είναι αισθητά δυσδιάκριτος λόγω της χρώσης και των ευμεγέθων κυτταροπλασματικών κοκκίων που περιέχει. Το ίδιο συμβαίνει και με τα ηωσινόφιλα που στα θηλαστικά αποτελούν το 1-3% των λευκοκυττάρων. Στους ιχθύες, τα ηωσινόφιλα έχουν πυρήνα που χωρίζεται σε δύο λοβούς και κυτταρόπλασμα με κόκκινα κοκκία ύστερα από τη χρώση (Sarrafzadeh et al., 2014). Τα ουδετερόφιλα στους ιχθύες είναι περίπου στους ίδιους αριθμούς όπως στα θηλαστικά, αλλά σε σύγκριση με το συνολικό ποσοστό του πληθυσμού λευκοκυττάρων υπάρχουν διαφοροποιήσεις (περίπου 6-8% σε ψάρια, 60-70% σε θηλαστικά). Μορφολογικά μοιάζουν πολύ αν και ο βαθμός της πυρηνικής πολυμορφίας τους ποικίλλει σημαντικά (2-5 λοβούς) ενώ στο κυτταρόπλασμα εμφανίζονται ροζ-μωβ κοκκία. Ο χρόνος ζωής είναι πιθανόν πέντε (5) ημέρες σε ιχθύες και θηλαστικά. Η ουδετεροφιλία μπορεί να προκύψει και στις δύο προαναφερθείσες ομάδες σπονδυλωτών.

Τα μονοκύτταρα των ιχθύων είναι μορφολογικά όμοια σε μεγάλο βαθμό με τα μονοκύτταρα των θηλαστικών και έχουν κοινά ιστοχημικά γνωρίσματα, δεδομένου ότι φέρουν λεπτούς και διάσπαρτους κόκκους (Nussey et al., 1995). Έχουν πυρήνα στρογγυλού ή νεφροειδούς σχήματος και κυτταρόπλασμα με μικροσκοπικά κοκκία (Veda et al., 2001).

1.4.Σκοπός διατριβής

Σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η μέτρηση και η μορφολογική μελέτη των ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων καθώς και ο υπολογισμός της μεταξύ τους

αναλογίας στο είδος *Oreochromis niloticus*. Λόγω της σημασίας του είδους στον τομέα των υδατοκαλλιεργειών, υπάρχει ανάγκη για βασική γνώση της αιματολογίας του για την σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων κατά την διεξαγωγή διαγνωστικών ελέγχων.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Για την ερευνητική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν τρεις (3) ενήλικες αρσενικές τιλάπιες του είδους *O. niloticus*, οι οποίες πάρθηκαν ως ιχθύδια από Ιχθυογεννητικό Σταθμό και στη συνέχεια ακολούθησε η εκτροφή τους σε ένα σύστημα ενυδρειοπονίας (aquaponics), στο οποίο βρίσκονταν για διάστημα τριών (3) μηνών, πριν την πραγματοποίηση της αιμοληψίας. Συνήθως προτιμώνται για εκτροφή είτε σε μονάδες ιχθυοκαλλιέργειας ή σε πειραματικές δεξαμενές τα αρσενικά άτομα ενός είδους γιατί τα θηλυκά ωοτοκούν. Με απαλές και προσεκτικές κινήσεις για να μην προκληθεί στρες στα άτομα του *O. niloticus*, και με τη χρήση μιας μικρής καθαρής απόχης, μεταφέρθηκαν από την δεξαμενή εκτροφής σε πλαστικό δοχείο που περιείχε αναισθητικό. Η χρήση αναισθητικών ουσιών διευκολύνει τους χειρισμούς και μειώνει την καταπόνηση που προκαλείται κατά την εκτέλεση τους, ενώ επιτρέπει την εκτέλεση επώδυνων διαδικασιών, όπως είναι η αιμοληψία. Συμβάλλει στη διατήρηση της ευζωίας τους μειώνοντας στο ελάχιστο την καταπόνηση, με την προϋπόθεση ότι η χρήση της αναισθητικής ουσίας θα είναι ορθή. Η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια κάθε αναισθητικής ουσίας εξαρτάται από το είδος και το στάδιο ζωής του ιχθύ και από τις περιβαλλοντικές συνθήκες (King et al., 2005). Ένα καλό αναισθητικό προκαλεί αναισθησία σε χρονικό διάστημα 180 sec και ανάνηψη σε 300 sec.

Για την αναισθητοποίηση χρησιμοποιήθηκε 1ml φαινοξυαιθανόλης (phenoxyethanol) διαλυμένο σε 4lt νερό για κάθε ιχθύ. Η δόση χορήγησης του αναισθητικού εξασφαλίζει, ανάλογα με την περίπτωση, από ελαφρά ηρεμία μέχρι βαθιά χειρουργική αναισθησία (Τσαντήλας και συν., 2005). Σύμφωνα με τον Kreinberg (2000) οι ιχθύες διέρχονται διαδοχικά από τα εξής στάδια:

1. ελαφριά καταστολή (ιχθύες παραμένουν σε όρθια θέση)

2. βαριά καταστολή (απώλεια ισορροπίας)
3. πλήρης αναισθησία (ιχθύες γίνονται αδρανείς)

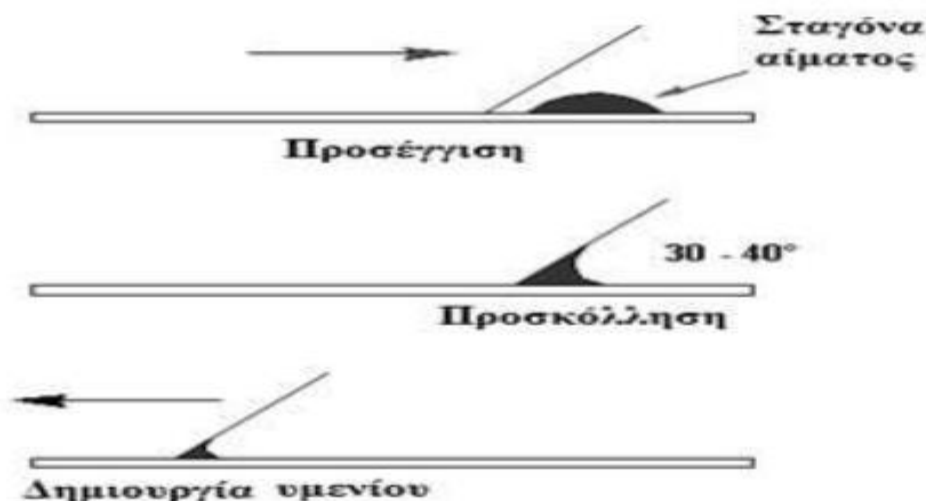
Δεδομένου ότι είναι επιθυμητό μόνο ένα δείγμα αίματος, πραγματοποιείται παρακέντηση στην ουραία φλέβα με κοιλιακή προσέγγιση. Η ουραία παρακέντηση είναι η πιο κοινή χρησιμοποιούμενη μέθοδος επειδή μπορεί να αποδώσει όγκους αίματος από 0,2 ml ως 10 ml το μέγιστο για ιχθύες που ζυγίζουν πάνω από 25 g (Black, 2000). Το αναισθητοποιημένο ψάρι τοποθετείται με την κοιλιακή πλευρά προς τα επάνω σε μια σταθερή επιφάνεια. Απαραίτητο είναι η βελόνα να εισέλθει με γωνία 45° κάτω από τα λέπια, τα οποία ανασηκώνονται στο σημείο αυτό. Στη συνέχεια γίνεται προώθηση της βελόνας με απαλές κινήσεις διαμέσου της σπονδυλικής στήλης μέχρις ότου υπάρξει αίσθηση αντίστασης λόγω επαφής με τον σπόνδυλο. Τέλος γίνεται η αναρρόφηση της επιθυμητής ποσότητας αίματος με τη σύριγγα. Το έμβολο της σύρειται αργά προς τα έξω για να κάνει χώρο στην είσοδο του αίματος, και όχι για να δημιουργήσει αρνητική πίεση. Επίσης, η αναρρόφηση πρέπει να γίνεται αργά για την αποφυγή ρήξης αγγείων καθώς οι ιχθύες έχουν χαμηλή πίεση αίματος (Black 2000).

Μετά την ολοκλήρωση της αιμοληψίας ο ιχθύς επανατοποθετείται στη δεξαμενή έτσι ώστε να εισέλθει νερό μέσω των βραγχίων και να επανέλθει στην πρωταρχική λειτουργική κατάσταση. Στις βελόνες αιμοληψίας τοποθετείται αντιπηκτική ουσία (ηπαρίνη) γιατί το αίμα του ψαριού πήζει σε χρονικό διάστημα είκοσι (20) με τριάντα (30) sec.

Οι υπό εξέταση τιλάπιες δεν είχαν σιτιστεί από την προηγούμενη ημέρα της αιμοληψίας.

Στη συνέχεια, μια μικρή σταγόνα αίματος επιστρώνεται με προσοχή σε μια καθαρή αντικειμενοφόρο πλάκα, που έχει προηγουμένως πλυθεί με οινόπνευμα και σκουπιστεί με απαλό πανί. Το μέγεθος της σταγόνας αίματος είναι πολύ σημαντικό για την σωστή επίστρωση. Όσο πιο μικρή είναι η σταγόνα, τόσο μικρότερο και λεπτότερο το επίχρισμα που θα δημιουργηθεί. Μια δεύτερη πλάκα ή μια καλυπτρίδα χρησιμοποιείται για την απαλή επίστρωση του αίματος και κρατείται σταθερά στην σταγόνα του αίματος σε μια γωνία 30-45° προς το πλακίδιο επίστρωσης. Το πλακίδιο με το οποίο γίνεται η επίστρωση ωθεί την σταγόνα προς τα πίσω μέσα στην ίδια την σταγόνα και κρατείται σε αυτή τη θέση μέχρις ότου το αίμα διασπαρθεί κατά μήκος της πλευράς του πλακιδίου. Τότε ωθείται απαλά και γρήγορα προς το πέρας του πλακιδίου επίστρωσης δημιουργώντας το επίχρισμα. Είναι σημαντικό να επιστρώνεται όλη η σταγόνα του αίματος (Εικ. 2).

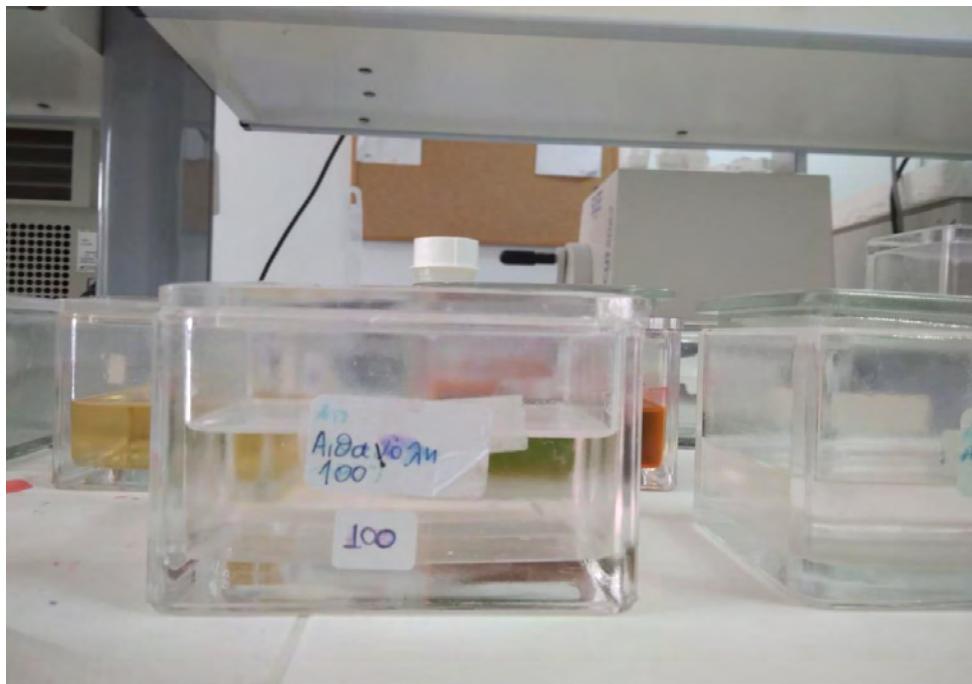
Εικόνα 2: Μέθοδος προετοιμασίας επιχρίσματος αίματος (Πηγή: Βερίλλης, 2019)



Το επίχρισμα αίματος αφήνεται να στεγνώσει στον αέρα σε όρθια τοποθέτηση και μονιμοποιείται σε 100% αλκοόλη για τρία (3) min και ακολουθεί η χρώση κατά

Giemsa (Εικ. 3). Πρέπει να αποφευχθεί η υψηλή υγρασία κατά τη δημιουργία του επιχρίσματος γιατί προκαλεί ανεπαρκή ξήρανση (Adewoyin & Nwogoh 2014).

Εικόνα 3: Απεικόνιση πάγκου εργασίας πριν την μονιμοποίηση των επιχρισμάτων αίματος σε 100% αλκοόλη.



Ο στόχος της μονιμοποίησης είναι η διατήρηση των κυτταρικών συστατικών και της μορφολογίας των ιστών σε μια κατάσταση όσον το δυνατόν πλησιέστερη προς εκείνη που αυτά παρουσίαζαν εν ζωή . Αυτό επιτυγχάνεται με την πρόληψη ή την αναστολή της αυτόλυσης και της σήψης. Η αυτόλυση συμβαίνει όταν πρωτεολυτικά ένζυμα διασπούν τις πρωτεΐνες σε αμινοξέα καθιστώντας τα ανίκανα για πήξη, το κυρίαρχο μηχανισμό μονιμοποίησης μερικών μονιμοποιητικών μέσων (Fournie et al 2000).

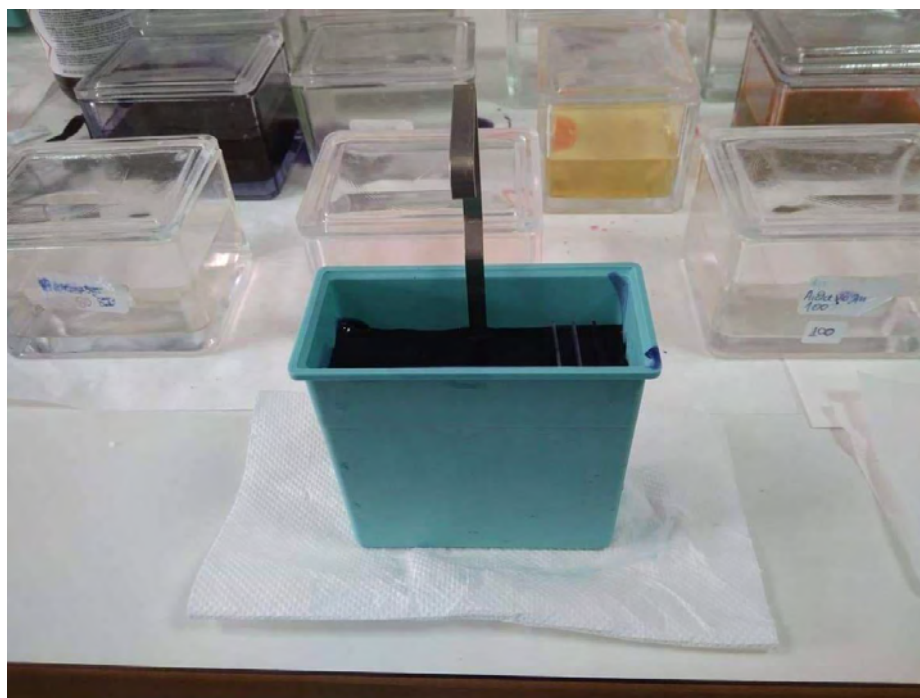
Κανένα μονιμοποιητικό εκτός από την αλκοόλη δεν επιτρέπεται για επιχρίσματα αίματος στα οποία θα χρησιμοποιηθούν φυσικές χρωστικές όπως είναι η χρώση Giemsa (Kiernan, 2015). Η μονιμοποίηση με αλκοόλη είναι γνωστή ως υγρή μονιμοποίηση (wet fixation) και εμποδίζει ένα μεγάλο μέρος της ισοπέδωσης

(flattening) και της μεγέθυνσης (enlargement) που εμφανίζονται σε κύτταρα που έχουν αφεθεί να στεγνώσουν στον αέρα.

Ένα σωστό επίχρισμα που έχει στεγνώσει στον αέρα πρέπει να μονιμοποιηθεί εντός τεσσάρων (4) ωρών από την παρασκευή του αλλά κατά προτίμηση εντός μίας ώρας (Berend - Houwen 2000). Η καθυστέρηση στην προετοιμασία του επιχρίσματος αίματος μπορεί να επιτρέψει ή/και να οδηγήσει στον εκφυλισμό των κυτταρικών στοιχείων του αίματος (Adewoyin & Nwogoh 2014). Η λανθασμένη μονιμοποίηση προκαλεί κερατινοειδή (crenated) ερυθρά αιμοσφαίρια με διαθλαστικά περιγράμματα (refractile borders) (Adewoyin & Nwogoh 2014).

Για την προετοιμασία του διαλύματος Giemsa έγινε αραιώση 1/10 σε δοχείο χρώσης με απιονισμένο νερό και 24ml χρώση Giemsa. Οι αντικειμενοφόρες πλάκες παρέμειναν σε ειδικό δοχείο που περιείχε τη συγκεκριμένη χρώση σύμφωνα με το πρωτόκολλο και μετά το πέρας δεκαπέντε (15) min ξεπλύθηκαν με άφθονο τρεχούμενο νερό έτσι να απομακρυνθούν τα υπολείμματα της χρώσης (Εικ. 4) . Πρέπει να γίνουν προσπάθειες για να σκουπιστεί η κάτω πλευρά από το πλακάκι με βαμβακερό ύφασμα για να απομακρυνθούν υπολείμματα από τη μη δεσμευμένη χρώση και από την κόλλα που χρησιμοποιήθηκε για τη τοποθέτηση της καλυπτρίδας (Adewoyin & Nwogoh 2014).

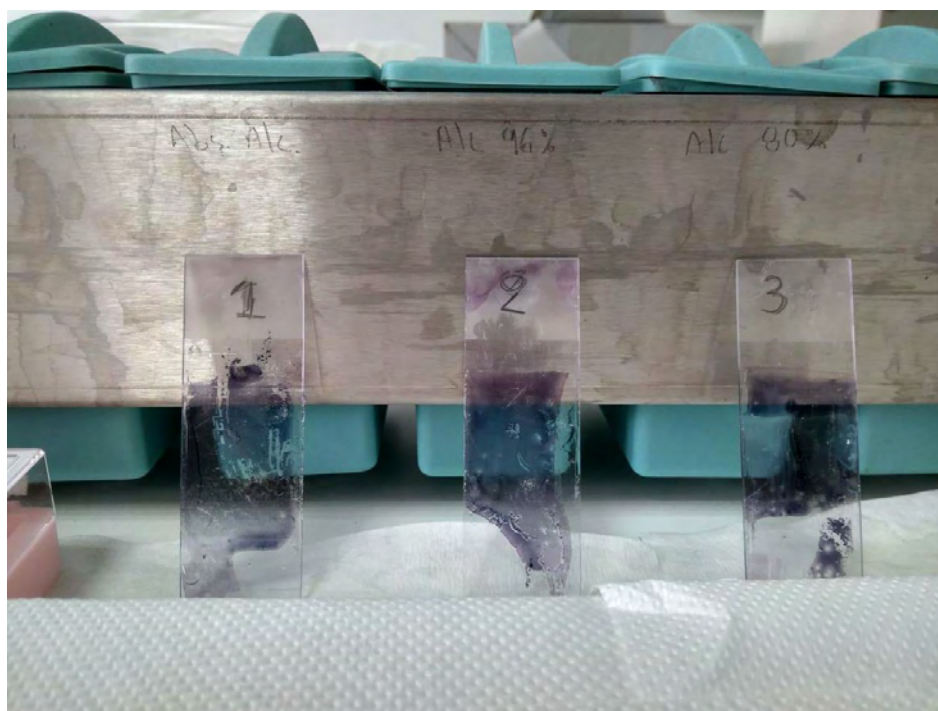
Εικόνα 4: Τοποθέτηση των αντικειμενοφόρων πλακών σε δοχείο που περιέχει χρώση Giemsa



Η ένταση της χρώσης ποικίλλει ανάλογα με τη διάρκεια του χρόνου επαφής της και το μέγεθος της κηλίδας αίματος. Είναι σημαντικό να καθορισθεί ο κατάλληλος χρόνος επαφής (Adewoyin & Nwogoh 2014). Η ποιότητα του υμένιου (film) που δημιουργείται εξαρτάται από την κατάλληλη τεχνική επιχρίσματος και την ποιότητα της διαδικασίας χρώσης (Riley 2013).

Για τη συγκεκριμένη ερευνητική διαδικασία δημιουργήθηκαν συνολικά τρία (3) επιχρίσματα αίματος, ένα για κάθε τιλάπια, τα οποία παρατηρήθηκαν χρησιμοποιώντας οπτικό μικροσκόπιο (Εικ. 5).

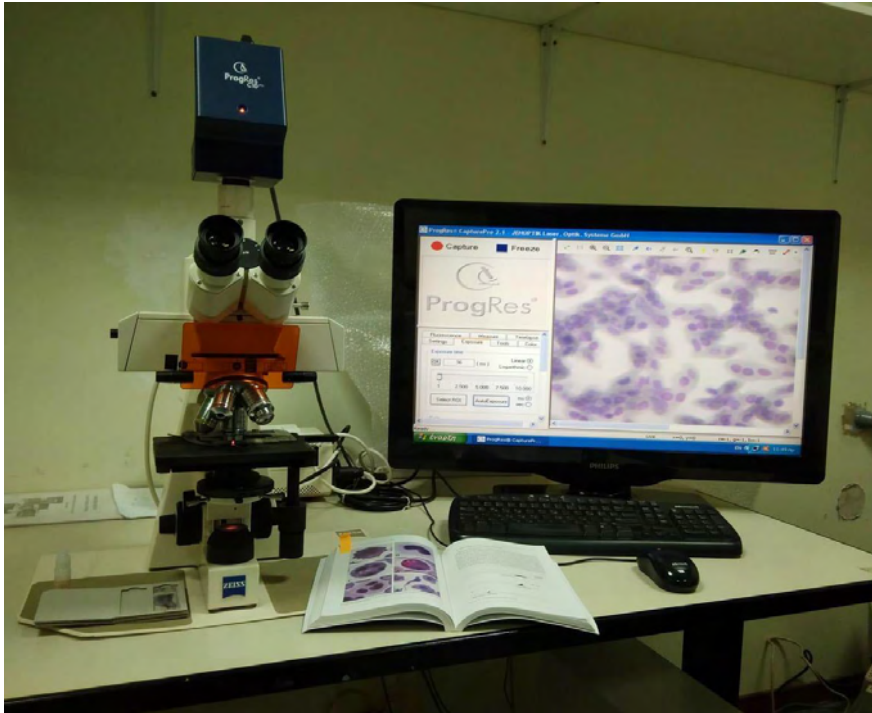
Εικόνα 5: Επιχρίσματα αίματος *O. niloticus* έτοιμα για παρατήρηση σε οπτικό μικροσκόπιο.



Η εξέταση του επιχρίσματος καλό είναι να γίνεται με συστηματική μετακίνηση της τράπεζας, ώστε να αποφεύγεται η διπλή καταμέτρηση του ίδιου κυττάρου. Το πλακίδιο πρέπει να κινείται από δεξιά προς τα αριστερά, εν συνεχεία μετακίνηση προς τα άνω ή προς τα κάτω, κατά ένα οπτικό πεδίο και στη συνέχεια από αριστερά προς τα δεξιά κ.ο.κ. Παράλληλα, θα πρέπει να γίνεται καταμέτρηση τουλάχιστον 100 κυττάρων. Τα μη ταξινομούμενα ή μη αναγνωριζόμενα λευκά αιμοσφαίρια θα πρέπει να καταμετρώνται ξεχωριστά.

Για τη συγκεκριμένη ερευνητική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν το μικροσκόπιο ZEISS HBO 50/AC και το πρόγραμμα κάμερας ProGres Capture Pro 2.1 για την λήψη στιγμιότυπων από τα δείγματα (Εικ. 6).

Εικόνα 6: Απεικόνιση δειγμάτων σε οπτικό μικροσκόπιο.



Για τη μελέτη των ερυθρών αιμοσφαιρίων και την εύρεση της αναλογίας μεταξύ λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων χρησιμοποιήθηκε φακός 40x/0,65. Σε αυτή τη μεγέθυνση είναι διακριτό το είδος του αιματοκυττάρου. Για την μέτρηση των κυττάρων του αίματος επιλέχθηκαν αραιές περιοχές έναντι των πυκνών με σκοπό να διευκολυνθεί η καταγραφή τους και να αποφευχθούν λανθασμένες μετρήσεις λόγω αλληλεπικάλυψης. Στις μετρήσεις δεν συμπεριλήφθηκαν ερυθρά αιμοσφαίρια που βρίσκονταν στο τέλος της ζωής τους. Για την μέτρηση των αξόνων των ερυθρών αιμοσφαιρίων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα επεξεργασίας φωτογραφιών GIMP 2. Για τον υπολογισμό της επιφάνειας και του όγκου του πυρήνα και ολόκληρου του ερυθροκυττάρου χρησιμοποιήθηκε το υπολογιστικό φύλλο Excel. Ο υπολογισμός της επιφάνειας έγινε με τον ακόλουθο τύπο:

$$A = \pi \cdot \frac{M\alpha}{2} \cdot \frac{m\alpha}{2}$$

Όπου A: επιφάνεια σε μm^2

Ma: μεγάλος άξονας σε μm

ma: μικρός άξονας σε μm

Για τον υπολογισμό του όγκου χρησιμοποιήθηκε ο τύπος:

$$V = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot \frac{Ma}{2} \cdot \left(\frac{ma}{2}\right)^2$$

Όπου V: όγκος σε μm^3

Ma: μεγάλος άξονας σε μm

ma: μικρός άξονας σε μm

Η μέθοδος που ακολουθήθηκε για την εύρεση της αναλογίας λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων ήταν τυχαία. Λήφθηκαν συνολικά έξι (6) φωτογραφίες από κάθε επίχρισμα οι οποίες υποδιαιρέθηκαν σε τμήματα σχήματος τετράγωνου για να διευκολυνθεί η απαρίθμηση τους.

Για τη διαφοροποίηση των λευκών αιμοσφαιρίων χρησιμοποιήθηκε καταδυτικός φακός 100x/1,25. Για κάθε επίχρισμα έγινε αναγνώριση και ένταξη των εκατό (100) πρώτων κυττάρων σε μια από τις ακόλουθες κατηγορίες:

- ουδετερόφιλο (neutrophil)
- λεμφοκύτταρο (lymphocyte)
- μονοκύτταρο (monocyte)
- βασεόφιλο (basophil)
- ηωσινόφιλο (eosinophil)

- απροσδιόριστο

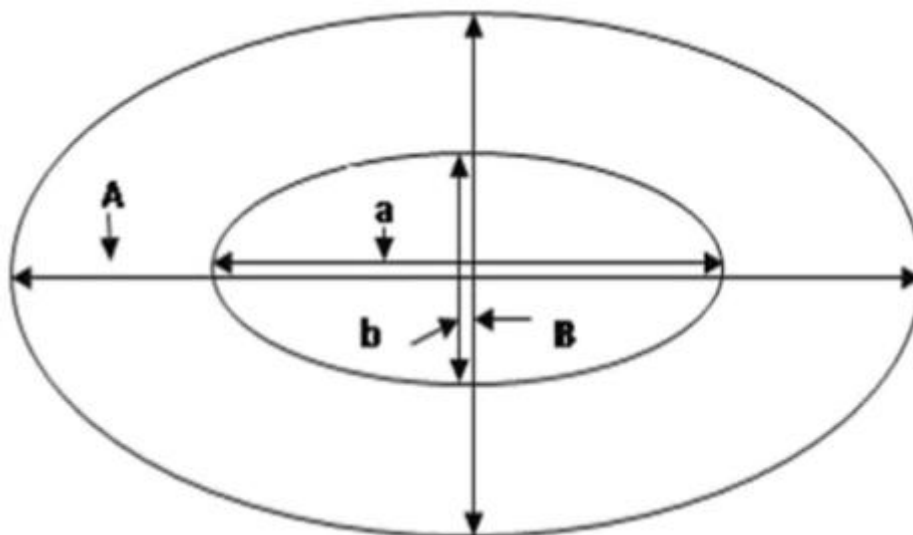
Κατά την διαφοροποίηση των λευκών αιμοσφαιρίων απαιτείται προσεκτική παρατήρηση καθώς κατακερματισμένα θρομβοκύτταρα μπορούν να καταγραφούν εσφαλμένα ως λεμφοκύτταρα λόγω της ομοιότητας και του μεγέθους τους.

Για τη στατιστική ανάλυση όλα τα σύνολα δεδομένων ελέγχθησαν ως προς την κανονικότητα των συχνοτήτων τους με το κριτήριο των Kolmogorov – Smirnov. Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε $\alpha=0,05$. Η στατιστική επεξεργασία πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πακέτο IBM SPSS Statistics 25. Αρχικά έγινε στατιστική ανάλυση των δεδομένων για κάθε τιλάπια ξεχωριστά και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε συνολικά και για τα τρία (3) δείγματα. Οι τιμές των δειγμάτων που ακολουθούν την κανονική κατανομή ($\text{Sig} > 0,05$) παρουσιάζονται ως Μέσος \pm Τυπικό σφάλμα, ενώ οι τιμές των δειγμάτων που δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή ($\text{Sig} < 0,05$) παρουσιάζονται ως Διάμεσος \pm Ενδοτεταρτημοριακό εύρος.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Πραγματοποιήθηκε ποσοτική και ποιοτική μελέτη των κυττάρων του αίματος. Η ποσοτική μελέτη αφορά τον ολικό αριθμό και την εκατοστιαία αναλογία των αιμοσφαιρίων, δηλαδή των κυττάρων του αίματος (ερυθρών και λευκών). Η ποιοτική μελέτη περιλαμβάνει μετρήσεις που αφορούν τα ερυθροκύτταρα (Σχ. 1) και διερευνήθηκε η ύπαρξη μικροπυρηνίσκων μέσα σε αυτά.

Σχήμα 1: Απεικόνιση μετρήσεων ερυθροκυττάρου, όπου A: μεγάλος άξονας κυττάρου, B: μικρός άξονας κυττάρου, a: μεγάλος άξονας πυρήνα και b: μικρός άξονας πυρήνα (Πηγή: Normala et al., 2016)



Πιο αναλυτικά, στους Πίνακες 1 και 2 παρουσιάζονται τα στατιστικά στοιχεία των μορφολογικών μετρήσεων και αναλογιών που αφορούν τον πυρήνα και το κυτταρόπλασμα των ερυθρών αιμοσφαιρίων, αντίστοιχα. Για τον έλεγχο της κανονικότητας των τιμών πραγματοποιήθηκε το τεστ Kolmogorov-Smirnov. Σε όλες τις τιμές διαπιστώθηκε κανονικότητα, τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως Μέσος ± Τυπικό σφάλμα, ενώ σε όσα διαπιστώθηκε μη-κανονικότητα, τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως Διάμεσος ± Ενδοτετατημοριακό εύρος.

Πίνακας 1. Αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης των μορφολογικών χαρακτηριστικών του πυρήνα των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Οι έντονες και υπογραμμισμένες μετρήσεις του πίνακα δίνονται ως Μέσος \pm Τυπικό σφάλμα ενώ οι υπόλοιπες ως Διάμεσος \pm Ενδοτεταρτημοριακό εύρος.

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	1 ^ο ΔΕΙΓΜΑ	2 ^ο ΔΕΙΓΜΑ	3 ^ο ΔΕΙΓΜΑ	ΣΥΝΟΛΙΚΑ
Μεγάλος άξονας (μm)	<u>5,2 \pm 0,03</u>	<u>5,5 \pm 0,03</u>	<u>5,4 \pm 0,03</u>	<u>5,4 \pm 0,02</u>
Μικρός άξονας (μm)	3,0 \pm 0,35	3,1 \pm 0,44	3,1 \pm 0,60	3,0 \pm 0,47
Επιφάνεια (μm ²)	12,0 \pm 2,23	13,1 \pm 2,02	13,2 \pm 4,01	12,7 \pm 2,82
Όγκος (μm ³)	23,8 \pm 6,40	26,9 \pm 7,1	70,5 \pm 21,35	29,3 \pm 37,61
Αναλογία αξόνων	0,6 \pm 0,11	0,6 \pm 0,11	0,6 \pm 0,13	0,6 \pm 0,12

Πίνακας 2. Αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης των μορφολογικών χαρακτηριστικών ολόκληρου του ερυθροκυττάρου. Οι έντονες και υπογραμμισμένες μετρήσεις του πίνακα δίνονται ως Μέσος \pm Τυπικό σφάλμα ενώ οι υπόλοιπες ως Διάμεσος \pm Ενδοτεταρτημοριακό εύρος.

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	1 ^ο ΔΕΙΓΜΑ	2 ^ο ΔΕΙΓΜΑ	3 ^ο ΔΕΙΓΜΑ	ΣΥΝΟΛΙΚΑ
Μεγάλος άξονας(μm)	12,3 \pm 1,60	<u>12,6 \pm 0,05</u>	12,0 \pm 1,37	12,3 \pm 1,46
Μικρός άξονας (μm)	<u>6,8 \pm 0,42</u>	<u>7,2 \pm 0,03</u>	7,3 \pm 0,4	7,2 \pm 0,23
Επιφάνεια (μm ²)	64,7 \pm 9,80	72,6 \pm 9,50	68,0 \pm 12,13	68,6 \pm 11,65
Όγκος (μm ³)	292,3 \pm 74,0	361,4 \pm 74,81	331,9 \pm 96,59	328,7 \pm 93,45
Αναλογία αξόνων	0,6 \pm 0,14	<u>0,61 \pm 0,0037</u>	<u>0,61 \pm 0,0041</u>	<u>0,58 \pm 0,0026</u>

Σύμφωνα με τον έλεγχο κανονικότητας κατά Kolmogorov – Smirnov οι μετρήσεις που ακολουθούν την κανονική κατανομή (Sig > 0,05) είναι:

- Στο 1^ο δείγμα: ο μεγάλος άξονας του πυρήνα και ο μικρός άξονας του κυττάρου
- Στο 2^ο δείγμα: ο μεγάλος άξονας του πυρήνα, ο μεγάλος άξονας του κυττάρου, ο μικρός άξονας του κυττάρου και η αναλογία των αξόνων του κυττάρου

- Στο 3^ο δείγμα: ο μεγάλος άξονας του πυρήνα και η αναλογία των αξόνων του κυττάρου
- Συνολικά και στα 3 δείγματα: ο μεγάλος άξονας του πυρήνα και η αναλογία των αξόνων του κυττάρου

Στον Πίνακα 3 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη στατιστική ανάλυση των αναλογιών όγκου και επιφάνειας μεταξύ του πυρήνα και ολόκληρου του ερυθρού αιμοσφαιρίου. Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως Μέσος \pm Τυπικό σφάλμα καθώς διαπιστώθηκε η κανονικότητά τους με το τεστ των Kolmogorov-Smirnov.

Πίνακας 3. Αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης των αναλογιών όγκου και επιφάνειας μεταξύ του πυρήνα και ολόκληρου του ερυθροκυττάρου. Οι τιμές παρουσιάζονται ως Μέσος \pm Τυπικό σφάλμα.

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	1 ^ο ΔΕΙΓΜΑ	2 ^ο ΔΕΙΓΜΑ	3 ^ο ΔΕΙΓΜΑ	ΣΥΝΟΛΙΚΑ
Αναλογία όγκων	0,1 \pm 0,03	0,1 \pm 0,03	0,2 \pm 0,05	0,1 \pm 0,12
Αναλογία επιφανειών	0,2 \pm 0,04	0,2 \pm 0,03	0,2 \pm 0,03	0,2 \pm 0,04

Επίσης, δεν παρατηρήθηκαν μικροπυρηνίσκοι στα ερυθρά αιμοσφαίρια των υπό εξέταση ιχθύων.

Η διαφοροποίηση των λευκών αιμοσφαιρίων είχε ως σκοπό την αναγνώριση και την ένταξη τους σε έναν από τους ακόλουθους τύπους: λεμφοκύτταρο, μονοκύτταρο, ουδετερόφιλο, βασεόφιλο και ηωσινόφιλο. Στο 1^ο και στο 2^ο δείγμα εντοπίστηκε από ένα λευκοκύτταρο στο οποίο δεν μπορούσε να εξακριβωθεί ο τύπος του. Για αυτό το λόγο, χαρακτηρίστηκαν και συμπεριλήφθησαν στον πίνακα 4 μαζί με τα υπόλοιπα λευκά αιμοσφαίρια ως απροσδιόριστα.

Πίνακας 4. Διαφοροποίηση λευκών αιμοσφαιρίων. Οι τιμές αποτελούν τον αριθμό των κυττάρων σε κάθε δείγμα.

ΕΙΔΗ ΛΕΥΚΩΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΩΝ	1^ο ΔΕΙΓΜΑ	2^ο ΔΕΙΓΜΑ	3^ο ΔΕΙΓΜΑ	ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ ± ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ
Λεμφοκύτταρα	79	76	79	78 ± 1,7
Ουδετερόφιλα	15	18	16	16 ± 0,9
Βασεόφιλα	-	-	-	-
Ηωσινόφιλα	-	-	-	-
Μονοκύτταρα	5	6	4	5 ± 0,6
Απροσδιόριστα	1	-	1	-
Σύνολο	100	100	100	-

Η μικροσκοπική εξέταση των επιχρισμάτων αίματος απέδειξε την παρουσία λεμφοκυττάρων, μονοκυττάρων και ουδετερόφιλων στο αίμα της τιλάπιας του Νείλου. Τα λεμφοκύτταρα ήταν τα πιο πολυάριθμα και βρίσκονται σε ποσοστό 78% κατά μέσο όρο, τα ουδετερόφιλα σε ποσοστό 16% ενώ τα μονοκύτταρα ανέρχονται σε ποσοστό 5%. Στα οπτικά πεδία που εξετάστηκαν δεν βρέθηκαν βασεόφιλα και ηωσινόφιλα. Σύμφωνα με τον Πίνακα 5 τα κοκκιοκύτταρα συνιστούν το 83% των λευκών αιμοσφαιρίων κατά μέσο όρο και τα μη κοκκιώδη το 16,3% αυτών.

Πίνακας 5. Κατηγοριοποίηση λευκών αιμοσφαιρίων. Οι τιμές αποτελούν τον αριθμό των κυττάρων σε κάθε δείγμα.

ΛΕΥΚΑ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΑ	1^ο ΔΕΙΓΜΑ	2^ο ΔΕΙΓΜΑ	3^ο ΔΕΙΓΜΑ	ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ ± ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ
Κοκκιοκύτταρα	15	18	16	16,3 ± 0,88
Μη κοκκιώδη	84	82	83	83 ± 0,5

Για τον υπολογισμό του ποσοστού (%) των ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων στο αίμα τιλάπιας έγινε καταμέτρηση των κυττάρων από έξι (6) μικροσκοπικές εικόνες για κάθε ένα δείγμα. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στους Πίνακες 6 και 7.

Πίνακας 6. Αριθμός λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων στα υπό εξέταση δείγματα.

ΕΙΔΟΣ ΑΙΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΟΥ	1° ΔΕΙΓΜΑ	2° ΔΕΙΓΜΑ	3° ΔΕΙΓΜΑ	ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ ± ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ
Λευκά αιμοσφαίρια	53	59	119	77 ± 21,1
Ερυθρά αιμοσφαίρια	1.122	1.311	962	1.131 ± 100,9
Σύνολο	1.175	1.370	1.081	-

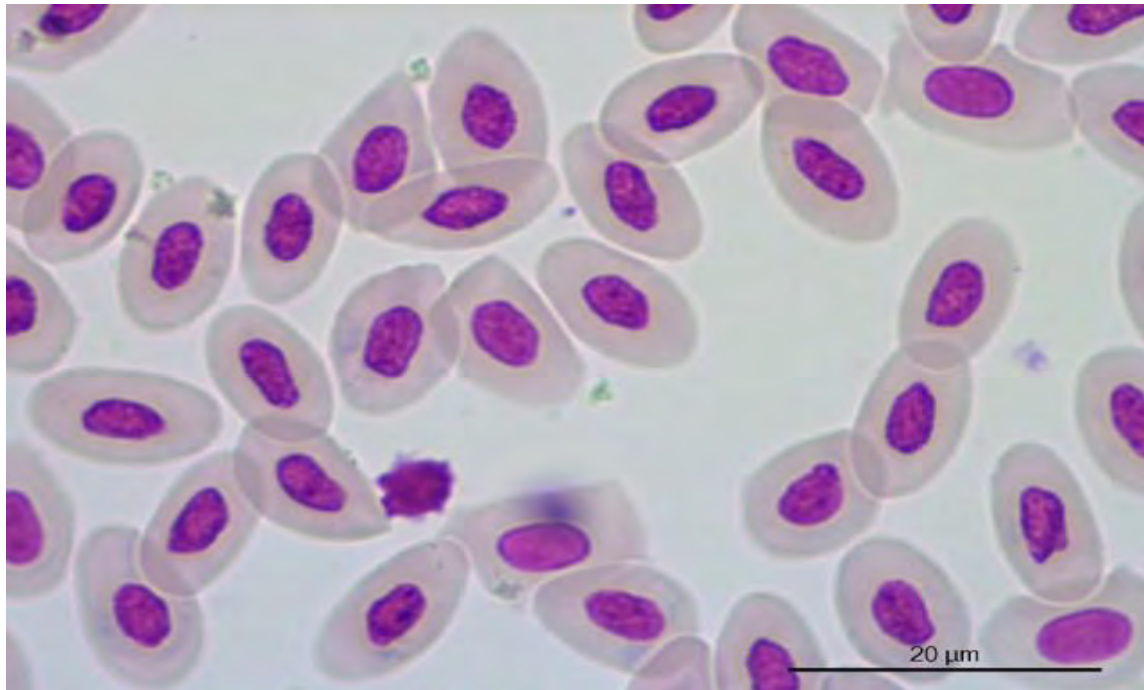
Πίνακας 7. Ποσοστό (%) λευκών και ερυθρών αιμοσφαιρίων στα υπό εξέταση δείγματα.

ΠΟΣΟΣΤΟ (%) ΑΙΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ	1° ΔΕΙΓΜΑ	2° ΔΕΙΓΜΑ	3° ΔΕΙΓΜΑ	ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ ± ΤΥΠΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ
Ερυθρά αιμοσφαίρια	95,49	96,69	88,99	94 ± 2,4
Λευκά αιμοσφαίρια	4,51	4,31	11,01	6 ± 2,2
Σύνολο	100	100	100	-

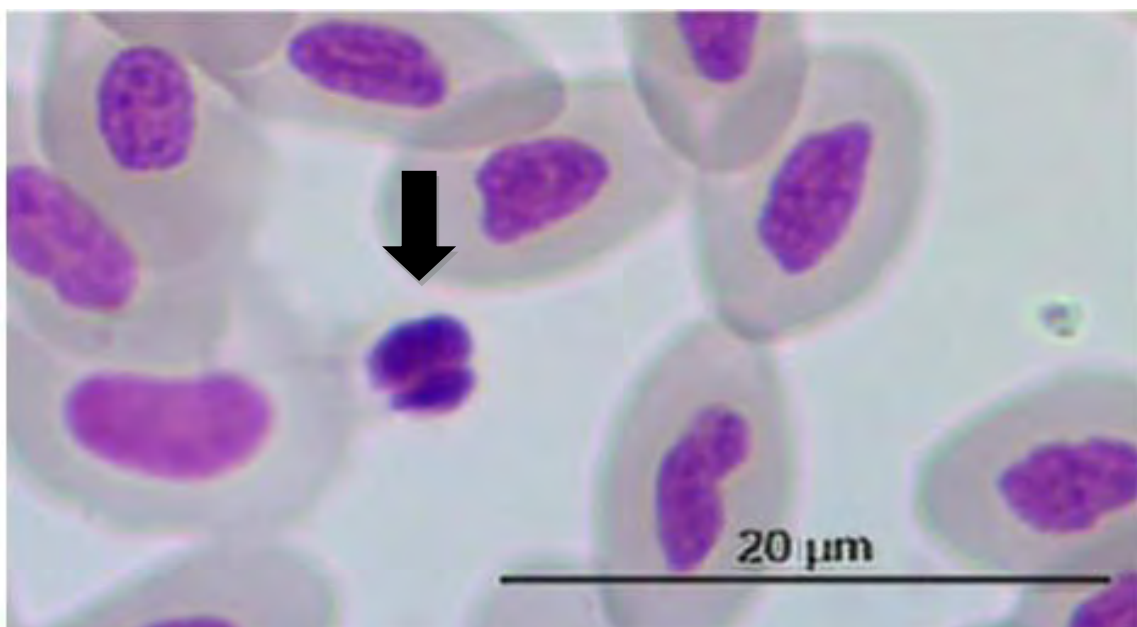
Κατά μέσο όρο υπολογίστηκε ότι τα ερυθρά αιμοσφαίρια αποτελούν το 94 % και τα λευκά αιμοσφαίρια το 6% των κυττάρων του αίματος στο είδος *O. niloticus*.

Ακολουθούν εικόνες από το οπτικό μικροσκόπιο όπου απεικονίζονται ευδιάκριτα τα ερυθρά και λευκά αιμοσφαίρια.

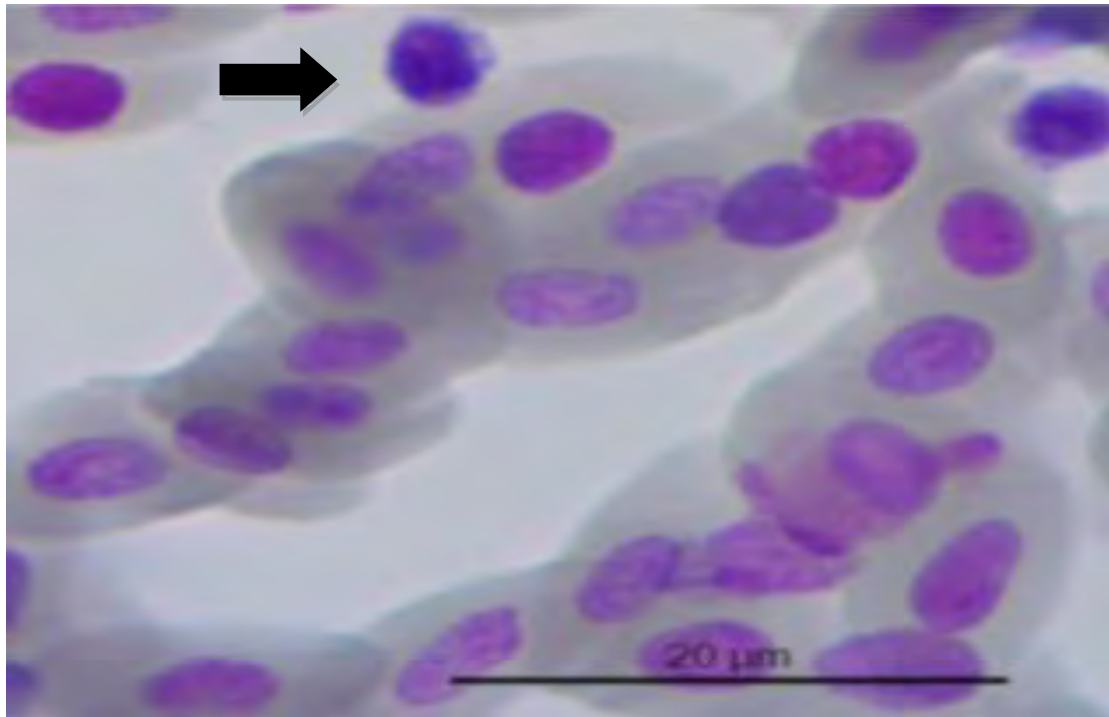
Εικόνα 7: Ερυθρά αιμοσφαίρια *O. niloticus*.



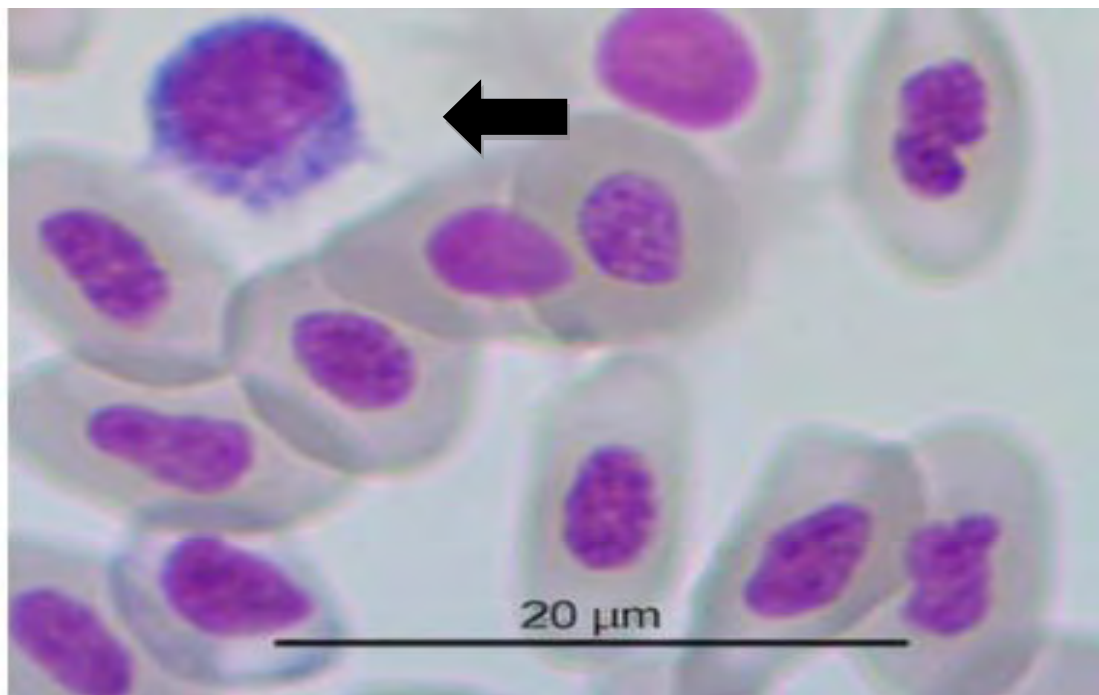
Εικόνα 8: Ουδετερόφιλο λευκοκύτταρο *O. niloticus*.



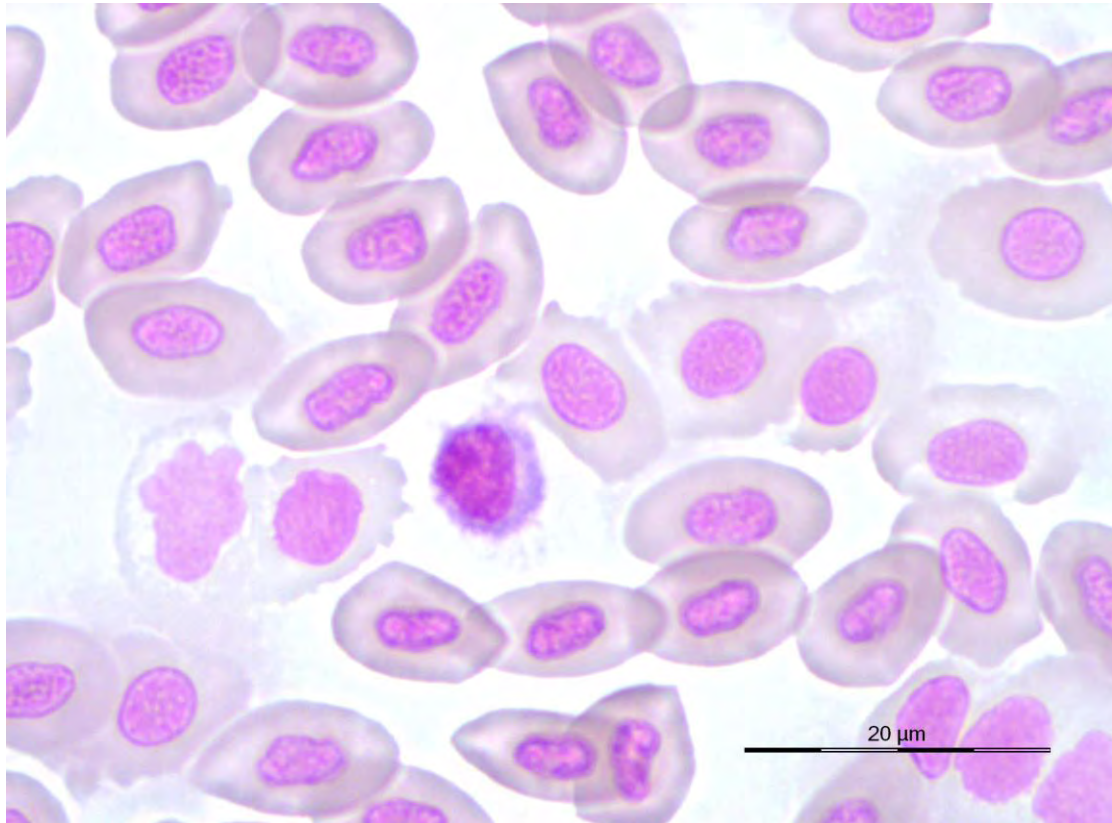
Εικόνα 9: Μικρό λεμφοκύτταρο *O. niloticus*.



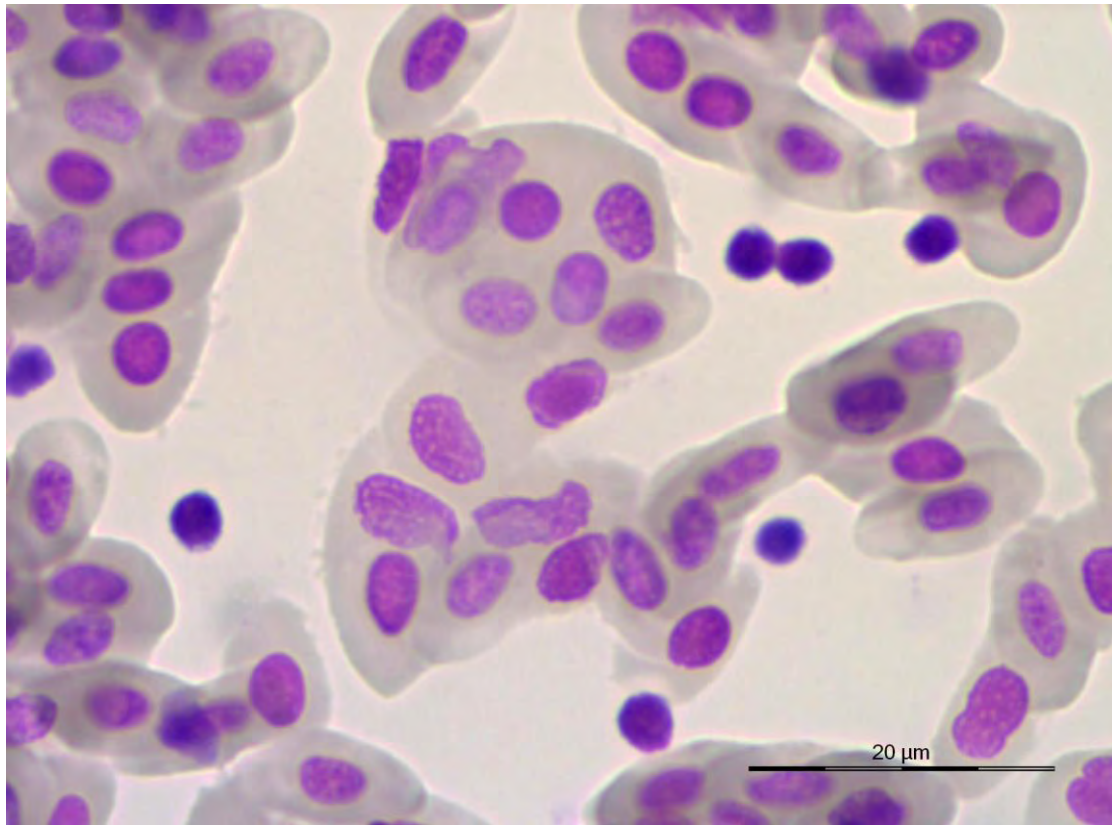
Εικόνα 10: Μονοκύτταρο *O. niloticus*.



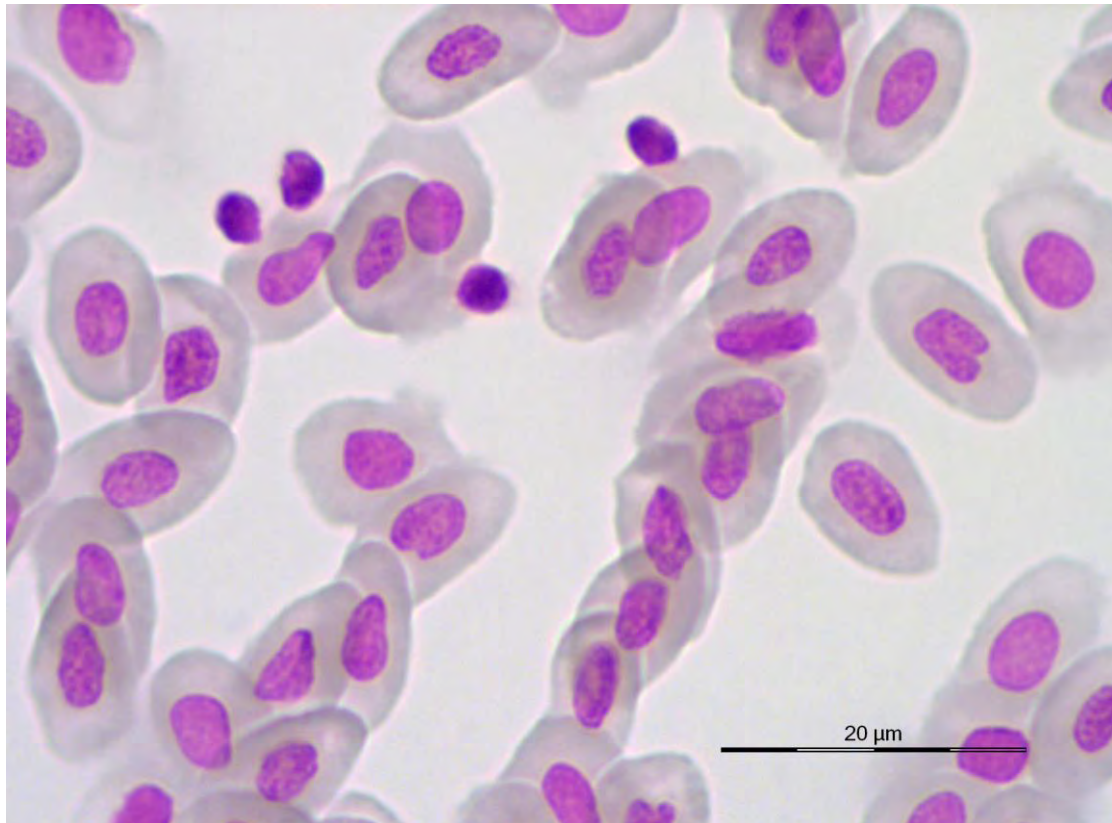
Εικόνα 11: Επίχρισμα αίματος *O. niloticus* με ένα μεγάλο λεμφοκύτταρο να απεικονίζεται στο κέντρο της εικόνας.



Εικόνα 12: Επίχρισμα αίματος *O. niloticus* με εμφανή λεμφοκύτταρα.



Εικόνα 13: Επίχρισμα αίματος *O. niloticus*.



4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι υδατοκαλλιέργειες συνεισφέρουν ενεργά στην εξασφάλιση επισιτιστικής ασφάλειας και αποτελούν μοχλό οικονομικής ανάπτυξης σε παγκόσμιο επίπεδο. Η εντατικοποίηση των παραγωγικών συστημάτων ασκεί αυξανόμενη πίεση στα εκτρεφόμενα είδη και επηρεάζει αρνητικά την υγεία και το ανοσοποιητικό τους σύστημα (Valladão et al. 2017).

Οι υψηλές ιχθυοφορτίσεις των κλωβών και οι στρεσογόνοι παράγοντες στους οποίους εκτίθενται οι ιχθύες κατά τη διάρκεια του κύκλου παραγωγής, επηρεάζουν άμεσα ή έμμεσα την ανοσολογική αντίδραση και την αντίσταση σε παθογόνους μικροοργανισμούς που υπάρχουν στο περιβάλλον εκτροφής. Σύμφωνα με τους Valladão et al. (2017) η εκτροφή της τιλάπιας αντιμετωπίζει σημαντικά ζητήματα υγείας τα οποία καταλήγουν σε μαζικούς θανάτους. Για να επιτευχθεί η μέγιστη βιώσιμη ανάπτυξη των υδατοκαλλιεργειών απαιτείται η βελτίωση της υγείας και της απόδοσης των εκτρεφόμενων οργανισμών.

Οι αιματολογικές παράμετροι συχνά χρησιμοποιούνται ως δείκτες για την αξιολόγηση της υγείας των ιχθύων (Pradhan et al. 2012, 2014a, Sheikh & Ahmed 2016, Okomoda et al. 2018). Η χρήση των αιματολογικών παραμέτρων ως δεικτών υγείας είχε προταθεί από τον Hesser (1960).

Ως υδρόβιοι ποικιλόθερμοι οργανισμοί οι ιχθύες ζουν σε άμεση επαφή με το περιβάλλον τους, εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από αυτό και ανταποκρίνονται αμέσως στις αλλαγές του (Guerriero et al. 2003, Achaya & Mohanty 2014, Giannetto et al. 2014, Maisano et al. 2016a). Αυτές οι αλλαγές μπορεί να είναι ωριαίες, ημερήσιες ή εποχιακές. Ως εκ τούτου, το περιβάλλον στο οποίο ζουν επηρεάζει το μεταβολικό περιεχόμενο στο αίμα λόγω της στενής συσχέτισης του κυκλοφορικού

συστήματος με το εξωτερικό περιβάλλον (Elahee & Bhagwant 2007, Percin et al. 2010). Το αιματολογικό προφίλ παρέχει πληροφορίες όχι μόνο σχετικά με την κατάσταση της υγείας των ιχθύων και τις φυσικές και χημικές παραμέτρους του νερού στο οποίο ζουν , αλλά βοηθά επίσης στην εκτίμηση της σχέσης μεταξύ αυτών των παραγόντων και της γνώσης της ευαισθησίας του οργανισμού στις αλλαγές των περιβαλλοντικών συνθηκών (Percinet et al. 2010, Ayoola et al. 2011). Αυτές οι αλλαγές είναι αποδεδειγμένα αντισταθμικές αντιδράσεις από διάφορους παράγοντες.

Η εξέταση των αιματολογικών τιμών των ιχθυοπληθυσμών προτείνεται σε μια συνεχή βάση (Fazio, 2019). Δυστυχώς υπάρχουν λίγα διαγνωστικά εργαλεία διαθέσιμα. Πολλές από τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της υγείας των θηλαστικών δεν ενδείκνυται για χρήση στους ιχθύες. Ωστόσο, κάποιες από τις αιματολογικές και τις αναλυτικές μεθόδους που αναπτύχθηκαν για χρήση της ιατρικής μπορούν να προσαρμοστούν για εξετάσεις αίματος στους ιχθύες. Η αιματολογική ανάλυση είναι ιδιαίτερα σημαντικά γιατί μπορεί να προσφέρει πρακτικά, γρήγορα και οικονομικά αξιόπιστα αποτελέσματα χρησιμοποιώντας μη θανατηφόρα μέσα.

Πολλοί ερευνητές αποπειράθηκαν να οριοθετήσουν τις φυσιολογικές αιματολογικές τιμές σε ποικίλα είδη ιχθύων χρησιμοποιώντας μεθόδους που εφαρμόζονται για τη μελέτη των υπόλοιπων σπονδυλωτών. Υπάρχουν ενστάσεις για τη χρήση του όρου «φυσιολογικό» καθώς φυσιολογική αιματολογική κατάσταση στους ιχθύες, σε αντίθεση με τα θηλαστικά, μπορεί να παρουσιαστεί με τιμή εύρους τόσο μεγάλη ώστε να είναι χωρίς σημασία (Parrino et al., 2018). Η αιματολογία και η ανάλυση της κλινικής χημείας μπορούν να παράσχουν σημαντικές διαγνωστικές πληροφορίες μόλις καθοριστούν τιμές αναφοράς (Hrubec et al., 2008). Λαμβάνοντας υπόψη την φυλογενία των οστεϊχθύων και τις πολλές προσαρμογές σε διαφορετικά

περιβάλλοντα, είναι σαφές ότι κανένα είδος δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως αντιπροσωπευτικό μοντέλο για όλα τα είδη (Fazio et al., 2013). Επομένως είναι αναγκαία η ύπαρξη φυσιολογικών τιμών αναφοράς για κάθε είδος ξεχωριστά (Mauel et al., 2007). Κυρίως χρησιμοποιούνται εύρη παρά συγκεκριμένες τιμές κατά τον προσδιορισμό της κατάστασης της υγείας επειδή παρατηρούνται διαφορές μεταξύ των ατόμων ενός είδους. Οι έρευνες έχουν επικεντρωθεί σε εμπορικά σημαντικά είδη. Το «φυσιολογικό» αιματολογικό προφίλ κάποιων ειδών που ζουν σε διαφορετικά ενδιαιτήματα είναι ακόμα άγνωστο. Παρ' όλα αυτά, μια προσεκτική ερμηνεία των αιματολογικών στοιχείων μπορεί να αποκαλύψει σημαντικές πληροφορίες. Η απόδοση ορθής ερμηνείας εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα των τιμών αναφοράς οι οποίες βοηθούν στην κατανόηση της σχέσης των χαρακτηριστικών του αίματος με τη φυλογενία, τη δραστηριότητα, τους βιοτόπους και την προσαρμοστικότητα του είδους στο περιβάλλον (Parrino et al., 2018). Τυχόν εκτροπές από τέτοιες τιμές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση των συνθηκών των εντατικά εκτρεφόμενων οργανισμών, για την διάγνωση μολύνσεων και παθογόνων περιπτώσεων καθώς και για την ανίχνευση άλλων παραμέτρων που επιφέρουν καταπόνηση του οργανισμού (Mauel et al., 2007).

Προηγούμενες μελέτες στην αιματολογία των ιχθύων έχουν αποδείξει ότι η ερμηνεία των αιματολογικών παραμέτρων είναι ιδιαίτερα περίπλοκη καθώς παραλλαγές οφείλονται τόσο σε ενδογενείς όσο και σε εξωγενείς παράγοντες (De Pedro et al. 2005, Motlagh et al. 2012). Επιπλέον, η δειγματοληψία αίματος, οι εργαστηριακές τεχνικές και η μεταφορά μπορούν επίσης να επηρεάσουν τις αιματολογικές τιμές (Vazquez & Guerrero 2007, Pradhan et al. 2014a, Skeikh & Ahmed 2016, Sharma et al. 2017) και να οδηγήσουν σε εσφαλμένα συμπεράσματα.

Αλλαγές στις αιματολογικές παραμέτρους οφείλονται εν μέρει στην θρεπτική κατάσταση του ιχθύος (Kumar et al. 2005, Zhou et al. 2012, Eslamloo et al. 2012, Qiang et al. 2013) αν και σύμφωνα με τους Lim et al. (2007) οι αιματολογικές και οι ανοσολογικές παράμετροι δεν επηρεάστηκαν από τις διατροφικές μεταχειρίσεις. Οι αιματολογικές μεταβολές υποδεικνύουν επίσης φυσιολογικές προσαρμογές λόγω αλλαγών στην αναπνευστική δραστηριότητα που σχετίζεται με το pH, την ποιότητα του νερού (Fazio et al. 2012a), την θερμοκρασία (Langston et al. 2000, Magill & Sayer 2004), την αλατότητα, το διαλυμένο οξυγόνο, την ηλικία, το φύλο, το μήκος, το βάρος και τις εποχιακές διακυμάνσεις (Corrêa et al. 2017). Οι μεταβολές των παραμέτρων του αίματος εξαρτώνται από το είδος (Ranzani – Paiva et al. 2003, Anthony et al. 2010), το βιότοπο, την κατάσταση της υγείας (Vazquez & Guerrero 2007), την διατροφική κατάσταση (Svetina et al. 2002, Lim & Klesius 2003), την ηλικία (Orun & Erdemli 2002, Jamalzadeh & Ghani 2009), τη καταπόνηση (Cnaani et al. 2004), την φωτοπερίοδο (Leonardi & Klempner 2003) και την αναπαραγωγική ωριμότητα (Hrubec et al. 2001, Fazio et al. 2016). Επιλέον οι παράμετροι του αίματος είναι πολύ ευαίσθητες στις περιβαλλοντικές αλλαγές (Vazquez & Guerrero 2007). Είναι αποδεδειγμένο ότι οι αλλαγές του περιβάλλοντος επηρεάζουν τον αριθμό, τη μορφολογία και την κατανομή των κυττάρων του αίματος (Srivastava & Choudhary, 2010). Συγχρόνως, η ποιότητα του νερού, το οξυγόνο, η θερμοκρασία και η αλατότητα αντανακλώνται άμεσα σε αυτές (LeaMaster et al. 1990, Luskov 1997, Sheikh & Ahmed 2016) όπως και η ιχθυοπυκνότητα (Což – Rakovac et al. 2005, Vazquez & Guerrero 2007, Ferri et al. 2011), η μικροβιακή μόλυνση και ο παρασιτισμός (Martins et al. 2004, Azevedo et al. 2006, Jamalzadeh et al. 2009). Άλλοι παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν τις αιματολογικές παραμέτρους είναι η συμπεριφορά και το κλίμα (Fazio, 2019). Οι αλλαγές των αιματολογικών

παραμέτρων των ιχθύων ίσως σχετίζονται με την αντοχή τους (Qiang et al. 2013). Οι παράμετροι του αίματος θεωρούνται καλοί βιοδείκτες για ολόκληρο το σώμα και επομένως είναι σημαντικοί στη διάγνωση της δομικής και λειτουργικής κατάστασης των ειδών που εκτίθενται σε περιβαλλοντικούς ρύπους (Seriani et al. 2011). Είναι γεγονός ότι στους ιχθύες η έκθεση σε χημικούς ρύπους μπορεί να προκαλέσει είτε αύξηση είτε μείωση στις παραμέτρους του αίματος (Arowowora et al. 2003, Roy & Nath 2011). Εμβαθύνοντας περισσότερο, οι αιματολογικές παράμετροι έχουν αποδειχθεί πολύτιμες και για την παρακολούθηση των επιπτώσεων των αλλαγών των ενδιαιτημάτων στην βιολογία των ιχθύων (Gabriel et al. 2004, Fazio et al. 2013, Sheikh & Ahmed 2016) και στη σχέση των ιχθύων με διαφορετικά περιβάλλοντα. Σύμφωνα με έρευνα του Fazio (2013) σε onshore και offshore συστήματα εκτροφής τσιπούρας, η διαφορετική θέση εγκατάστασης της μονάδας και η διαφορετική διαχείριση εκτροφής μεταβάλλουν τις αιματολογικές παραμέτρους. Επίσης, οι Filiciotto et al. (2013) απέδειξαν ότι ο θόρυβος του περιβάλλοντος χώρου μπορεί να επηρεάσει τις αιματολογικές παραμέτρους στην τσιπούρα. Όσον αφορά την τιλάπια του Νείλου, οι Mireia et al. (2013) παρατήρησαν από τη βιοχημεία του αίματος ότι υψηλές και χαμηλές θερμοκρασίες την επηρεάζουν και αποτελούν στρεσογόνο παράγοντα για το ψάρι.

Ένα αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό των ιχθύων είναι η μεγάλη ποικιλότητα που παρουσιάζουν στις αιματολογικές παραμέτρους (Kori – Siakpere et al. 2005). Παρά τον μεγάλο όγκο διαθέσιμων πληροφοριών στη βιβλιογραφία σχετικά με την αιματολογία των ψαριών, λίγες από τις μελέτες που έχουν διεξαχθεί αναφέρονται σε μια συγκριτική προσέγγιση που περιλαμβάνει ευρείες ταξινομικές ομάδες οστεϊχθύων. Τα διάφορα είδη έχουν πολύ διαφορετική ηθολογία διαβίωσης δεδομένου ότι βρίσκονται σε όλα τα γεωγραφικά μήκη και πλάτη του υδάτινου

οικοσυστήματος σε ενδαιτήματα με διαφορετικά ποιοτικά χαρακτηριστικά. Υπό αυτό το πρίσμα, δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι οι ιδιότητες του αίματος και τα χαρακτηριστικά των κυττάρων του ποικίλλουν ανάλογα με τις μεταβολικές απαιτήσεις και τον τρόπο πρόσληψης του οξυγόνου (O₂) και αποβολής του διοξειδίου του άνθρακα (CO₂) του οργανισμού (Muus, 1999). Οι πιο δραστήριες πελαγικές μορφές οστεϊχθύων και καρχαριών είχαν υψηλότερες τιμές αιματολογικών παραμέτρων από τα λιγότερο δραστήρια είδη. Αυτό τους επιτρέπει να αντιμετωπίσουν τις αυξημένες απαιτήσεις σε οξυγόνο. Για παράδειγμα τα είδη της υπόταξης *Scombroidei* που είναι πιο δραστήρια, θα πρέπει να έχουν πολύ υψηλότερη ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου του αίματος συγκριτικά με λιγότερο δραστήρια είδη, όπως εκείνα που ανήκουν στη τάξη των *Lophiiformes*. Αξίζει να σημειωθεί ότι η ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου αποτελείται από το διαλυμένο οξυγόνο στο αίμα συν το οξυγόνο που δεσμεύεται από την αιμοσφαιρίνη, την αναπνευστική χρωστική των ερυθρών αιμοσφαιρίων που αυξάνει την ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου του αίματος έως και σαράντα (40) φορές (Sadler et al., 2000). Σε αρκετούς ιχθύς της Ανταρκτικής της οικογένειας *Channichthyidae* (υπόταξη *Notothernioidei*) η αιμοσφαιρίνη του αίματος βρίσκεται σε ιδιαίτερα χαμηλά επίπεδα (Hureau et al. 1977). Σε αυτή τη περίπτωση, όλο το οξυγόνο που φτάνει στους ιστούς βρίσκεται διαλυμένο στο αίμα, το οποίο έχει την ίδια ικανότητα μεταφοράς οξυγόνου με το θαλασσινό νερό, δηλαδή περίπου 0,7% κατ' όγκο σε σύγκριση με το 8% κατ' όγκο των ιχθύων που έχουν αιμοσφαιρίνη. Η αιμοσφαιρίνη απουσιάζει και από τα ατελή ιχθύδια πολλών οστεϊχθύων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν οι λεπτοκέφαλοι των χελιών (Bone και Moore, 2009). Σε αυτές τις περιπτώσεις, η αιμοσφαιρίνη εμφανίζεται αργότερα κατά την ανάπτυξη τους. Άρα, ο αριθμός και η μορφολογία των ερυθροκυττάρων μπορούν να χρησιμοποιηθούν και για τον χαρακτηρισμό

διαφορετικών στρατηγικών των ιχθυοπληθυσμών σε σχέση με τη μεταβολική απαίτηση σε οξυγόνο. Η μεταφορά οξυγόνου στο θαλασσινό νερό πραγματοποιείται με ταχύτερους ρυθμούς από ότι στο γλυκό νερό και αυτό συνεπάγεται εκφυλισμό (degeneration) μέρους των ερυθρών αιμοσφαιρίων με αποτέλεσμα αυξημένη ερυθροποίηση (erythropoiesis) (Bone και Moore, 2009). Με εξαίρεση μικρές διακυμάνσεις και διαφορές στις τιμές και τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των κυττάρων του αίματος, οι ιχθύες των εσωτερικών υδάτων δεν διαφέρουν σημαντικά από τους ιχθύες του θαλάσσιου περιβάλλοντος στην βιολογία ή την εμφάνιση (Muus, 1999). Είναι γνωστό από το 1933 (Wintrobe) ότι το μέγεθος των ερυθροκυττάρων αντανακλά τη θέση των ειδών στην φυλογενία των σπονδυλωτών. Επίσης, ποικίλλοι περιβαλλοντικοί παράγοντες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στον καθορισμό του μεγέθους τους (Altman & Dittmer, 1961). Για παράδειγμα, όταν το ψάρι βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα οξυγόνου επηρεάζεται το κυκλοφορικό σύστημα και προκαλείται αναπνευστικό στρες που μπορεί να μεταβάλλει τη μορφολογία του ερυθροκυττάρου (Brown 1993). Οι διαφορές στη μορφομετρία μπορεί να προκληθούν και από διαλυμένα αέρια.

Η αναλογία του όγκου των ερυθροκυττάρων με την επιφάνεια είναι καθοριστικός παράγοντας για τους ιστούς. Οι Lay & Baldwin (1994) διαπίστωσαν την αντίστροφη σχέση μεταξύ του μεγέθους των ερυθροκυττάρων και της αερόβιας ικανότητας κολύμβησης στους οστεϊχθύες. Εξηγούν ότι υψηλότερη αναλογία επιφάνειας προς όγκο σε μικρότερα κύτταρα καταλήγει σε μικρότερη απόσταση διάχυσης και επιτρέπει ταχύτερη μεταφορά οξυγόνου. Επομένως μικρά ερυθροκύτταρα προσφέρουν τη δυνατότητα υψηλότερου ρυθμού ανταλλαγής αερίων από ότι τα μεγαλύτερα (Hartman & Lessler 1964, Sevinch et al. 2000, Motlagh et al. 2012). Συνεπώς το μέγεθος του ερυθροκυττάρου μπορεί να μεταβληθεί σε συνάρτηση με την

ποσότητα οξυγόνου που περιέχει το υδάτινο περιβάλλον διαβίωσης. Όσον αφορά τους μικροπυρηνίσκους, βρίσκονται σε υψηλότερες συχνότητες σε ερυθροκύτταρα ιχθύων που προέρχονταν από πιο μολυσμένα σημεία (Bagdonas et al. 2003). Σε συνθήκες υδατοκαλλιέργειας οι τιμές των παραμέτρων των ερυθροκυττάρων μπορεί να επηρεαστούν από το σύστημα εκτροφής, τους στρεσογόνους παράγοντες ή τους διατροφικούς παράγοντες. Από μελέτη της Witeska (2013) διαπιστώθηκε ότι τα ερυθροκύτταρα των ιχθύων είναι ευαίσθητα στην περιβαλλοντική ρύπανση και η μορφολογική τους αξιολόγηση μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης τοξικότητας.

Όσον αφορά το μέγεθος των ερυθρών αιμοσφαιρίων, οι χονδριχθύες έχουν μεγαλύτερα ερυθροκύτταρα από τους τελεόστεους (Dica et al. 1983). πιο συγκεκριμένα, οι ελασμοβράγχιοι (*Elasmobranchii*) όπως οι *Selachii* και οι *Botoidea* έχουν συνήθως ερυθροκύτταρα μεγαλύτερου μεγέθους. Τα είδη *Tilapia galilea* και *Tilapia aurea* έχουν κύτταρα οβάλ σχήματος και το είδος *Tilapia zilli* έχει κύτταρα σχεδόν στρογγυλού σχήματος (Badawi & Said 1971). Τα ερυθροκύτταρα των *O. niloticus* και *Clarias sp.* είναι επιμηκυσμένα (Najiah et al. 2008). Οι Jagoe & Welter (1995) διαπίστωσαν ότι το πυρηνικό μέγεθος και σχήμα επτά ειδών εσωτερικών υδάτων ποικίλλουν σημαντικά. Τα είδη που μελετήθηκαν είναι τα εξής: *Micropterus salmoides*, *Lepomis macrochirus*, *Esox niger*, *Perca flavescens*, *Gambusia holbrooki*, *Micropterus coosae*, *Oncorhynchus mykiss*.

Ο Hesser (1960) παρατηρώντας την κατανομή των διαφόρων ειδών λευκών αιμοσφαιρίων στην ιατρική, διαπίστωσε πως συχνά σχετίζεται με συγκεκριμένες ασθένειες και την πρότεινε ως μέθοδο για εφαρμογή στην ιχθυοπαθολογία. Οι Nussey et al. (1995) διαπίστωσαν πως η αλλαγή στις σχετικές αναλογίες μεταξύ των διαφόρων λευκοκυτταρικών τύπων αντικατοπτρίζει τις επιπτώσεις των περιβαλλοντικών συνθηκών και της ρύπανσης στους ιχθύες. Ωστόσο τέτοιου είδους

αποτελέσματα θα έχουν μεγαλύτερη αξία και χρησιμότητα αν περιλαμβάνουν δεδομένα που σχετίζονται με την ηλικία, το φύλο, την εποχή, την διατροφή και την θερμοκρασία του νερού (Nussey et al. 1995). Έκτοτε, πολλοί ερευνητές έχουν αποδείξει ότι τα λευκοκύτταρα των οστεϊχθύων είναι εξαιρετικά ευαίσθητα στις τοξικές ουσίες. Ο Lemly (2002) απέδειξε πως ο συνολικός αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων και των θρομβοκυττάρων επηρεάζεται σε μολυσμένα ενδαιτήματα.

Η διαφοροποίηση των λευκών αιμοσφαιρίων είναι μια διαδικασία που απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή και εμπειρία. Πολλές από τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για τα υπόλοιπα σπονδυλωτά συχνά δεν δίνουν ασφαλή αποτελέσματα όταν εφαρμόζονται σε επιχρίσματα αίματος ιχθύων. Από τη μελέτη των λευκών αιμοσφαιρίων έχει αποδειχθεί πως τα λεμφοκύτταρα και τα ηωσινόφιλα αυξάνονται ως αντίδραση σε ξένες πρωτεΐνες και παρασιτικές μολύνσεις (Nussey et al. 1995). Επίσης σύμφωνα με τους Chen et al. (2002) η μείωση του αριθμού των λεμφοκυττάρων μπορεί να θεωρηθεί ως απόκριση στο στρες. Τα μονοκύτταρα απουσιάζουν σε ορισμένα είδη όπως το χρυσόψαρο (Weinreb 1983) και η καφέ πέστροφα (Blaxhall & Daisley 1973) αλλά έχουν ταυτοποιηθεί σε πλήθος άλλων ειδών ιχθύων (Ferguson 1976, Parish et al. 1986). Ηωσινόφιλα λευκοκύτταρα έχουν παρατηρηθεί σε διάφορα είδη σολομού και στο χρυσόψαρο αλλά αναφέρονται σπάνια ή απουσιάζουν εντελώς από την ιριδιζούσα πέστροφα. Όπως συμβαίνει και στην περίπτωση των ηωσινόφιλων, οι αναφορές για τη παρουσία των βασεόφιλων στο αίμα των ιχθύων ποικίλλουν. Έχουν καταγραφεί σε χρυσόψαρο, σολομοειδή και κυπρινοειδή. Όσον αφορά τα ουδετερόφιλα, είναι τα πιο πολυάριθμα από τα κοκκιοκύτταρα, αν και ο αριθμός τους ποικίλλει από 1% έως 25% των λευκών αιμοσφαιρίων. Σε μερικά είδη όπως η γλώσσα ο πυρήνας είναι οβάλ ή στρογγυλός,

ενώ σε μερικά άλλα είδη, όπως τα σολομοειδή, τα ουδετερόφιλα έχουν πυρήνα με λοβούς.

Από έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί και έχουν εξετάσει τη μορφομετρία των ερυθρών αιμοσφαιρίων διαπιστώθηκε ότι διακυμάνσεις στις μετρήσεις δεν σχετίζονται με την προτίμηση των ιχθύων σε γλυκό ή θαλασσινό νερό (Veda et al., 2001). Παρατηρούνται αποκλίσεις στις τιμές των μετρήσεων μεταξύ των ειδών ανεξάρτητα από την αλατότητα του υδάτινου συστήματος διαβίωσης. Ωστόσο για την διεξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων απαιτείται μια συγκριτική μελέτη της μορφολογίας των ερυθροκυττάρων σε περισσότερα είδη εσωτερικών και θαλάσσιων υδάτων.

Στον Πίνακα 1 του Παραρτήματος παρουσιάζονται οι μορφολογικές μετρήσεις των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε δέκα (10) είδη εσωτερικών υδάτων και σε έντεκα (11) είδη θαλάσσιων υδάτων. Από τα συγκεκριμένα είδη εσωτερικών υδάτων, η μικρότερη επιφάνεια ερυθροκυττάρου είναι $53,2 \pm 2,57 \mu\text{m}^2$ στο γατόψαρο *Clarias sp.* Ακολουθεί το είδος *Pangasius sutchi* με μέγεθος ερυθροκυττάρου $57,8 \pm 3,57 \mu\text{m}^2$, το είδος *Mytus nemerus* με $58 \pm 2,1 \mu\text{m}^2$, το αμερικάνικο χέλι *Anguilla rostrata* με $68,64 \mu\text{m}^2$, ο κυπρίνος *Cyprinus carpio* με $68,99 \mu\text{m}^2$ και το χρυσόψαρο *Carassius auratus* με $83,45 \mu\text{m}^2$. Η μικρότερη επιφάνεια πυρήνα είναι $9,4 \pm 0,97 \mu\text{m}^2$ στο είδος *Pangasius sutchi* και ακολουθεί το γατόψαρο *Clarias sp.* με $9,7 \pm 1,65 \mu\text{m}^2$. Στο κυπρίνο *Cyprinus carpio* η επιφάνεια του πυρήνα είναι ίση με $9,90 \mu\text{m}^2$, στο αμερικάνικο χέλι *Anguilla rostrata* $10,37 \mu\text{m}^2$, στο είδος *Mytus nemerus* με $10,5 \pm 0,68 \mu\text{m}^2$ και στο χρυσόψαρο *Carassius auratus* είναι ίση με $17,28 \mu\text{m}^2$. Με εξαίρεση το χρυσόψαρο, όλα τα υπόλοιπα είδη δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους όσον αφορά την επιφάνεια του πυρήνα. Σε γενικές γραμμές, όσο μεγαλύτερο είναι το ερυθροκύτταρο τόσο μεγαλύτερος είναι ο πυρήνας που περιέχει. Για τα είδη *P.*

sutchi, *M. nemerus*, *Clarias sp.* βρέθηκε η αναλογία του μεγάλου προς το μικρό άξονα του ερυθροκυττάρου και η αναλογία της επιφάνειας του πυρήνα προς την επιφάνεια του κυτταροπλάσματος. Στο είδος *P. sutchi* η αναλογία του μεγάλου άξονα του ερυθροκυττάρου προς το μικρό άξονα είναι $1,1 \pm 0,04$. Ακολουθεί το *Clarias sp.* με αναλογία $1,2 \pm 0,04$ και το *M. nemerus* με $1,3 \pm 0,04$ με διαφορά μίας μονάδας. Η επιφάνεια του πυρήνα προς την επιφάνεια ολόκληρου του ερυθρού αιμοσφαιρίου είναι $0,2 \pm 0,37$ στο *P. sutchi*, $0,2 \pm 0,32$ στο *M. nemerus* και $0,2 \pm 0,34$ στο *Clarias sp.*

Για τους συγκεκριμένους ιχθύες θαλάσσιων υδάτων η επιφάνεια του ερυθροκυττάρου σε μm^2 κατά αύξουσα σειρά είναι η ακόλουθη: στο *Rastrelliger kanagurta* $51 \pm 7,5$, στο *Dicentrarchus labrax* $57,2 \pm 0,88$, στο *Mugil cephalus* $66 \pm 22,1$, στο *Megalops cyprinoides* $70 \pm 31,8$, στο *Lisa macrolepis* $72 \pm 5,6$, στο *Dicentrarchus labrax* $74,2 \pm 0,91$, στο *Caranx carangus* $78 \pm 9,1$, στο *Elops saurus* $107 \pm 6,7$, στο *Abudefduf sordidus* $107 \pm 8,8$, στο *Acanthurus gahw* $112 \pm 8,4$, στο *Abudefduf vaigiensis* $113 \pm 14,5$ και στο *Lutianus lutianus* $116 \pm 10,2$. Η επιφάνεια του πυρήνα των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε μm^2 κατά αύξουσα σειρά είναι η εξής: $10 \pm 2,3$ στο *C. carangus*, $18 \pm 3,1$ στο *L. macrolepis*, $18 \pm 4,6$ στο *L. lutianus*, $20 \pm 4,9$ στο *E. saurus*, $20 \pm 4,5$ στο *R. kanagurta*, $20 \pm 4,9$ στο *A. gahw*, $20 \pm 8,4$ στο *M. cyprinoides*, $21 \pm 5,4$ στο *A. vaigiensis*, $21 \pm 4,2$ στο *A. sordidus* και $22 \pm 11,6$ στο *M. cephalus*. Ο λόγος της επιφάνειας του πυρήνα προς την επιφάνεια ολόκληρου του ερυθροκυττάρου είναι ο εξής: $0,1 \pm 0,02$ στο *C. carangus*, $0,2 \pm 0,02$ στο *L. macrolepis*, $0,2 \pm 0,03$ στο *L. lutianus*, $0,2 \pm 0,03$ στο *E. saurus*, $0,4 \pm 0,09$ στο *R. kanagurta*, $0,2 \pm 0,07$ στο *A. gahw*, $0,3 \pm 0,05$ στο *M. cyprinoides*, $0,2 \pm 0,02$ στο *A. vaigiensis*, $0,2 \pm 0,02$ στο *A. sordidus* και $0,3 \pm 0,07$ στο *M. cephalus*.

Στον Πίνακα 2 του Παραρτήματος παρουσιάζεται η διαφοροποίηση των λευκών αιμοσφαιρίων του αίματος ιχθύων εσωτερικών και θαλάσσιων υδάτων σε λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα, ουδετερόφιλα, ηωσινόφιλα και βασεόφιλα σε ποσοστό επί τις εκατό (%). Από έρευνα των Berillis et al . (2016) σε λαβράκι *D. labrax* βρέθηκε ότι τα λεμφοκύτταρα αποτελούσαν το $88 \pm 1,1$ των λευκοκυττάρων και τα μονοκύτταρα το $1 \pm 0,5$ αυτών. Ουδετερόφιλα, βασεόφιλα και ηωσινόφιλα απουσίαζαν εντελώς από επιχρίσματα αίματος του συγκεκριμένου είδους. Από τα είδη εσωτερικών υδάτων που παρουσιάζονται στον Πίνακα 2, βασεόφιλα βρέθηκαν μόνο στα ιχθύδια των οξύρρυγχων *Acipenser stellatus*, *Acipenser gueldenstaedtit* και *Acipenser baerri* και αποτελούσαν τη μειονότητα των λευκών αιμοσφαιρίων. Πιο συγκεκριμένα, το ποσοστό επί τις εκατό (%) των λευκοκυττάρων είναι $1 \pm 0,4$ λεμφοκύτταρα, $0,2 \pm 0,08$ μονοκύτταρα, $0,1 \pm 0,03$ ουδετερόφιλα, $0,1 \pm 0,01$ βασεόφιλα και $1,4 \pm 0,96$ ηωσινόφιλα για το ιχθύδιο *A. stellatus* , $5,9 \pm 4,99$ λεμφοκύτταρα, $0,3 \pm 0,06$ μονοκύτταρα, $0,1 \pm 0,07$ ουδετερόφιλα, $0,1 \pm 0,01$ βασεόφιλα και $1 \pm 1,0$ ηωσινόφιλα για το ιχθύδιο *A. gueldenstaedtit* και $15,7 \pm 9,55$ λεμφοκύτταρα, $0,3 \pm 0,06$ μονοκύτταρα, $0,1 \pm 0,07$ ουδετερόφιλα, $0,7 \pm 0,03$ βασεόφιλα και $0,2 \pm 0,18$ ηωσινόφιλα για το ιχθύδιο *A. baerri*. Το ποσοστό των μονοκύτταρων, ουδετερόφιλων και βασεόφιλων στα ιχθύδια των συγκεκριμένων οξύρρυγχων διαφέρουν ελάχιστα μεταξύ τους, σε αντίθεση με το ποσοστό των λεμφοκυττάρων και ηωσινόφιλων που παρουσιάζουν μεγαλύτερες αποκλίσεις. Οι Nussey et al. (1995) χρησιμοποιώντας δύο άτομα της τιλάπιας *Oreochromis mossambicus* βρήκαν τα εξής ποσοστά (%): $69,5 \pm 1,77$ και $67,6 \pm 3,41$ λεμφοκύτταρα, $21,5 \pm 3,32$ και $22,6 \pm 3,21$ μονοκύτταρα, $7,8 \pm 1,80$ και $8,4 \pm 1,73$ ουδετερόφιλα, $1,2 \pm 0,83$ και $1,4 \pm 0,62$ ηωσινόφιλα. Βασεόφιλα δε βρέθηκαν στα επιχρίσματα αίματος. Οι Humed et al. (2019) μελετώντας ιχθύδια *O. niloticus* βρήκαν

τα εξής ποσοστά (%): $88 \pm 0,4$ και $88 \pm 0,2$ λεμφοκύτταρα, $3 \pm 0,2$ και $4 \pm 0,2$ μονοκύτταρα, $7 \pm 0,3$ και $6 \pm 0,2$ ουδετερόφιλα, $2 \pm 0,01$ ηωσινόφιλα και για τα δύο άτομα. Βασεόφιλα απουσίαζαν από τα επιχρίσματα αίματος. Όσον αφορά την τιλάπια του Νείλου που εξετάστηκε στη παρούσα διατριβή, υπάρχουν διαφοροποιήσεις στα ποσοστά των λευκών αιμοσφαιρίων μεταξύ των ερευνητών. Παρ' όλα αυτά, όλοι συμφωνούν ότι δεν εμφανίζονται βασεόφιλα σε ιχθύδια και σε ενήλικα άτομα *O. niloticus*. Πιο αναλυτικά, τα ποσοστά (%) σε ενήλικες τιλάπιες του Νείλου είναι τα ακόλουθα: $57 \pm 9,4$ λεμφοκύτταρα, $30 \pm 5,3$ μονοκύτταρα, $13 \pm 4,7$ ουδετερόφιλα από τους Martius et al. (2009) και $82,2 \pm 15,08$ λεμφοκύτταρα, $5,2 \pm 6,22$ μονοκύτταρα, $10,8 \pm 8,57$ ουδετερόφιλα από τους Milan et al. (2013). Οι Galagarza et al. (2018) μελετώντας δύο (2) άτομα του είδους βρήκαν $82,8$ και $88,9$ λεμφοκύτταρα, $8,33$ και $3,92$ μονοκύτταρα, $8,58$ και $6,92$ ουδετερόφιλα και $0,25$ ηωσινόφιλα. Τέλος, οι Alaa et al. (2018) μελετώντας έξι (6) άτομα του είδους βρήκαν $56 \pm 5,6$, $57 \pm 4,9$, $60 \pm 4,5$, $59 \pm 4,6$, $59 \pm 5,2$ και $60 \pm 4,2$ λεμφοκύτταρα, $4,9 \pm 1,66$, $5,6 \pm 1,83$, $8,1 \pm 2,96$, $10,5 \pm 3,24$, $13,1 \pm 4,08$ και $14,5 \pm 4,06$ μονοκύτταρα, $36,8 \pm 5,44$, $35,2 \pm 4,26$, $30,1 \pm 4,49$, $28,2 \pm 3,97$, $25,6 \pm 5,02$ και $24,2 \pm 4,12$ ουδετερόφιλα, $1,9 \pm 1,01$, $2,2 \pm 0,79$, $2,2 \pm 0,87$, $1,2 \pm 0,72$, $1,8 \pm 0,87$ και $1,8 \pm 0,95$ ηωσινόφιλα.

Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας επιβεβαιώνουν εν μέρει τα δεδομένα της υπάρχουσας βιβλιογραφίας. Πιο αναλυτικά, αξιοσημείωτη είναι η απουσία των βασεόφιλων τόσο από τις προαναφερθείσες έρευνες όσο και από την συγκεκριμένη. Επίσης, το ποσοστό επί τοις εκατό (%) για κάθε τύπο λευκού αιμοσφαιρίου των τιλαπιών που εξετάσαμε δεν παρουσιάζει μεγάλες αποκλίσεις από τις τιμές των υπόλοιπων ερευνητών, είτε αφορά ιχθύδια ή ενήλικα άτομα, και συμπίπτει σε μεγαλύτερο βαθμό, σχεδόν πλήρους ταύτισης, με τους Milan et al. (2013). Βασεόφιλα απουσίαζαν και από ενήλικα άτομα *Oreochromis mossambicus* σύμφωνα με τους

Nussey et al. (1995). Συγκρίνοντας τα με άτομα *O. niloticus* διαπιστώνουμε ότι δεν υπάρχουν αισθητές διαφορές στο ποσοστό των λευκών αιμοσφαιρίων και στην παρουσία συγκεκριμένων τύπων που εμφανίζονται πιο σπάνια, όπως είναι τα βασεόφιλα και τα ηωσινόφιλα. Παρ' όλα αυτά, ένας μεγαλύτερος αριθμός ερευνών και δειγμάτων ατόμων του γένους *Oreochromis spp.* θα μπορούσε να οδηγήσει σε ασφαλέστερα αποτελέσματα κατά την σύγκριση των ατόμων του γένους και να αμβλύνει τυχόν ακραίες αποκλίσεις των αιματολογικών τιμών.

Συμπερασματικά, είναι γεγονός ότι οι αιματολογικές παράμετροι είναι άρρηκτα συνδεδεμένες με την ανταπόκριση των ιχθύων σε βιολογικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Ο έλεγχος των ασθενειών και η παρακολούθηση της υγείας των εκτρεφόμενων ιχθύων βασίζεται στους αιματολογικούς δείκτες των οργανισμών. Τα κύτταρα του αίματος συγκαταλέγονται στους πιο σημαντικούς δείκτες καθώς παρέχουν συμπληρωματικά πληροφορίες σχετικές με την ποιότητα των υδάτων και την ύπαρξη ή μη ρυπογόνων ουσιών στο περιβάλλον διαβίωσης.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης ενισχύουν και επιβεβαιώνουν εν μέρει την υπάρχουσα βιβλιογραφία που αφορά τον αριθμό και τη μορφολογία των ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων στο αίμα τιλάπιας. Στόχος είναι η δημιουργία βάσεων αιματολογικών δεδομένων για οικονομικά σημαντικά είδη όπως η τιλάπια του Νείλου για την εύρεση ενός φυσιολογικού εύρους διακύμανσης.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξένη Βιβλιογραφία

Abbas H., El-Badawi A. (2014) Use of hematological and biochemical parameters and histological changes to assess the toxicity of drumstick tree (*Moringa oleifera*) seeds extract on Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fish. Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries, 18:21-40

Abdel-Khalek A., Badran S., Marie M.A. (2016) Toxicity evaluation of copper oxide bulk and nanoparticles in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, using hematological, bioaccumulation and histological biomarkers. Fish Physiology and Biochemistry, 42:1225-1236

Acar Ü., İnanan B., Zemheri F., Kesbic O., Yilmaz S. (2018) Acute exposure to boron in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Median-lethal concentration (LC₅₀), blood parameters, DNA fragmentation of blood and sperm cells. Chemosphere, 213:345-350

Adedeji O.B., Taiwo V.O., Agbede S.A. (2000) Comparative haematology of five Nigerian freshwater fish species. Nigerian Veterinary Journal, 21:75-84

Adewoyin A.S, Nwodoh B. (2014) Peripheral blood film: A review. Annals of Ibadan Postgraduate Medicine, 12:71-79

Ahmed I., Sheikh Z.A. (2020) Comparative study of hematological parameters of snow trout *Schizopyge plagiostomus* and *Schizopyge niger* inhabiting two different habitats. The European Zoological Journal, 87: 12-19

Alla O., Khaled A., Abd El-Baset M., Abd El. R., Usama M., Werner K., Mohsen M. (2018) Blood biomarkers in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* and African catfish

Clarias glaripinus to evaluate water quality of the river Nile. Journal of Fisheries Sciences, 12:1-15

Aly S.M., Mohamed M.F., John G. (2008) Effect of probiotics on the survival, growth and challenge infection in Tilapia nilotica (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture Research, 39:647-656

Ates M., Demir V., Arslan Z., Kaya H., Yilmaz S., Camas M. (2016) Chronic exposure of tilapia (*Oreochromis niloticus*) to iron oxide nanoparticles: Effects of particle morphology on accumulation, elimination, hematology and immune responses. Aquatic Toxicology, 177:22-32

Badawi H.K., Said M.M. (1971) A comparative study of the blood of four Tilapia species (Pisces). Marine Biology, 8:202-204

Bagdonas E., Bukelskis E., Lazutka J. (2003) Frequency of micronucleated erythrocytes in wild fish from natural freshwater bodies. Ekologija, 1:67-71

Berillis P., Mente E., Nikouli E., Makridis P., Grundvig H., Bergheim A., Gausen M. (2016) Improving aeration for efficient oxygenation in sea bass sea cages. Blood, brain and gill histology. Open Life Sciences, 11:270-279

Beveridge M.C.M., Haylor G.S. (1998) Warm-water farmed species. In: Black K., Pichering A. (eds) Biology of Farmed Fish. Sheffield Academic Press, Sheffield, p:387-388

Bittencourt N.L.R., Molinari L.M., Scoaris D.O., Pedroso R.B., Nakamura C.V., Veda-Nakamura T., Filho B.A.A., Filho B.P.D. (2003) Haematological and biochemical values for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in semi-intensive system. Acta Scientiarum Biological Sciences, 25:385-389

Black M. (2000) Blood collection. In: Ostrander G. (eds) The laboratory fish. Academic Press, London, p:513-516

Blaxhall B.C., Daisley K.W. (1973) Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*, 5:771-781

Blaxhall P (1972) The haematological assessment of the health of freshwater fish: A review of selected literature. *Journal of Fish Biology*, 4:593-604

Chen C-Y., Wooster G., Bowser P., (2004) Comparative blood chemistry and histopathology of tilapia infected with *Vibrio vulnificus* or *Streptococcus iniae* or exposed to carbon tetrachloride, gentamicin, or copper sulfate. *Aquaculture*, 239:421-443

Corbel M.J. (1975) The immune response in fish: A review. *Journal of Fish Biology*, 7:539-563

Corrêa S.A., Abessa D.M., Santos L.G., Silva E.B., Seriani R. (2017) Differential blood counting in fish as a non-destructive biomarker of water contamination exposure. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 99:482-491

Doggett T.A., Harris J.E.(1988) Ultrastructure of the peripheral blood leucocytes of *Oreochromis mossambicus*. *Journal of Fish Biology*, 33:747-756

Dotta G., Ledic-Neto J., Goucalves E.L.T. Brum A., Maraschin M., Martius M.L. (2015) Acute inflammation and hematological response in Nile tilapia fed supplemented diet with natural extracts of propolis and *Aloe barbadensis*. *Brazilian Journal of Biology*, 75:491-496

Effendi H., Wahyuningsih S., Wardiatuo Y. (2017) The use of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultivation wastewater for the production of romaine lettuce (*Lactuca sativa L. var. longifolia*) in water recirculation system. Applied Water Science, 7:3055-3063

El-Sherif M.S., El-Feky A. (2008) Effect of ammonia on Nile tilapia (*O. niloticus*) performance and some hematological and histological measures. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture. Cairo, p:513-530

Ezzat A.A., Shabana M.M., Farghaly A.M. (1974) Studies on the blood characteristics of Tilapia zilli (Gervais). Journal of Fish Biology, 6:1-12

Fagio F., Marafioti S., Filiciotto F., Buscaino G., Panzera M., Faggio C. (2013) Blood hemogram profiles of farmed onshore and offshore gilthead sea bream (*Sparus aurata*) from Sicily, Italy. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 13:415-422

Fazio F. (2019) Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. Aquaculture, 500:237-242

Fazio F. (2019) Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. Aquaculture, 500:237-242

Fazio F., Marafioti S., Arfuso F., Piccione G., Faggio C. (2013) Comparative study of the biochemical and haematological parameters of four wild Tyrrhenian fish species. Veterinarui Medicina, 58:576-581

Fazio F., Marafioti S., Arfuso F., Piccione G., Faggio C. (2013) Influence of different salinity on haematological and biochemical parameters of the widely cultured mullet, *Mugil cephalus*. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, 46:211-218

- Fazio F., Saoca C., Acar Ü., Tezel R., Çelik M., Yilmaz S., Kesbic O.S., Yalgin F., Yiğit M. (2020) A comparative evaluation of hematological and biochemical parameters between the Italian mullet *Mugil cephalus* (Linnaeus 1758) and the Turkish mullet *Chelon auratus* (Risso 1810). *Turkish Journal of Zoology*, 44: 22-30
- Filho D.W., Eble G.J., Kassner G., Caprario F.X., Dafré A.L., Ohira M. (1992) Comparative hematology in marine fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 102:311-321
- Filho D.W., Eble G.J., Kassner G., Caprario F.X., Dafré A.L., Ohira M. (1992) Comparative hematology in marine fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 102:311-321
- Fournie J., Krol R., Hawkins W. (2000) Purpose and principles of fixation. In: Ostrander G. (eds) *The laboratory fish*. Academic Press, London, p:570
- Galagarza O., Smith S., Drahos D., Eifert J., Willimas R., Kuhn D (2018) Modulation of innate immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by dietary supplementation of *Bacillus subtilis* endospores. *Fish and Shellfish Immunology*, 83:171-179
- Genten F., Terwinghe E., Danguy A. (2009) Cardiovascular system and blood. In: Genten F., Terwinghe E., Danguy A. (eds) *Atlas of Fish Histology*. Science publishers, New Hampshire, p:47-49
- Getinet G. (2008) Effects of maternal age on fecundity, spawning interval and egg quality of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of the World Aquaculture Society*, 39:671-677

Gultepe N., Sazykina M., Sazykin I., Sonmez A.Y, Khmelectsova L., Khammami M. (2017) Comparative study of haematological parameters of three sturgeon species in recirculating aquaculture system. *Indian Journal of Fisheries*, 64:87-90

Hamed M., Soliman H., Alaa O., Alaa El-Din S (2019) Assessment the effect of exposure to microplastics in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) early juvenile:I. blood biomarkers. *Chemosphere*, 228:345-350

Hiremath P.S., Bannigidad P., Geeta S. (2010) Automated identification and classification of white blood cells (leukocytes) in digital microscopic images. *IJCA Special Issue on "Recent Trends in Image Processing and Pattern Recognition"*, RTIPPR, p:59-63

Houston A. (1990) Blood and circulation. In: Schreck C., Moyle P. (eds) *Methods for fish biology*. American Fisheries Society, Maryland, p:273-276

Hrubec T., Cardinale J., Sith S. (2002) Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured tilapia (*Oreochromis hybrid*). *Veterinary Clinical Pathology*, 29:7-12

Igwela K., Ahmad A., Abol- Munafi A. (2012) Haematological changes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed with varying dietary maltose levels. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 4:376-381

Ishikawa N.M., Ranzani-Paiva M.J.J., Lombardi J.V. (2008) Total leukocyte counts methods in fish, *Oreochromis niloticus*. *Archives of Veterinary Science*, 13:54-63

Ishikawa N.M., Ranzani-Paiva M.J.T., Lombardi J.V., Ferreira C.M. (2007) Hematological parameters in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* exposed to sub-lethal

concentrations of mercury. Brazilian Archives of Biology and Technology, 50:619-626

Ispir U., Yonar M.E., Oz O.B. (2011) Effect of dietary vitamin E supplementation on the blood parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). The Journal of Animal and Plant Sciences, 21(3):566-569

Jing-Wen B., Jun Q., Yi-Fan T., Hong-Xia L., Jie H., Pao X., De-Ju C. (2018) Responses of blood biochemistry, fatty acid composition and expression of microRNAs to heat stress in genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Thermal Biology, 73:91-97

Kierman J.A. (2003) Staining blood and other cell suspensions. In: Kierman J.A. (eds) Histological and histochemical methods, theory and practice. Arnold, London, p:132-141

Kreinberg H. (2000) Anesthesia. In: Ostrander G. (eds) The laboratory fish. Academic Press, London, p:506

Laith A.A., Mazlan A.G., Effendy A.W., Ambak M.A., Nurhafizah W.W.I., Alia A.S., Jabar A., Najiah M. (2017) Effect of *Excoecaria agallocha* on non-specific immune responses and disease resistance of *Oreochromis niloticus* against *Streptococcus agalactiae*. Research in Veterinary Science, 112:192-200

Larsson A., Johansson-Sjöbeck M.L., Fänge R. (1976) Comparative study of some haematological and biochemical blood parameters in fishes from the Skagerrak. Journal of Fish Biology, 9:425-440

Leyva C., Engle C. (2008) Optimizing Tilapia, *Oreochromis sp.*, marketing strategies in Nicaragua: A mixed integer transshipment model analysis. Journal of the World Aquaculture Society, 39:339-350

Lim C., Garcia J., Yildirim-Aksoy M., Klesius P., Shoemaker C., Evans J. (2007) Growth response and resistance to *Streptococcus iniae* of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, fed diets containing distiller's dried grains with soluble. Journal of the World Aquaculture Society, 38:231-237

Long L., Yang J., Li Y., Guan C., Wu F. (2015) Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 448:135-141

Lourenco K.G., Claudiano G.S., Eto S.F., Aguinaga J.Y., Marcusso P.F., Salvador R., Moraes J.R.E., Moraes F.R. (2014) Hemoparasite and hematological parameters in Nile tilapia. Comparative Clinical Pathology, 23:437-441

Lulijwa R., Alfara A., Merien F., Meyer J., Young T. (2019) Advances in salmonid fish immunology: A review of methods and techniques for lymphoid tissue and peripheral blood leucocyte isolation and application. Fish and Shellfish Immunology, 95:44-80

Lynch E.C. (1990) Peripheral Blood Smear. In: Walker H.K., Hall W.D., Hurst J.W. (eds) Clinical Methods: The history, physical and laboratory examinations. Butterworths, Boston, p:732-734

Martius M., Vieira F., Jerônimo G., Mourino J., Dotta G., Speck G., Bezerra A., Pedrotti F., Buglione-Neto C., Pereira J.G. (2009) Leukocyte response and phagocytic

activity in Nile tilapia experimentally infected with *Enterococcus sp.* Fish Physiology and Biochemistry, 35:219-222

Mauel M., Miller D., Merrill A. (2007) Hematologic and plasma biochemical values of healthy hybrid Tilapia (*Oreochromis aureus* x *Oreochromis nilotica*) maintained in a recirculating system. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 38:420-424

Millan D.C., Shiogiri N.S., da Silva de Souza N.E., da Silva H.R., Fernandes M.N. (2013) Ecotoxicity and haematological effects of a natural insecticide based on tobacco (*Nicotiana tabacum*) extract on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Acta Scientiarum Biological Sciences, 35:157-162

Mirea C., Cristea V., Grecu R.I., Dediu L., Ion V. (2013) Hematological and biochemical characterization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) reared intensively in a recirculating aquaculture system in relation to water temperature. Animal Science and Biotechnologies, 46:234-237

Mirea C., Cristea V., Grecu R.J., Dediu L., Ion V. (2013) Haematological and biochemical characterization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758) reared intensively in a recirculating aquaculture system in relation to water temperature. Animal Science and Biotechnologies, 46:234-237

Najiah M., Nadirah M., Marina H., Lee S.W., Nazaha W.H. (2008) Quantitative comparisons of erythrocyte morphology in healthy freshwater fish species from Malaysia. Research Journal of Fisheries and Hydrobiology, 3:32-35

Narijani E., Nasimolo J., Kigadye E., Gnonlontin G.T.B., Okoth S. (2017) Sex-related differences in hematological parameters and organosomatic indices of *Oreochromis niloticus* exposed to aflatoxin B₁ diet. Hindawi Scientifica, 2017:1-7

Nussey G., van Vuren J.H.J., du Preez H.H (1995). Effect of copper on the differential white blood cell counts of the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 111:381-388

Obirikorang K.A., Agbo N.W., Obirikorang C., Adjei-Búateng D., Ahiave S.E., Skov P.V. (2019) Effects of water flow rates on growth and welfare of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in a recirculating aquaculture system. *Aquaculture International*, 27:449-462

Okomoda V.T., Koh I.C., Hassan A., Amornsakun T., Khairul A.B., Rajamad R.Y., Shuhaiwi A.D., Shafiq M.R., Shahreza M.S. (2018) Erythrocyte characteristics of the progenies of pure and reciprocal crosses of *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878) and *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Comparative Clinical Pathology*, 27:301-312

Oliveira A., Quara de C., Santos M., Araújo L.J., Lemos J.R., Rejane S.de Sales P., Aride R.H., Pantoja-Lima J., Tavares-Dias M., Marcon L.J. (2016) Hematological parameters of three freshwater stingray species (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) in the middle Rio Negro, Amazonas state. *Biochemical Systematics and Ecology*, 69 : 33-40

Oluwatobi O.T., Solomon R.J. (2017) Hematological analysis of *Clarias gariepinus* and *Oreochromis niloticus* from Gwagwalada market, Abuja, Nigeria. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2:56-61

Palhares D., Grisolia C.K. (2002) Comparison between the micronucleus frequencies of kidney and gill erythrocytes in tilapia fish, following mitomycin C treatment. *Genetics and Molecular Biology*, 25:281-284

Palikova M., Kopp R., Mareš J., Navrátil S., Kubiček Z., Chmelař L., Band'ouchová H., Pikula J. (2010) Selected haematological and biochemical indices of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in the environment with cyanobacterial water bloom. Acta Veterinaria Brno, 79:563-571

Parrino V., Cappello T., Costa G., Cannava C., Sanfilippo M., Fazio F., Fasulo S. (2018) Comparative study of haematology of two teleost fish (*Mugil cephalus* and *Carassius auratus*) from different environment and feeding habits. The European Zoological Journal, 85:193-199

Parrino V., Cappello T., Costa G., Cannava C., Sanfilippo M., Fazio F., Fasulo S. (2018) Comparative study of haematology of two teleost fish (*Mugil cephalus* and *Carassius auratus*) from different environments and feeding habits. The European Zoological Journal, 85 : 193-199

Qiang J., Yang H., Wang H., Kpundeh M., Xu P (2013) Interacting effects of water temperature and dietary protein level on hematological parameters in Nile tilapia juveniles, *Oreochromis niloticus* (L.) and mortality under *Streptococcus iniae* infection. Fish and Shellfish Immunology, 34:8-16

Rahman A.A., Hassanin M., El-Hdy M. (2019) Growth performance, haematology and intestinal histomorphology of Nile tilapia fed on Indian Lotus (*Nelumbo nucifera Gaertn*) leaf powder at different concentrations. Aquaculture Research, 50:3211-3222

Rambhaskar B., Srinivasa R.K. (1987) Comparative haematology of ten species of marine fish from Visakhapatnam Coast. Journal of Fish Biology, 30:59-60

Ranzani – Paiva M.J.T., Ishikawa C.M., das Eiras A.C., da Silveira V.R. (2004) Effects of an experimental challenge with *Mycobacterium marinum* on the blood

parameters of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). Brazilian Archives of Biology and Technology, 47:945-953

Reda R., Mahmoud R., Selim K., El-Araby I. (2016) Effects of dietary acidifiers on growth, hematology, immune response and disease resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish and Shellfish Immunology, 50:255-262

Reda R.M., Mahmoud R., Selim K.M., El-Araby I.E. (2016) Effects of dietary acidifiers on growth, hematology, immune response and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish and Shellfish Immunology, 50:255-262

Roy B., Nath S. (2011) Some haematological investigations on (*Oreochromis niloticus*)(Trewavas) following exposure to Thiamethoxam. Acta Zoologica Lituanica, 21:301-305

Sado R.Y., Gimbo R.Y., Salles F.B. (2016) Routes of β -glucan administration affect hematological and immune responses of *Oreochromis niloticus*. Archivos de Zootecnia, 65:519-524

Sarrafzadeh O., Rabbani H., Talebi A., Yousefi-Banaem H. (2014) Selection of the best features for leukocytes classification in blood smear microscopic images. Proceedings of the International Society for Optical Engineering. Volume 9041, San Diego, 10.1117/12.2043605

Satheeshkumar P., Ananthan G., Senthilkumar D., Khan A.B., Jeevanantham K. (2012) Comparative investigation on haematological and biochemical studies on wild marine teleost fishes from Vellar estuary, southeast coast of India. Comparative Clinical Pathology, 21:275-281

Shalaby A.M., Khattab Y.A., Abdel R.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

Silva L.T., Pereira U., Oliveira H.M., Brasil E.M., Pereira S.A., Chagas E.C., Jesus G.F., Cardoso L., Mourino J.L., Martino M.L. (2019) Hemato-immunological and zootechnical parameters of Nile tilapia fed essential oil of *Mentha piperita* after challenge with *Streptococcus agalactiae*. Aquaculture, 506:205-211

Sneddon L. (2012) Clinical anesthesia and analgesia in fish. Journal of Exotic Pet Medicine, 21:32-43

Souza E.M., Souza R.C., Melo J., Costa M., Souza A.M., Copatti C. (2019) Evaluation of the effects of *Ocimum basilicum* essential oil in Nile tilapia diet: growth, biochemical, intestinal enzymes, haematology, lysozyme and antimicrobial challenges. Aquaculture, 504:7-12

Stathopoulou P., Berillis P., Levizou E., Sakellariou-Makrantonaki M., Kormas A.K., Angelaki A., Kapsis P., Vlahos N., Mente E. (2018) Basil and Nile tilapia production in a small scale aquaponic system. Journal of Fisheries Sciences, 12:1-3

Summerfelt R., Smith L. (1990) Anesthesia, surgery and related techniques. In: Schreck C., Moyle P. (eds) Methods for fish biology. American Fisheries Society, Maryland, p:213-214

Thummabancha K., Onparn N., Srisapoome P. (2016) Analysis of hematologic alterations, immune responses and metallothionein gene expression in Nile tilapia

(*Oreochromis niloticus*) exposed to silver nanoparticles. Journal of Immunotoxicology, 13:909-917

Tran-Duy A., Schrama J., van Dam A., Verreth J. (2008) Effects of oxygen concentration and body weight on maximum feed intake, growth and hematological parameters of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture, 275:152-162

Van Vuren J.H.J., Hattingh J. (1978) A seasonal study of the haematology of wild freshwater fish. Journal of Fish Biology, 13:305-313

Vazirzadeh A., Dehghan F., Kazsemeini R. (2017) Changes in growth, blood immune parameters and expression of immune related genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to diet supplemented with *Ducrosia anethifolia* essential oil. Fish and Shellfish Immunology, 69:164-172

Veda I., Egami I., Sasso W., Matushima E. (2001) Cytochemical aspects of the peripheral blood cells of *Oreochromis* (Tilapia) *niloticus* (Linnaeus, 1758) (Cichlidae, Teleostei) – Part II. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Sciences, 38:273-277

Wells R.M.G., Ashby M.D., Duncan S.J., Macdonald J.A. (1980) Comparative study of the erythrocytes and haemoglobins in nototheniid fishes from Antarctica. Journal of Fish Biology, 17:517-527

Wells R.M.G., Tetens V., Devries A.L. (1984) Recovery from stress following capture and anaesthesia of Antarctic fish: haematology and blood chemistry. Journal of Fish Biology, 25:567-576

Wepener V., Van Vuren J.H.J., Du Preez H.H. (1992) Effect of manganese and iron at a neutral and acidic pH on the haematology of the Banded tilapia (*Tilapia sparrmanii*). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 49:613-619

Witeska M. (2013) Erythrocytes in teleost fishes: A review. Zoology and Ecology, 23:275-281

Yuji S.R., Almeida Bicudo A.J. (2008) Feeding dietary mannan oligosaccharides to juvenile Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, has no effect on hematological parameters and showed decreased feed consumption. Journal of the World Aquaculture Society, 39:821-826

Zaragoza O.D.R., Rodriguez M.H., Bückle R.L.F. (2008) Thermal stress effect on tilapia *Oreochromis mossambicus* (Pisces: Cichlidae) blood parameters. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, 41:79-89

Zhao H., Panase P., Zhang Z., Yao P., Zhang Y., Suwannapoom C. (2018) Hematological and plasm biochemical values for *Rhinogobio ventralis* in the Yangtze River, China. Comparative Clinical Pathology, 27: 741-745

Zinkl J.G., Cox W.T., Kono C.S. (1991) Morphology and cytochemistry of leucocytes and thrombocytes of six species of fish. Comparative Haematology International, 1:187-195

Ελληνική Βιβλιογραφία

Βερίλλης Π. (2015) Οπτική και ηλεκτρονική μικροσκοπία. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Θεσσαλίας, Βόλος, σελ:56-59

Βερίλλης Π., Μεντέ Ε. (2017) Ιστοφυσιολογία ιχθύων και καρκινοειδών. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Θεσσαλίας, Βόλος, σελ:173-183

Γιαννηκωτσίου Ν. (2010) Οι απαιτήσεις σε θρεπτικά συστατικά της τιλάπιας του Νείλου (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758). Προπτυχιακή Διατριβή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, σελ:10-15

Κουφός Σ., Βορεινάκης Φ. (1994) Η αιματολογία στην τσιπούρα (*Sparus aurata*) και στο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*)

Μιχαήλ Σ. (2015) Ιστολογία. Δέσποινα Κυριακίδη, Θεσσαλονίκη, σελ:84-100

Νεοφύτου Χ., Νεοφύτου Ν. (2015) Ιχθυολογία. University Studio Press, Θεσσαλονίκη, σελ:107-111

Ηλεκτρονική Βιβλιογραφία

animaldiversity.org/accounts/Oreochromis_niloticus/classification (Πρόσβαση: 29-11-2019)

fao.org/fishery/culturedspecies/Oreochromis_niloticus/en (Πρόσβαση: 29-11-2019)

fishbase.org/summary/Oreochromis_niloticus+niloticus.html (Πρόσβαση: 29-11-2019)

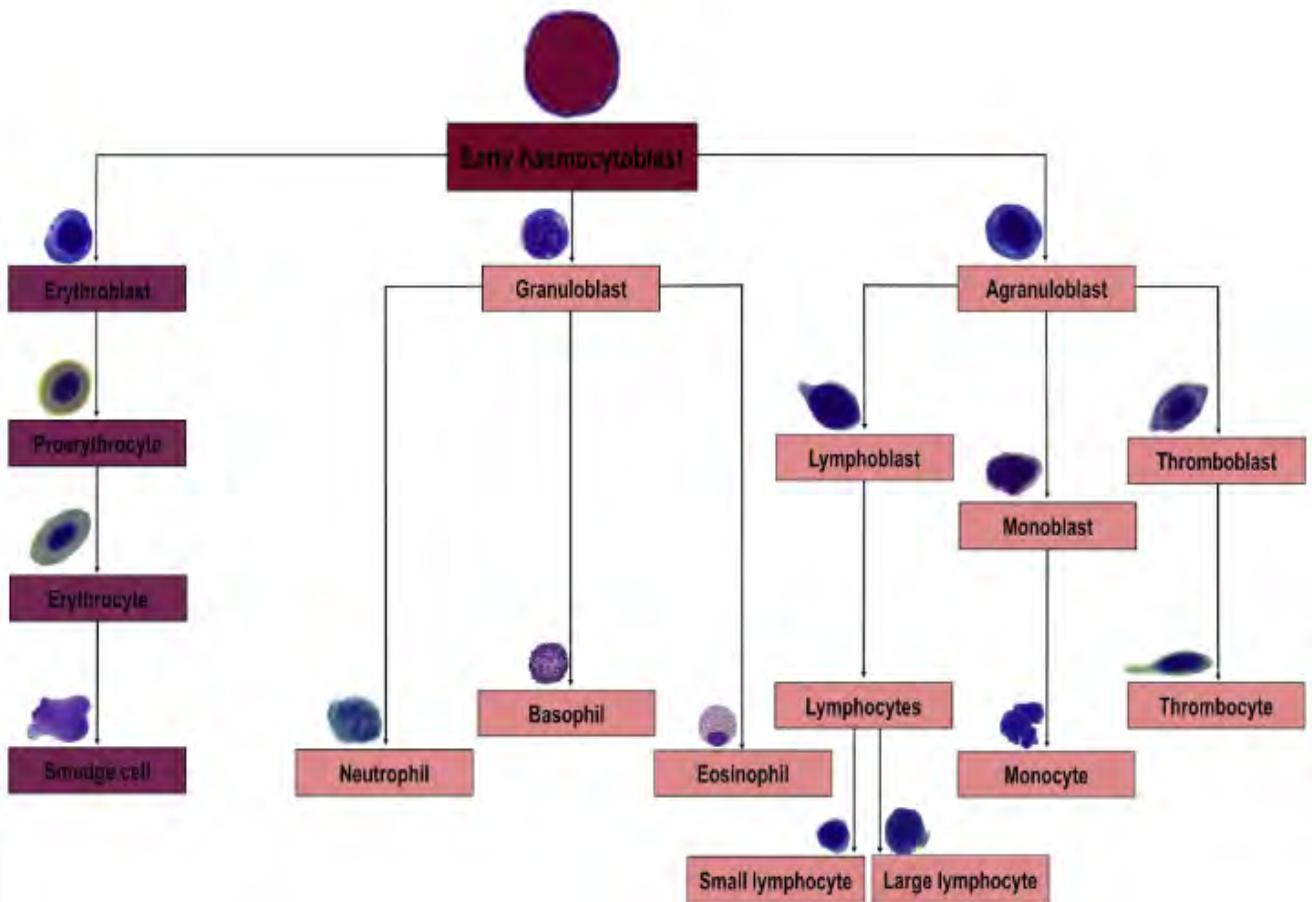
ABSTRACT

The aim of this study is to count the erythrocytes and leukocytes in *Oreochromis niloticus*' blood and determine their morphology. Peripheral blood samples from three adult male Nile tilapias were taken from the caudal vessel with a syringe. Three blood smears were prepared. The blood smears were allowed to air dry, fixed for 3 minutes with 100% ethanol and stained with Giemsa. The slides were examined under oil-immersion at 100X magnification. Erythrocyte nuclear major axis and minor axis erythrocyte major axis and minor axis, nuclear and whole erythrocyte area , the volume and the ratio between nuclear axis and erythrocyte axis, were measured. Moreover, the ratio of nuclear volume and erythrocyte volume and the ratio of nuclear area and whole erythrocyte area, were calculated. For each fish differentiation and classification of the leucocytes occurred. Last but not least, the ratio between red blood cells and white blood cells of this freshwater fish was determined.

Keywords: tilapia, peripheral blood, erythrocytes, leukocytes

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Σχηματική αναπαράσταση της δημιουργίας ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων. Τα περισσότερα κύτταρα προέρχονται από επιχρίσματα αίματος του είδους *Oncorhynchus tshawytscha* (Πηγή: Lulijwa et al., 2019)



Πίνακας 1: Μορφολογικές μετρήσεις ερυθρών αιμοσφαιρίων σε ιχθύες εσωτερικών και θαλάσσιων υδάτων. Οι μετρήσεις από Berillis et al. (2016) και Badawi & Said (1971) δίνονται ως μέσος ± τυπικό σφάλμα και οι μετρήσεις από Rambhaskar & Srinivasa Rao (1987) και Najiah et al. (2008) δίνονται ως μέσος ± τυπική απόκλιση.

Ιχθύες εσωτερικών υδάτων	Μεγάλος άξονας ερυθροκυττάρου (μm)	Μικρός άξονας ερυθροκυττάρου (μm)	Μεγάλος/μικρός άξονας ερυθροκυττάρου	Επιφάνεια ερυθροκυττάρου (μm ²)	Μεγάλος άξονας πυρήνα (μm)	Μικρός άξονας πυρήνα (μm)	Μεγάλος/μικρός άξονας πυρήνα	Επιφάνεια πυρήνα (μm ²)	Επιφάνεια πυρήνα/Επιφάνεια ερυθροκυττάρου	Πηγή
Carassius auratus	-	-	-	83,45	-	-	-	17,28	-	Hardie & Hebert, 2003
Cyprinus carpio	-	-	-	68,99	-	-	-	9,90	-	Rodriguez & Conroy, 1966
Anguilla rostrata	-	-	-	68,64	-	-	-	10,37	-	Hartmann & Lessler, 1964
Myxus nemerus	9,92±0,30	7,90±0,07	1,26±0,04	57,99±2,10	4,25±0,15	3,38±0,12	1,26±0,05	10,54±0,68	0,18±0,32	Najiah et al., 2008
Pangasius sutchi	9,02±0,23	8,10±0,34	1,11±0,04	57,77±3,57	3,71±0,22	3,00±0,15	1,24±0,06	9,37±0,97	0,16±0,37	Najiah et al., 2008
Clarias sp.	9,50±0,26	7,50±0,20	1,25±0,04	53,24±2,57	3,92±0,32	3,22±0,29	1,22±0,04	9,70±1,65	0,18±0,64	Najiah et al., 2008
Tilapia nilotica	14,2±0,48	9,8±0,43	-	-	7,7±0,3	4,3±0,5	-	-	-	Badawi & Said, 1971
Tilapia zilli	14,0±0,65	9,0±0,63	-	-	7,5±0,38	4,8±0,3	-	-	-	Badawi & Said, 1971
Tilapia galilea	14,5±0,35	9,5±0,4	-	-	7,0±0,53	4,9±0,31	-	-	-	Badawi & Said, 1971
Tilapia kurea	14,5±0,31	10,3±0,53	-	-	7,9±0,31	4,5±0,25	-	-	-	Badawi & Said, 1971
Ιχθύες θαλάσσιων υδάτων	Μεγάλος άξονας ερυθροκυττάρου (μm)	Μικρός άξονας ερυθροκυττάρου (μm)	Μεγάλος/μικρός άξονας ερυθροκυττάρου	Επιφάνεια ερυθροκυττάρου (μm ²)	Μεγάλος άξονας πυρήνα (μm)	Μικρός άξονας πυρήνα (μm)	Μεγάλος/μικρός άξονας πυρήνα	Επιφάνεια πυρήνα (μm ²)	Επιφάνεια πυρήνα/Επιφάνεια ερυθροκυττάρου	Πηγή
Dicentrarchus labrax	11,86±0,10	7,96±0,06	-	74,16±0,91	-	-	-	-	-	Berillis et al., 2016

Dicentrarchus labrax	10,62±0,09	7,26±0,08	-	57,21±0,88	-	-	-	-	-	Berillis et al., 2016
Megalops cyprinoides	8,8±1,8	7,9±1,5	-	69,9±31,8	5,4±1,4	3,7±1,1	-	20,0±8,4	0,29±0,05	Rambhaskar & Srinivasa Rao, 1987
Mugil cephalus	8,5±1,3	7,5±1,3	-	65,8±22,1	5,2±1,3	3,9±1,2	-	21,6±11,6	0,28±0,07	Rambhaskar & Srinivasa Rao, 1987
Lisamacrolepis	9,4±0,4	8,1±0,7	-	71,6±5,6	5,3±0,4	3,3±0,3	-	17,8±3,1	0,20±0,02	Rambhaskar & Srinivasa Rao, 1987
Caranx carangus	10,3±0,5	7,5±0,5	-	78,5±9,1	3,9±0,5	2,6±0,3	-	10,5±2,3	0,13±0,02	Rambhaskar & Srinivasa Rao, 1987
Lutianus lutianus	11,8±0,5	9,8±0,4	-	115,9±10,2	5,0±0,4	3,5±0,4	-	18,0±4,6	0,16±0,03	Rambhaskar & Srinivasa Rao, 1987
Elops saurus	11,2±0,4	9,6±0,3	-	107,1±6,7	5,0±0,5	3,9±0,4	-	19,5±4,9	0,18±0,03	Rambhaskar & Srinivasa Rao, 1987
Abudefduf vaigiensis	11,5±0,6	9,7±0,3	-	112,7±14,5	5,2±0,5	3,9±0,6	-	21,0±5,4	0,18±0,02	Rambhaskar & Srinivasa Rao, 1987
Abudefduf sordidus	11,6±0,4	9,3±0,4	-	107,1±8,8	5,4±0,5	3,9±0,4	-	21,2±4,2	0,19±0,02	Rambhaskar & Srinivasa Rao, 1987
Acanthurgahw	11,7±0,5	9,4±0,5	-	112,1±8,4	5,6±0,5	3,6±0,5	-	20,5±4,9	0,18±0,07	Rambhaskar & Srinivasa Rao, 1987
Rastrelliger kanagurta	7,6±0,7	6,7±0,5	-	50,9±7,5	5,7±0,7	3,6±0,7	-	20,5±4,5	0,40±0,09	Rambhaskar & Srinivasa Rao, 1987

Πίνακας 2: Διαφοροποίηση λευκών αιμοσφαιρίων σε ιχθύες εσωτερικών και θαλάσσιων υδάτων. Τα αποτελέσματα από Alaa et al. (2018), Gultepe et al. (2017), Millan et al. (2013), Martius et al. (2009) και Nussey et al. (1995) δίνονται ως μέσος ± τυπική απόκλιση και τα αποτελέσματα από Hamed et al. (2019), Berillis et al. (2016) και Marijani et al. (2017) δίνονται ως μέσος ± τυπικό σφάλμα.

Ιχθύες εσωτερικών υδάτων	Λεμφοκύτταρα (%)	Μονοκύτταρα (%)	Ουδετερόφιλα (%)	Βασεόφιλα (%)	Ηωσινόφιλα (%)	Πηγή
Acipenser stellatus ιχθύδιο	1,01±0,40	0,21±0,08	0,06±0,03	0,05±0,01	1,40±0,96	Gulpepe et al., 2017
Acipenser gueldenstaedtit ιχθύδιο	5,93±4,99	0,28±0,06	0,08±0,07	0,07±0,01	1,01±1,00	Gulpepe et al., 2017
Acipenser baerii ιχθύδιο	15,67±9,55	0,27±0,06	0,10±0,07	0,06±0,03	0,19±0,18	Gulpepe et al., 2017
Oreochromis niloticus ιχθύδιο	87,83±0,4	3±0,2	7,2±0,3	-	2±0,01	Hamed et al., 2019
Oreochromis niloticus ιχθύδιο	88,0±0,2	3,7±0,2	6,33±0,2	-	2±0,01	Hamed et al., 2019
Oreochromis niloticus	82,18±15,08	5,17±6,22	10,85±8,57	-	-	Millan et al., 2013
Oreochromis niloticus	82,8	8,33	8,58	-	0,25	Galagarza et al., 2018
Oreochromis niloticus	88,9	3,92	6,92	-	0,25	Galagarza et al., 2018
Oreochromis niloticus	56,9±9,4	30,3±5,3	13,5±4,7	-	-	Martius et al., 2009
Oreochromis niloticus	56,6±5,64	4,93±1,66	36,79±5,44	-	1,9±1,01	Alaa et al., 2018
Oreochromis niloticus	57±4,98	5,59±1,83	35,2±4,26	-	2,23±0,79	Alaa et al., 2018
Oreochromis niloticus	59,6±4,53	8,09±2,96	30,11±4,49	-	2,16±0,87	Alaa et al., 2018
Oreochromis niloticus	59,3±4,61	10,51±3,24	28,22±3,97	-	1,93±0,72	Alaa et al., 2018
Oreochromis niloticus	59,4±5,21	13,15±4,08	25,64±5,02	-	1,79±0,87	Alaa et al., 2018
Oreochromis niloticus	59,5±4,17	14,47±4,06	24,22±4,12	-	1,8±0,95	Alaa et al., 2018
Oreochromis mossambicus	69,45±1,77	21,50±3,32	7,80±1,80	-	1,25±0,83	Nussey et al., 1995
Oreochromis mossambicus	67,60±3,41	22,60±3,21	8,40±1,73	-	1,40±0,62	Nussey et al., 1995

Ιχθύες θαλάσσιων υδάτων	Λεμφοκύτταρα (%)	Μονοκύτταρα (%)	Ουδετερόφιλα (%)	Βασεόφιλα (%)	Ήωσινόφιλα (%)	Πηγή
Dicentrarchus labrax	88±1,14	1,2±0,49	-	-	-	Berillis et al., 2016
Dicentrarchus labrax	92±0,95	0	-	-	-	Berillis et al., 2016