



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Επίδραση διαλυμάτων αιθέριων ελαίων σε αιματολογικές
παραμέτρους στην τσιπούρα»**

Καραμπέρη Βικτώρια

Βόλος 2020

**«Επίδραση διαλυμάτων αιθέριων ελαίων σε αιματολογικές παραμέτρους
στην τσιπούρα»**

**«Effect of essential oil solutions on haematological parameters in gilthead
seabream»**

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

1) Ελένη Γκολομάζου, Επίκουρη Καθηγήτρια, Προστασίας-Ευζωίας Ιχθύων, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Επιβλέπουσα**

2) Παναγιώτα Παναγιωτάκη, Καθηγήτρια, Υδατοκαλλιέργειες, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, **Μέλος**

3) Κωνσταντίνος Πούλος, Επίκουρος Καθηγητής, Ιχθυοπαθολογία, Τμήμα Ζωικής Παραγωγής, Αλιείας και Υδατοκαλλιεργειών, Πανεπιστήμιο Πατρών, **Μέλος**

*Στους γονείς μου,
Ηλία Καραμπέρη & Ζωή Κόφφα*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω σε πέρας την παρούσα Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντα της εργασίας αυτής, κα. Ελένη Γκολομάζου, Επίκουρη Καθηγήτρια, Προστασίας-Ευζωίας Ιχθύων, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, για την πολύτιμη βοήθειά της και τη διαρκή υποστήριξή της, τόσο κατά τη διεξαγωγή του πειράματος όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, καθώς και τα υπόλοιπα μέλη της εξεταστικής επιτροπής μου, αποτελούμενη από την κα Παναγιώτα Παναγιωτάκη, Αναπληρώτρια καθηγήτρια, Υδατοκαλλιέργειες, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, και τον κ. Κωνσταντίνο Πούλο, Ιχθυοπαθολογία, Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Ζωικής Παραγωγής, Αλιείας και Υδατοκαλλιεργειών, Πανεπιστήμιο Πατρών, για τις χρήσιμες συμβουλές τους και την καθοδήγησή τους καθ' όλα τα στάδια διεκπεραίωσης της εργασίας.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κα Ελένη Αντωνιάδου, υποψήφια Διδάκτορα για την άμεση και ανιδιοτελή βοήθειά της, όσον αφορά την προμήθεια εργαστηριακού υλικού, καθώς και για την αμέριστη συμπαράστασή της κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένειά μου καθώς και τον φίλο μου τον Νίκο για την αμέριστη συμπαράσταση, βοήθεια

και προ πάντων κατανόηση και ανοχή καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα τελευταία χρόνια, έχει αυξηθεί σημαντικά η ζήτηση των αιθέριων ελαίων, τα οποία προέρχονται από αρωματικά φυτά. Ο λόγος είναι οι ευεργετικές τους ιδιότητες με πιο σημαντικές την αντιοξειδωτική και την αντιμικροβιακή τους δράση. Συγκεκριμένα, τα αιθέρια έλαια έχουν την ικανότητα να δρουν αποτελεσματικά έναντι των μυκήτων, των ιών, των βακτηρίων και των παρασίτων, αναστέλλοντας έτσι την ανάπτυξη και την επιβίωσή τους. Παράλληλα, είναι ευρέως γνωστό πως ένας άκρως σημαντικός παράγοντας που επιδρά άμεσα στη φυσιολογία, συμπεριφορά, ανάπτυξη και υγιεινή των ιχθύων, είναι η καταπόνηση. Με τον όρο καταπόνηση (stress) χαρακτηρίζεται η απόκλιση από το φυσιολογικό, σε έναν ή περισσότερους από τους παράγοντες που συμμετέχουν στην βιολογική και φυσιολογική ισορροπία του οργανισμού του ιχθύος.

Σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η διερεύνηση της επίδρασης διαλυμάτων αιθέριων ελαίων σε αιματολογικές παραμέτρους της εκτρεφόμενης τσιπούρας. Συγκεκριμένα, θα μελετηθούν τα κύτταρα του αίματος μετά από εφαρμογή αιθέριων ελαίων ρίγανης και κανέλας στο νερό εκτροφής για χρονικό διάστημα δυο μηνών. Θα χρησιμοποιηθούν τέσσερις μεταχειρίσεις με προσθήκη 1% και 2% αιθέριου ελαίου ρίγανης και κανέλας και μια ομάδα ελέγχου. Στις εργαστηριακές αναλύσεις θα γίνει καταγραφή των κυττάρων του αίματος (ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων) και τυποποίηση λευκοκυττάρων μετά από τους πειραματικούς χειρισμούς. Επίσης, θα εκτιμηθεί ο αιματοκρίτης. Από την παρούσα διατριβή αναμένεται να προκύψουν συμπεράσματα που θα συσχετίσουν καινοτόμα πρωτόκολλα εκτροφής με δείκτες υγείας των εκτρεφόμενων ιχθύων.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν, ότι μεταξύ των αιθέριων ελαίων δεν παρατηρήθηκαν στατιστικώς έντονες διαφορές. Πρέπει παρόλα αυτά να διεξαχθούν περαιτέρω έρευνες στο μέλλον για την επίδραση αιθέριων ελαίων σε αιματολογικές παραμέτρους του είδους, διότι οι γνώσεις είναι ακόμα ελλιπείς.

Λέξεις κλειδιά: τσιπούρα (*Sparus aurata*), αιθέρια έλαια, αιματολογικοί παράμετροι

ABSTRACT

In recent years, the demand for essential oils, which are derived from aromatic plants, has increased significantly. The reason is their beneficial properties with their most important antioxidant and antimicrobial action.

In particular, essential oils have the ability to act effectively against fungi, viruses, bacteria and parasites, thus inhibiting their growth and survival.

At the same time, it is widely known that an extremely important factor that directly affects the physiology, behavior, development and hygiene of fish, is stress. The term stress is defined as the deviation from the normal, in one or more of the factors that participate in the biological and physiological balance of the organism of the fish.

The purpose of this dissertation is to investigate the effect of essential oil solutions on hematological parameters of farmed sea bream. Specifically, blood cells will be studied after applying oregano and cinnamon essential oils to the breeding water for a period of two months. Four treatments using 1% and 2% oregano and cinnamon essential oil and a control group will be used. In the laboratory analyzes, the blood cells will be recorded (red and white blood cells) and the leukocytes will be standardized after the experimental manipulations. The hematocrit will also be assessed. From the present dissertation it is expected to draw conclusions that will correlate innovative breeding protocols with health indicators of farmed fish.

The results of the present study showed that no statistically significant differences were observed between the essential oils. However, further research is needed in the future on the effect of essential oils on hematological parameters of the species, as knowledge is still lacking.

Keywords: sea bream (*Sparus aurata*), essential oils, hematological parameters

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	7
ABSTRACT	8
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ	10
1.1 Τσιπούρα (<i>Sparus aurata</i>).....	11
1.1.2Μορφολογία.....	11
1.1.3 Βιολογία – Βιότοπος.....	11
1.1.4Αναπαραγωγή.....	12
1.1.5Διατροφή.....	12
1.1.6Τρόποι εκτροφής.....	13
1.1.7 Παραγωγή τσιπούρας στην Ε.Ε και Παγκοσμίως.....	14
1.1.8 Η σημασία της απολύμανσης.....	16
1.2.1 Ουσίες με απολυμαντικές ιδιότητες.....	16
1.2.2 Χρήση απολυμαντικών.....	23
1.2.3 Επιπτώσεις των απολυμαντικών ουσιών στην υγεία των ιχθύων στο αίμα.....	24
1.3 Αιθέρια έλαια.....	26
1.3.1 Γενικά στοιχεία.....	26
1.3.2 Αιθέρια έλαια ως φυσικά απολυμαντικά.....	29
1.3.3 Άλλες ιδιότητες.....	30
1.4 Ρίγανη (<i>Origanum vulgare</i>) και Κανέλα (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>).....	32
1.4.1 Ρίγανη: <i>Origanum vulgare</i>	33
1.4.2 Κανέλα: <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	34
1.5 Συστατικά του αίματος των ιχθύων.....	35
1.5.1 Αίμα.....	35
1.5.2Πλάσμα.....	35
1.5.3Ορός.....	36
1.5.4 Κύτταρα του αίματος.....	36
1.6 Αιματολογικές αναλύσεις στους ιχθύες.....	48
1.7 Τεχνικές αιμοληψίας.....	40
1.8 Χρώση May Grünwald- Giemsa.....	41
1.9 Σκοπός της διατριβής.....	41
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	42
2.1 Πειραματικός σχεδιασμός.....	42
2.2Δειγματοληψίες.....	43
2.3Αιμοληψία.....	43
2.4Μέτρηση αιματοκρίτη.....	44
2.5 Επίχρισμα περιφερειακού αίματος.....	44
2.6 Πρωτόκολλο χρώσεων.....	45
2.7 Χρώση των επιχρισμάτων αίματος.....	45
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ–ΣΥΖΗΤΗΣΗ	46
4.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	48
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	50

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Τσιπούρα (*Sparus aurata*)

Συστηματική κατάταξη τσιπούρας (*Limnaeus, 1758*)

ΚΛΑΣΗ : *Actinopterygii*

ΤΑΞΗ : *Perciformes*

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ : *Sparidae*

ΓΕΝΟΣ : *Sparus*

ΕΙΔΟΣ : *Sparus aurata*

Γενικά

Η τσιπούρα (*Sparus aurata*) ανήκει στην οικογένεια Sparidae και είναι ένα από τα κύρια θαλάσσια είδη, στο οποίο η εντατική εκτροφή είναι επιτυχής. Η πρώτη εκτροφή της, έγινε στην αρχή της δεκαετίας του 1980 στην Ιταλία, τη Γαλλία και την Ισπανία, καθώς στην Ελλάδα πραγματοποιήθηκε στο τέλος της ίδιας δεκαετίας. Διαθέτει ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, όπως γρήγορη ανάπτυξη, παρουσιάζει ανθεκτικότητα στις μεταβολές των φυσικοχημικών παραμέτρων των υδάτινων μαζών καθώς διακρίνεται για την εξαιρετική ποιότητα κρέατος του. Όλα αυτά τα χαρακτηριστικά αρκούν ,για να κινήσουν το οικονομικό ενδιαφέρον πολλών και να το εντάξουν ομαλά στο σύστημα εντατικής εκτροφής.

1.1.2 Μορφολογία

Η τσιπούρα παρουσιάζει ατρακτοειδές και πλευρικά πεπιεσμένο σώμα, κυρτή ράχη και κοντό ρύγχος, καθώς επίσης ισχυρή κεφαλή, χοντρά χείλη και μικρούς οφθαλμούς (Νεοφύτου, 2015). Τα μπροστινά δόντια είναι κυρτά, δυνατά και αιχμηρά. Στο μέτωπο ανάμεσα από τα μάτια έχει μια λωρίδα σε σχήμα V καθώς στην άκρη του βραγχιακού καλύμματος υπάρχει μια μαύρη κηλίδα. (Εικόνα 1).



Εικόνα 1. Τσιπούρα (*Sparus aurata*)

Ο χρωματισμός της είναι γκρι-ασημί με πιο σκούρα ράχη και πιο ανοιχτό χρώμα στις πλευρές και στην κοιλία. Διαθέτει μεγάλο μέγεθος κτενοειδών λεπιών και θωρακικά πτερύγια (Χώτος & Ρογδάκης, 1995).

1.1.3 Βιολογία - Βιότοπος

Το είδος *Sparus aurata* είναι κατεξοχήν ευρύαλο και ευρύθερμο είδος (Κλαουδάτος, 2012), εμφανίζοντας μεγάλη αντοχή στις μεταβολές αλατότητας και θερμοκρασίας που απαντώνται σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών του νερού, το οποίο κυμαίνεται από 3 έως 36 °C. Ως ευρύθερμο είδος, ο μέγιστος ρυθμός ανάπτυξης επιτυγχάνεται μεταξύ 22 έως 24 °C (Κλαουδάτος & Apostolopoulos, 1986), ενώ ως ευρύαλο είδος, η μέγιστη ανάπτυξη παρατηρείται σε νερά

αλατότητας από 28 έως 32‰ (Παπουτσόγλου, 2008) ,με τα όρια της αλατότητας, να μπορούν να φτάσουν μέχρι το επίπεδο του 44‰.

Ο βιότοπος του είναι, κυρίως παράκτιες περιοχές με αμμώδεις πυθμένες, περιοχές με λιβάδια ποσειδωνίας και φυκιάδες, αγγίζοντας σε βάθη από 30 έως 150 m, ανάλογα το στάδιο της ηλικίας του. Ιδιαίτερη προτίμηση έχει στα λιμνοθαλάσσια οικοσυστήματα, στα οποία εισχωρεί την άνοιξη, παραμένει όλο το καλοκαίρι και τα εγκαταλείπει στο τέλος του φθινοπώρου (FAO, 2009). Γενικότερα, πρόκειται, για ένα βενθοπελαγικό είδος της υποτροπικής ζώνης και μη μεταναστευτικό είδος, όμως κατά την περίοδο της φυσικής του αναπαραγωγής έχει παρατηρηθεί μετανάστευση κατά κοπάδια από τα λιμνοθαλάσσια συστήματα προς τη θάλασσα (Κασπίρης, 1998). Ζει είτε μοναχικά είτε σχηματίζοντας μικρά κοπάδια (Νεοφύτου Χ.,2015). Από γεωγραφικής άποψης η εξάπλωση του απαντάται στον Ατλαντικό μέχρι την Μ. Βρετανία, τη Σενεγάλη και τη Μεσόγειο θάλασσα.

1.1.4 Αναπαραγωγή

Πρόκειται για ένα πρώτανδρο ερμαφρόδιτο είδος, δηλαδή γεννιέται αρσενικό και μετά το πέρας 2 χρόνων αλλάζει φύλο και γίνεται θηλυκό (Νεοφύτου, 2015). Η σεξουαλική του ενηλικίωση σαν αρσενικό πραγματοποιείται στην ηλικία 2 ετών φτάνοντας σε μήκος 20-30 cm και βάρος 350-400 gr . Η αναπαραγωγή του λαμβάνει μέρος τους μήνες Οκτώβρη έως Δεκέμβρη σε λιμνοθάλασσες με το θηλυκό να γεννά περίπου 20000-80000 αυγά την ημέρα. Όσον αφορά την γέννηση των ιχθυδίων πραγματοποιείται στα ανοιχτά καθώς την άνοιξη κολυμπούν προς τα ρηχά, όπου είναι πιο ασφαλή και η τροφή βρίσκεται σε μεγαλύτερες ποσότητες.

Αξιοσημείωτο γεγονός για την τσιπούρα, είναι ότι, έχει την δυνατότητα να διακόψει την αλλαγή του φύλου από αρσενικό σε θηλυκό με σκοπό να παράξει σπέρμα για την επόμενη αναπαραγωγική περίοδο (Χώτος & Ρογδάκης, 1995).

1.1.5 Διατροφή

Στο φυσικό περιβάλλον

Ανήκει στα σαρκοφάγα είδη, καθώς το διαιτολόγιό της αποτελείται κυρίως από οστρακοειδή, καρκινοειδή, μαλάκια (δίθυρα και γαστερόποδα), μύδια (τα οποία

μπορεί εύκολα να τα σπάσει), εχινόδερμα, τελεόστεους και πολύχαιτους. Ωστόσο, η διατροφή του κάθε ατόμου διαφέρει ανάλογα με το μέγεθος του και τη διαθεσιμότητα της τροφής (Wassef & Abu Wafaa, 1985), δηλαδή έχει αποδειχθεί ότι τα μικρότερου μεγέθους ψάρια καταναλώνουν μικρούς και σχετικά μαλακής σάρκας οργανισμούς, όπως πολύχαιτους και μικρά καρκινοειδή, καθώς όμως αυξάνει σε μέγεθος τείνει να διατραφεί με μεγαλύτερα και με πιο σκληρό κέλυφος ζώα (Κάπελος, 2011), όπως οστρακόδερμα, δίθυρα και ιχθύες. Στην περίπτωση μη διαθέσιμης τροφής, η τσιπούρα δεν είναι εκλεκτική ως προς ένα είδος στη διατροφή της και όταν ένα είδος τροφής σπανίζει στρέφεται προς άλλες εναλλακτικές πηγές τροφής.

Σε συνθήκες εκτροφής

Σε συνθήκες εκτροφής, οι διατροφικές απαιτήσεις της τσιπούρας σε πρωτεΐνες διαφέρουν ανάλογα με το βιολογικό της στάδιο (Παπουτσόγλου, 2008). Στα αναπτυσσόμενα άτομα, οι απαιτήσεις είναι υψηλές και κυμαίνονται σε 45-50% πρωτεΐνη και ένα ελάχιστο ποσοστό 9-12% σε λίπος. Οι ποιοτικές απαιτήσεις σε αμινοξέα και συγκεκριμένα τα 10 απαραίτητα (αργινίνη, η ιστιδίνη, η ισολευκίνη, η φαινυλαλανίνη, η θρυονίνη, η λυσίνη, η μεθειονίνη, η τρυπτοφάνη και η βαλίνη) (Καραπαναγιωτίδης, 2011), στις αναπτυσσόμενες τσιπούρες είναι ίδιες και με άλλα είδη ιχθύων (OlivisTeles, 2000). Ταυτόχρονα, θεωρείται αναγκαία η χορήγηση ξηρών τροφών με εμπλουτισμένα απαραίτητα και μη αμινοξέα, σε κατάλληλο ποσοστό (Παπουτσόγλου, 2008). Ακόμη, είναι αναγκαίο οι δίαιτες που χρησιμοποιούνται για την τσιπούρα να περιέχουν σημαντική ποσότητα ιχθυελαίου ώστε να καλύπτονται οι ανάγκες σε απαραίτητα λιπαρά οξέα (Oliva-Teles, 2010).

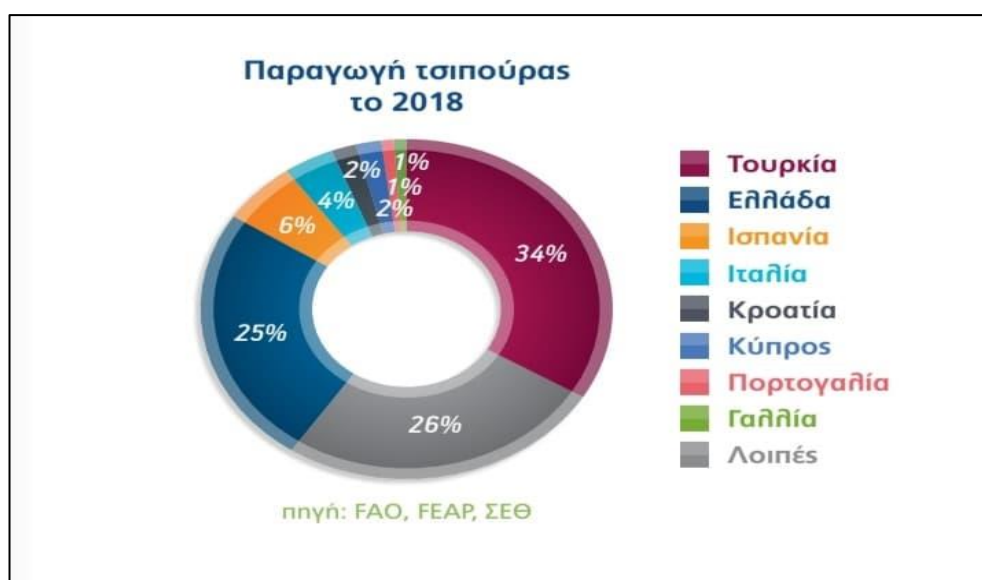
1.1.6 Τρόποι εκτροφής

Οι συνηθέστεροι τρόποι εκτροφής του είδους *Sparus aurata* είναι είτε σε εντατικά συστήματα εκτροφής σε δεξαμενές ή κλωβούς είτε σε εκτατικά συστήματα σε λιμνοθάλασσες. Το σύστημα της εκτατικής εκτροφής βασίζεται στη

φυσική μετανάστευση των ευρύαλων ψαριών όπου τα ψάρια μπορούν να πιαστούν σε ιχθυοπαγίδες στο στόμιο επικοινωνίας της λιμνοθάλασσας με τη θάλασσα. Δεδομένου ότι, η πρακτική αυτή παρέχει μια πολύ περιορισμένη πηγή φυσικών ιχθυδίων, γεγονός που σηματοδοτεί αρκετά χαμηλή παραγωγικότητα επομένως και χαμηλό αντίκτυπο αγοράς, η πλέον επικρατέστερη μέθοδος καλλιέργειας είναι η εντατική με μέση πυκνότητα 20 – 100 kg/m³ και FCR 1,5 – 2 (FAO, 2016) . Στην εντατική εκτροφή εκτός από ότι, υπάρχει ο πλήρης έλεγχος, κάθε ιχθυογεννητικός σταθμός έχει την δυνατότητα να διαθέτει το δικό του σύνολο γεννητόρων εξασφαλίζοντας έτσι την ποιότητα των παραγόμενων αυγών.

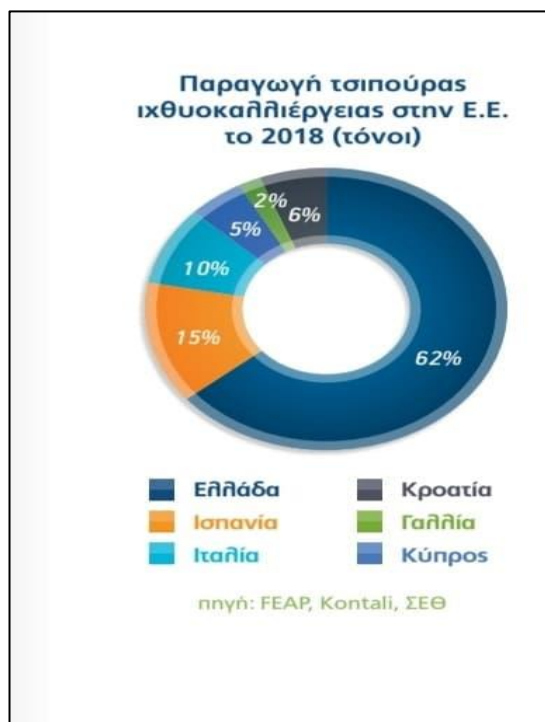
1.1.7 Παραγωγή τσιπούρας στην Ε.Ε. και Παγκοσμίως

Οι κυριότερες αγορές στην Ε.Ε. είναι παραδοσιακά η Ιταλία, η Ισπανία και η Γαλλία καθώς απορροφούν σχεδόν το μεγαλύτερο μέρος της Ελληνικής παραγωγής (59% το 2018). Πιο συγκεκριμένα για την παραγωγή, το 2018 η παραγωγή της τσιπούρας ανήλθε στους 246.531 τόνους σημειώνοντας αύξηση 12% περίπου σε σχέση με το 2017 (220.167 τόνους). Σχεδόν το 64,5% της παραγωγής προήλθε από 3 χώρες, την Τουρκία με 83.000 τόνους (33,7%), την Ελλάδα με 61.000 τόνους (24,7%) και την Ισπανία με 14.930 τόνους (6%). Το υπόλοιπο 23,5% προήλθε από όλες τις υπόλοιπες χώρες (ΣΕΘ , 2019) (Εικόνα 2).



Εικόνα 2 : Παγκόσμια παραγωγή τσιπούρας

Σε ευρωπαϊκό επίπεδο, το 2018 παρήχθησαν συνολικά 98.609 τόνοι τσιπούρας, παρουσιάζοντας αύξηση 13,3% σε σχέση με το 2017 (87.022 τόνοι). Η παραγωγή αυξήθηκε σε Ελλάδα, Ισπανία, Ιταλία και Κροατία, αντισταθμίζοντας τη στασιμότητα ή τη μείωση που παρατηρήθηκε στις υπόλοιπες χώρες. Η Ελλάδα αποτελεί μακράν τη μεγαλύτερη παραγωγό χώρα καθώς με 61.000 τόνους αντιπροσωπεύει το 61,86% της ευρωπαϊκής παραγωγής τσιπούρας, και ακολουθούν η Ισπανία με 14.930 τόνους (15,14%), η Ιταλία με 9.700 τόνους (9,8%), η Κροατία με 6.100 τόνους (6,18%) και η Κύπρος με 5.000 τόνους (5%). Το υπόλοιπο 3,4% παράγεται από τη Γαλλία και την Πορτογαλία. (ΣΕΘ, 2019). (Εικόνα 3).



Εικόνα 3 : Παραγωγή τσιπούρας στην Ε.Ε.

1.2 Η σημασία της απολύμανσης στην εντατική εκτροφή ιχθύων

Ως απολυμαντικό ορίζεται ένας ισχυρός χημικός παράγοντας που θανατώνει τους μικροοργανισμούς καθώς αναστέλλει την ανάπτυξή τους ή μειώνει το αρχικό μικροβιακό τους φορτίο σε μία επιφάνεια. Υπάρχει μεγάλος αριθμός απολυμαντικών με διάφορες ιδιότητες και μεγάλη ποικιλία στους χώρους τους οποίους μπορεί να χρησιμοποιηθεί, για αυτό πρέπει να γίνεται επιλογή του ιδανικότερου για συγκεκριμένη εφαρμογή.

Ένα απολυμαντικό θεωρείται ιδανικό, όταν είναι ασφαλές για χρήση, μη τοξικό, μη αλλεργιογόνο και μη εύφλεκτο. Θα πρέπει να είναι σταθερό στην αποθήκευση και σε ευρύ φάσμα θερμοκρασιών και pH, και να έχει ευρύ φάσμα δράσης. Τέλος, η απολυμαντική ουσία πρέπει να είναι φιλική στο περιβάλλον και να είναι οικονομικά αποδοτική.

Η απολύμανση όπως και ο όρος της βιοασφάλειας είναι όροι που χρησιμοποιούνται συχνά για τη διατήρηση της υγείας των υδρόβιων ειδών. Αυτές οι έννοιες έχουν ενσωματωθεί στην εκτροφή πολλών υδρόβιων οργανισμών σε πολλά επίπεδα, ειδικά στην υδατοκαλλιέργεια ιχθύων, όπου έχουν γίνει ακόμη και μέρος της καθομιλουμένης.

Η χρήση της απολύμανσης με συγκεκριμένους τρόπους είναι πολύ αποτελεσματική στην πρόληψη προβλημάτων, καθώς είναι οικονομικά αποδοτική σε σύγκριση με την αντιμετώπιση προβλημάτων μετά την μόλυνση.

1.2.1 Ουσίες με απολυμαντικές ιδιότητες

Χημικές ιδιότητες απολύμανσης

Μια μεγάλη ποικιλία χημικών ενώσεων αποτελεί μια σειρά από αποτελεσματικά απολυμαντικά. Η αμερικανική εταιρία χημικής ουσίας παρέχει μια Υπηρεσία Περίληψη Χημικών (CAS) που περιλαμβάνει ένα μητρώο χημικών. Το χημικό μητρώο είναι η μεγαλύτερη και η πιο πρόσφατη βάση δεδομένων με πληροφορίες χημικών ουσιών στον κόσμο, που περιέχει περισσότερα από 23 εκατομμύρια οργανικές και ανόργανες ουσίες και 43 εκατομμύρια ακολουθίες. Το μητρώο CAS καλύπτει ως επί το πλείστον ουσίες που προσδιορίζονται στην επιστημονική βιβλιογραφία από το 1957 έως σήμερα. Κάθε ουσία στο μητρώο αναγνωρίζεται

από ένα μοναδικό αριθμητικό αναγνωριστικό, που ονομάζεται αριθμός μητρώου CAS (CAS NO). Μερικά χημικά απολυμαντικά αναφέρονται παρακάτω.

Σαπούνια – Απορρυπαντικά

Τα σαπούνια και τα απορρυπαντικά είναι αποτελεσματικά απολυμαντικά. Συγκεκριμένα το σαπούνι είναι ένας συγκεκριμένος τύπος τασιενεργού που προέρχεται από υδρόλυση λαδιών και λιπών. Τα σαπούνια δημιουργούνται μέσω της σαπωνοποίησης διαδικασία, με την οποία η εστερική σύνδεση σε φυτικό έλαιο ή λίπος διασπάται υδρολυτικά, δημιουργώντας ένα λιπαρό οξύ (δηλαδή, σαπούνι). Κάθε μόριο σαπουνιού έχει μια μακρά αλυσίδα υδρογονανθράκων, μερικές φορές ονομάζεται «ουρά», με καρβοξυλικό «κεφάλι». Το σαπούνι είναι ένα εξαιρετικό καθαριστικό λόγω της ικανότητάς του ενεργεί ως γαλακτωματοποιητικός παράγοντας. Για παράδειγμα, το λάδι δεν αναμιγνύεται φυσικά με νερό, το σαπούνι μπορεί να αιωρήσει το λάδι / τη βρωμιά με τέτοιο τρόπο ώστε να αφαιρεθεί. Επομένως, τασιενεργά θεωρούνται και τα απορρυπαντικά και τα σαπούνια.

Από την άλλη, ένα απορρυπαντικό είναι μια ένωση ή ένα μείγμα ενώσεων, των οποίων τα μόρια έχουν δύο διαφορετικές περιοχές: μία αυτή είναι υδρόφιλο και διαλύεται εύκολα στο νερό (CAS αριθ. 7732-18-5) και ένα άλλο που είναι υδρόφοβο, με μικρή συγγένεια με το νερό. Κατά συνέπεια, αυτές οι ενώσεις μπορούν βοηθούν στη διαλυτοποίηση υδρόφοβων ενώσεων στο νερό, και συνήθως βελτιστοποιούνται για αυτό το ακίνητο. Τα απορρυπαντικά είναι επίσης γνωστά ως οποιοδήποτε καθαριστικό μείγμα που περιέχει επιφανειοδραστικά.

Ωστόσο, και τα σαπούνια και τα απορρυπαντικά είναι αποτελεσματικά, στην περίπτωση μολυσματικών μεταδοτικών ασθενειών, καθώς χρησιμοποιούνται ως τελικά απολυμαντικά για τον καθαρισμό. Ο σωστός καθαρισμός θα αφαιρέσει έως και 99% ή περισσότερο μολυσματικού υλικού και καθιστούν την επιφάνεια ορατή καθαρή. Τέλος, για μια αποτελεσματική απολύμανση, συνιστάται η επιφάνεια να είναι απολύτως καθαρή.

Φαινόλες

Οι φαινόλες (C₆H₅OH) είναι πρωτοπλασματικά δηλητήρια που απορροφώνται εύκολα από το δέρμα. Δεδομένου ότι η πρωτοποριακή χρήση της φαινόλης και του νερού (καρβολικό οξύ) ως αντισηπτικό από τον Lister, ένας μεγάλος αριθμός έχει αναπτυχθεί και διατεθεί στην αγορά από παράγωγα φαινόλης ή φαινολικά. Σήμερα, τα φαινολικά αποτελούν μια από τις κύριες κατηγορίες απολυμαντικών που χρησιμοποιούνται στα νοσοκομεία.

Τα φαινολικά παράγωγα προέρχονται όταν μια λειτουργική ομάδα (π.χ. αλκύλιο, βενζύλιο, φαινύλιο, αμύλιο ή χλώριο) αντικαθιστά άτομα υδρογόνου στον αρωματικό δακτύλιο. Οι φαινόλες σε υψηλότερες συγκεντρώσεις λειτουργούν ως ακαθάριστα πρωτοπλασματικό δηλητήριο, που διεισδύει και διαταράσσει το βακτηριακό κυτταρικό τοίχωμα και καθιζάνει τις κυτταρικές πρωτεΐνες. Χαμηλότερες συγκεντρώσεις αυτών των ενώσεων απενεργοποιούν τα κυτταρικά συστήματα ενζύμων και προκαλούν διαρροή βασικών μεταβλητών από το κύτταρο. Ακόμη, οι φαινόλες σε συγκέντρωση επιπέδων 2–5% θεωρούνται γενικά βακτηριοκτόνα, μυκητοκτόνα και ιοκτόνα κατά των λιπόφιλων ιών.

Οξέα

Το ιόν υδρογόνου (H⁺) είναι βακτηριοστατικό στην περιοχή pH μεταξύ 3-6 και βακτηριοκτόνο με pH 3. Τα οξέα είναι αποτελεσματικά κατά των βακτηρίων, ωστόσο δεν είναι αποτελεσματικά κατά των λιπόφιλων ιών, εκτός από τον ιό του αφθώδους πυρετού, ο οποίος είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος στα οξέα. Τα οξέα δεν είναι αποτελεσματικά έναντι του *Mycobacterium* spp., και μόνο ορισμένα οξέα είναι αποτελεσματικά κατά των βακτηριακών σπόρων.

Οξεικό οξύ (C₂H₄O₂) (CAS NO. 64-19-7), γνωστό ως λευκό ξίδι 5%, είναι επίσης ένα αποτελεσματικό απολυμαντικό. Η σταθερότητα και οι αντιμικροβιακές ιδιότητες του μελιού οφείλονται σε μεγάλο βαθμό στην παρουσία και την αντιμικροβιακή δράση συστατικών οργανικών οξέων (π.χ. γαλακτικό, μυρμηκικό, μηλικό, γλυκονικό, βουτυρικό, οξαλικό, ηλεκτρικό, τρυγικά και πυρουβικά οξέα) (Cooper και Molan 1999; Osato et al. 1999; Tovey 2000; Molan 2001; Οι Moore et al. 2001; Οι Taormina et al. 2001; Οι Zaghoul et al. 2001).

Αλκάλια

Το ιόν υδροξυλίου (OH²) αναστέλλει ή σκοτώνει τα περισσότερα βακτήρια και ιούς σε pH μεγαλύτερο από 9. Το αλκάλιο είναι αποτελεσματικό έναντι όλων των μικροοργανισμών, εκτός από λίποφιλους ιούς και από τα βακτηριακά σπόρια. Το υδροξείδιο του νατρίου (NaOH) (αριθ. CAS 1310-73-2), που συνήθως ονομάζεται καυστική σόδα ή αλυσίδα, είναι ένα από τα πιο κοινά απολυμαντικά αλκαλίων. Για παράδειγμα, τα διαλύματα αλλεργίας είναι εξαιρετικά καυστικά στον ιστό και το δέρμα.

Διγουανίδες

Οι διγουανίδες είναι μια κατηγορία απολυμαντικών που είναι αρκετά ήπια ώστε να χρησιμοποιούνται ως αντισηπτικά στο δέρμα. Μία από τις πιο κοινές, είναι η χλωρεξιδίνη (CAS αριθ. 55-56-1), η οποία έχει χρησιμοποιηθεί στη γεωργία και στη κτηνιατρική για πολλά χρόνια (Boddie et al. 1990). Η σύνθεση της είναι υδατικό διάλυμα 4% σε απορρυπαντική βάση. Το αντιμικροβιακό φάσμα περιλαμβάνει φυτικά βακτήρια, μύκητες και ιούς. Οι συγκεντρώσεις βακτηριοκτόνων προκαλούν καταστροφή της βακτηριακής κυτταρικής μεμβράνης, που οδηγεί σε διαρροή κυτταρικών συστατικών και πήξη περιεχομένων κυττάρων.

Παράλληλα, η χλωρεξιδίνη έχει αποδειχθεί ότι είναι βακτηριοκτόνη έναντι τόσο θετικών κατά Gram όσο και Gram-αρνητικά βακτήρια (Best et al. 1990; Boddie et al. 1990; Bettin et al. 1994; Himathongkham et al. 1999; Oie et al. 1999; Penna et al. 2001; Pietsch 2001; Marchetti et al. 2003). Επίσης, είναι αποτελεσματική κατά των λιπόφιλων ιών.

.

Αλογόνα

Τα μέλη της ομάδας αλογόνου είναι αποτελεσματικά απολυμαντικά όταν έχει γίνει σωστός καθαρισμός πριν από την εφαρμογή τους. Τα απολυμαντικά αλογόνου, ωστόσο, εξουδετερώνονται πλήρως από το παρουσία οργανικής ύλης, η οποία περιορίζει την εφαρμογή τους σε πολλές καταστάσεις υδατοκαλλιέργειας. Τα

απολυμαντικά αλογόνου είναι γενικά πιο αποτελεσματικά σε περιβαλλοντικό pH μικρότερο του 7. Τα αλογόνα είναι εξαιρετικά τοξικά για τα υδρόβια ζώα, οπότε πρέπει να δίνεται προσοχή για απολυμαντικά αλογόνου, πριν από την έκθεση σε νερά που περιέχουν υδρόβιους οργανισμούς.

Φυσικές ιδιότητες απολύμανσης

Τα φυσικά απολυμαντικά μπορούν να είναι αποτελεσματικά εργαλεία στην αλιεία και την υδατοκαλλιέργεια. Λόγω των πλεονεκτημάτων των φυσικών απολυμαντικών που διαθέτουν μπορούν να καθιστούν σε ορισμένες εφαρμογές η πιο κατάλληλη επιλογή σε σχέση με τα χημικά απολυμαντικά. Για παράδειγμα, μπορεί να είναι δυνατόν να ενσωματωθεί ένα φυσικό απολυμαντικό σε μια διαδικασία υδατοκαλλιέργειας που παρέχει επαρκή απολύμανση και έχει λιγότερες αρνητικές επιπτώσεις απόρριψης στο περιβάλλον. Μερικά φυσικά απολυμαντικά αναφέρονται παρακάτω.

Θερμότητα

Η θερμότητα διευκολύνει την απολύμανση με διάφορους τρόπους. Η κινητική ενέργεια ή η θερμότητα μπορούν να μεταβάλουν άμεσα τις βιολογικές μεμβράνες και να μεταβάλουν την ιοντική και οσμωτική ομοιόσταση με εξάτμιση του νερού στους βιολογικούς οργανισμούς.

Όταν η θερμότητα χρησιμοποιείται ως φυσικό απολυμαντικό, μπορεί να εφαρμοστεί αποτελεσματικά μέσα σε περιορισμένο χώρο ενός αυτόκλειστου. Συγκεκριμένα, η θερμότητα πήζει τις πρωτεΐνες, καταστρέφοντας έτσι τη λειτουργικότητά τους.

Παράλληλα, είναι σημαντικό να απολυμαίνονται οι επιφάνειες καθώς για παράδειγμα τα σπόρια *Anthrax* σκοτώνονται με θέρμανση στους 100°C για 10 λεπτά. Αντίθετα, τα σπόρια *botulinum* και *C. subtilis*, ωστόσο, αντέχουν στο βρασμό για ώρες.

Η παστερίωση είναι μια εξειδικευμένη εφαρμογή υγρής θερμότητας που χρησιμοποιείται γενικά για υγρά. Η παστερίωση δεν σκοτώνει όλους τους μικροοργανισμούς, αλλά αυτό που κάνει είναι να μειώνει το βακτήριο που

προκαλεί μόλυνση του υγρού χωρίς αλλαγή της γεύσης ή της θρεπτικής ποιότητας του . Ταυτόχρονα, επικεντρώνεται κυρίως στην καταστροφή των *Mycobacterium bovis*, *Brucella abortus*, *Salmonella spp.* και *Escherichia coli*.

Τέλος, η ξηρή θερμότητα εφαρμόζεται σε διαδικασίες με υψηλή θερμοκρασία (φλεγόμενα ή ψήσιμο). Έχει μερικές εφαρμογές, συμπεριλαμβανομένου την καύση βιοϊατρικών αποβλήτων, βρόγχοι, φλεγόμενοι βρόγχοι εμβολιασμού βακτηρίων, και καυτηρίαση πληγών.

Ηλιακό φως

Το φως του ήλιου μπορεί να είναι ένα αποτελεσματικό απολυμαντικό εάν δοθεί επαρκής χρόνος και ένταση. Είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό στην αποξήρανση των υδρόβιων μακροφάγων και άλλων οργανισμών καθώς διαθέτει εφαρμογές στην απολύμανση πόσιμου νερού (Conroy et al. 2001; Backer 2002).

Αρκετοί είναι οι παράγοντες που επηρεάζουν τις ιδιότητες απολύμανσης του ηλιακού φωτός, συμπεριλαμβανομένης της έντασης του ηλιακού φωτός κατά τη στιγμή της έκθεσης, η οποία με τη σειρά της εξαρτάται από τη γεωγραφική θέση (δηλ. γεωγραφικό πλάτος), τις εποχιακές παραλλαγές και την κάλυψη σύννεφων, το εύρος των μηκών κύματος φως και η ώρα της ημέρας, τον τύπο των βακτηρίων που εκτίθενται, τη φύση καθώς και την παρουσία θρεπτικών στοιχείων, ικανών να στηρίξουν την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των διαφόρων μικροοργανισμών.

Ακτινοβολία μικροκυμάτων

Η ακτινοβολία μικροκυμάτων είναι μια μορφή μη ιονίζουσας ακτινοβολίας που μπορεί να είναι αποτελεσματικό απολυμαντικό σε υγρές εφαρμογές. Η ενέργεια των μικροκυμάτων επιταχύνει τα μόρια και τη θερμοκρασία του νερού με αποτέλεσμα να αυξάνονται έως ότου μετατραπούν σε ατμό. Ο ατμός είναι μια μορφή απολύμανσης υγρής θερμότητας. Η ακτινοβολία μικροκυμάτων έχει τρέχουσες εφαρμογές στον καθαρισμό πόσιμου νερού και γενικά απολύμανση, ειδικά για τη θανάτωση μικροοργανισμών σε οδοντοστοιχίες, φακούς επαφής και μπιμπερό(Dixon et al. 1999; Xi et al. 2000; Banting and Hill 2001; Hiti et al. 2001; Goodson et al. 2003α, 2003β).

Υπεριώδες φως

Το υπεριώδες φως (UV), που παράγεται από το φως του ήλιου και τους λαμπτήρες ατμών υδραργύρου, απολυμαίνει καταστρέφοντας το κυτταρικό DNA μικροοργανισμών. Το υπεριώδες φως παράγει κυρίως μια επιφάνεια απολύμανση επειδή δεν διεισδύει σε βάθος σε πολλά υλικά. Χρησιμοποιείται συχνά στην υδατοκαλλιέργεια για την απολύμανση του νερού (Piper et al.1988; Wedemeyer 2001). Έχει επίσης εφαρμογές στην απολύμανση του αέρα καθώς λειτουργεί και ως συμπληρωματικό απολυμαντικό σε επιφανείας που προορίζονται για χειρουργικές διαδικασίες (Levenson et al. 1986; Murray et al. 1999; Levetin et al. 2001).

Η χρήση υπεριώδους φωτός απαιτεί πρωτόκολλα για την ασφάλεια των ανθρώπων και των ζώων, καθώς το δέρμα και τα μάτια μπορεί να υποστούν βλάβη από την έκθεση σε Φως UV. Ωστόσο, η απολύμανση με υπεριώδες φως μπορεί να είναι αρκετά δαπανηρή, και για τον λόγο αυτόν στην περίπτωση που είναι αναγκαίο γίνεται χρήση του προγράμματος περιστροφής και έτσι οι νέοι λαμπτήρες εγκαθίστανται με τη μέγιστη απόδοση προστατεύοντας τα νερά ιχθύδια από επιβλαβή βακτήρια και ιούς.

Ακτινοβολία βήτα και γάμα

Δύο μορφές ιονίζουσας ακτινοβολίας, οι ακτίνες βήτα και γάμα, λειτουργούν ως απολυμαντικά σπάζοντας τους κλώνους DNA μικροοργανισμών. Η βήτα ακτινοβολία είναι μια δέσμη αρνητικών φορτισμένων σωματιδίων. Οι δέσμες ακτινοβολίας βήτα είναι αποτελεσματικές κατά των σπόρων του Anthrax.

Παράλληλα, η ακτινοβολία γάμα είναι μια ακτίνα φωτονίων πολύ υψηλής ενέργειας με τεράστια δύναμη διείσδυσης. Η ακτινοβολία γάμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την απολύμανση νερού, χάλυβα, μόλυβδου, ακόμη και εδάφους(Lumley 1976; Kubin et al. 1982; Polishchuk et al 1989; Sommer et al. 2001; Aksozek et al. 2002).

Φίλτρα

Μια σειρά φίλτρων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την απομάκρυνση μικροοργανισμών διαφόρων μεγεθών από αέρια και υγρά. Τα συστήματα επεξεργασίας νερού, φιλτράρουν το νερό, παράγοντας ένα προϊόν καθαρού νερού. Εδάφη και πετρώματα παρέχουν ένα φίλτρο για το νερό καθώς διεισδύει σε δεξαμενές υπόγειων υδάτων. Το φιλτράρισμα μπορεί να είναι ένα αποτελεσματικό μέσο απολύμανσης υλικών ευαίσθητων ως προς την θερμότητα καθώς και ως ταχημικά απολυμαντικά.

1.2.2 Χρήση απολυμαντικών

Αρχικά, ο καθαρισμός είναι το πιο σημαντικό βήμα στη διαδικασία καθαρισμού και απολύμανσης. Εάν ένα αντικείμενο ή το υλικό δεν καθαρίζεται επαρκώς, η εφαρμογή απολυμαντικού είναι χάσιμο χρόνου και χρήμα (*Wheeler 2003*). Η διαδικασία καθαρισμού μπορεί να χωριστεί σε τέσσερα στάδια: στεγνό καθάρισμα, υγρό πλύσιμο, πλύση και ξήρανση.

Στεγνό καθάρισμα

Το στεγνό καθάρισμα αναφέρεται στη διαδικασία αφαίρεσης όλων των αντικειμένων που δεν μπορούν να καθαριστούν ή που είναι αναλώσιμα. Η περιοχή που θα απολυμανθεί πρέπει να καθαρίζεται στεγνά με φτυάρι και σκούπα. Ωστόσο, οι επιφάνειες δεν θα είναι απαραίτητα καθαρές όταν έχει ολοκληρωθεί το καθάρισμα, λόγω της οργανικής ύλης που προσκολλάται σφιχτά στην επιφάνεια.

Υγρό πλύσιμο

Όλες οι εκτεθειμένες επιφάνειες, ρωγμές, κόμβοι, και μηχανικά είδη πρέπει να πλένονται με υγρό διάλυμα σαπουνιού ή με απορρυπαντικό. Το υγρό πλύσιμο πρέπει να γίνεται με ζεστό νερό. Κατά τη διάρκεια του υγρού πλυσίματος, θα πρέπει να πραγματοποιείται τρίψιμο ή ξύσιμο με την χρήση βούρτσας ή σύρματος σε όλες τις επιφάνειες .

Πλύση

Οι πλυμένες επιφάνειες πρέπει να ξεπλυθούν καλά για να αφαιρεθούν όλα τα ίχνη σαπουνιού ή απορρυπαντικού. Τα υπολείμματα σαπουνιού ή απορρυπαντικού δεν πρέπει να αφήνονται στην επιφάνεια γιατί μπορεί να αντιδράσουν με δυσμενή τρόπο στην περίπτωση που έρθει σε επαφή με το απολυμαντικό.

Ξήρανση

Οι ξεπλυμένες επιφάνειες πρέπει να στεγνώνονται για να αφαιρεθεί όλη η υγρασία. Η αφαίρεση της υγρασίας θα προστατεύσει αμέσως τον εξοπλισμό και τις επιφάνειες από φθορά. Σε δροσερό ή κρύο μέρος η ξήρανση μπορεί να επιτευχθεί με θέρμανση του χώρου καθώς και κυκλοφορία αέρα με την χρήση ανεμιστήρα. Σε ζεστό μέρος, η ξήρανση μπορεί να πραγματοποιηθεί μόνο με ανεμιστήρες. Σε περιορισμένους χώρους όπου η κυκλοφορία του αέρα από ανεμιστήρες δεν είναι αρκετή, η χρήση υψηλής πίεσης αέρα από συμπιεστή θα αφαιρέσει την περίσσεια υγρασία, έτσι ώστε να μπορεί να γίνει ξήρανση.

1.2.3 Επιπτώσεις των απολυμαντικών ουσιών στην υγεία των ιχθύων στο αίμα

Στο εμπόριο κυκλοφορούν αρκετά απολυμαντικά, τα οποία είναι δυνητικά βλαβερά και για αυτούς που τα χορηγούν καθώς και για τους ιχθύς που τα προσλαμβάνουν. Για το λόγο αυτό, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι παρενέργειες καθώς και οι απαραίτητες προφυλάξεις. Παράλληλα, όταν πρόκειται να χρησιμοποιηθούν στους ιχθύς σε οποιοδήποτε σημείο του κύκλου ζωής τους, η χρήση τους αυτή πρέπει να αναφέρεται στο σχέδιο υγιεινής. Τέτοια απολυμαντικά που θεωρούνται αποδεκτά για την εξασφάλιση της ευζωίας των ιχθύων είναι,

- Peracetic Acid
- Νερό με Όζον (Ozonated water)
- Chloramine T

- Iodophor

Επιπροσθέτως, οι απαιτήσεις των ιχθύων σε οξυγόνο ποικίλουν ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης και τις συνθήκες του περιβάλλοντος. Συνεπώς, όσον αφορά τον αριθμό των ερυθροκυττάρων, μεταβάλλεται σαν αποτέλεσμα του ενεργειακού κόστους παραγωγής των ερυθρών κυττάρων και της κυκλοφορίας αίματος στους ιστούς. Εξάλλου, για την ύπαρξη αιμολυτικής αναιμίας μπορεί να οφείλονται τοξικά αίτια, όπως συμβαίνει τακτικά από ουσίες, οι οποίες χρησιμοποιούνται ως απολυμαντικά. Αξίζει να σημειωθεί πως η ύπαρξη χλωρίου στο νερό προκαλεί την καταστροφή των ερυθροκυττάρων ως αποτέλεσμα της διακοπής βασικών μεταβολικών οδών (Ferguson, 2006).

Ωστόσο, έχουν πραγματοποιηθεί αρκετά πειράματα βάση των επιπτώσεων που έχουν τα απολυμαντικά στην βιοχημεία του αίματος των ιχθύων. Ένα παράδειγμα πειράματος είναι το εξής, ψάρια ιριδίζουσας πέστροφας (*Oncorhynchus mykiss*), εκτέθηκαν σε δυο διαφορετικές θανατηφόρες δόσεις ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$) της απολυμαντικής ουσίας πράσινου του μαλαχίτη για 2 εβδομάδες. Ο στόχος της μελέτης ήταν να προσδιοριστούν οι επιδράσεις του πράσινου μαλαχίτη στη βιοχημεία του αίματος της πέστροφας. Με το πέρας των ημερών, η γαλακτική αφυδρογονάση (LDH) και ο φωσφόρος (P) αυξήθηκαν, καθώς η ολική πρωτεΐνη (TP) και το ασβέστιο (Ca) μειώθηκε. Η έρευνα απέδειξε, ότι το πράσινο του μαλαχίτη είναι τοξικό για τα ψάρια, αλλά υπάρχουν λιγότερο γνωστές ή αναμενόμενες επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία από την κατανάλωση προϊόντων ψαριών σε χαμηλά επίπεδα που ανιχνεύονται στον εκτρεφόμενο σολομό και αντίστοιχα στην πέστροφα. (Journal of Fisheries and Aquatic Science 2: 82-85. 2007).

Μία άλλη έρευνα, (Michael L Bass et al. 1977) που βασίστηκε στην επίδραση της τοξικότητας του χλωρίου σε ορισμένες παραμέτρους του αίματος της πέστροφας του είδους *Salmo gairdneri*, έγινε αξιολόγηση του τρόπου δράσης του χλωρίου στον αιματοκρίτη, στην αιμοσφαιρίνη, στην μεθεμοσφαιρίνη καθώς και στο πλάσμα. Το χλώριο φάνηκε να διαχέεται εύκολα τα βράγχια, οξειδώνοντας την αιμοσφαιρίνη στη μεθεμοσφαιρίνη και διαταράσσοντας τις μεμβράνες των

ερυθροκυττάρων, με αποτέλεσμα την αιμόλυση, δηλαδή αιμολυτική αναιμία. Η πολυκυτταραιμία του στρες ήταν επίσης ένας λόγος της σημαντικής αύξησης των τιμών του αιματοκρίτη και της συγκέντρωσης αιμοσφαιρίνης. Παράλληλα, η αιμοσυγκέντρωση φάνηκε να παρεμβαίνει την κυκλοφορία του αίματος με αποτέλεσμα να εμποδίζει την παράδοση οξυγόνου στους ιστούς. Ως εκ τούτου, η εξέλιξη του stress των ψαριών καθώς και ο τύπος της αναιμίας προκάλεσε υποξία και τελικά οδήγησε σε θάνατο.

1.3 Αιθέρια έλαια

1.3.1 Γενικά στοιχεία

Τα αιθέρια έλαια εξάγονται από διάφορα φυτά, τα οποία εντοπίζονται σε εύκρατες και ζεστές χώρες, όπως είναι οι μεσογειακές και οι τροπικές. Ουσιαστικά πρόκειται, για πτητικές, φυσικές και πολύπλοκες ενώσεις, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την ευχάριστη οσμή και γεύση καθώς προέρχονται από αρωματικά φυτά όπως μπουμπούκια, λουλούδια, μίσχους, κλαδιά, σπόρους, καρπούς, ρίζες, ξύλο ή φλοιό κ.α. (Bakkali et al., 2008).

Χαρακτηριστικά έλαια είναι το έλαιο κανέλας (*Cinnamomum zeylanicum*), το έλαιο ρίγανης (*Origanum vulgare*), το έλαιο από το αγριοκυπαρίσσι (*Juniperus communis*), το έλαιο τειϊόδενδρου (*Melaleuca alternifolia*), το έλαιο του γαριφάλου (*Syzygium aromaticum*), το έλαιο της λουΐζας (*Aloysia triphylla*), το έλαιο του φασκόμηλου (*Salvia officinalis*) κ.α. Βρίσκονται σε υγρή μορφή, είναι σπάνια χρωματισμένα, καθώς χαρακτηρίζονται ως υδρόφιλα με την ιδιαιτερότητα ότι είναι διαλυτά στα λιπίδια αλλά και σε οργανικούς διαλύτες, έχοντας χαμηλότερη πυκνότητα από αυτή του νερού (Carson & Hammer, 2011).

Η χημική σύνθεση των αιθέριων ελαίων αποτελείται από 20-60 συστατικά σε διάφορες συγκεντρώσεις καθώς χαρακτηρίζονται από 2-3 κύρια συστατικά, τα οποία ανιχνεύονται σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις περίπου 20 – 70 %, σε σύγκριση με τα υπόλοιπα που είναι ιχνοστοιχεία (Bakkali et al., 2008). Αυτά τα κύρια συστατικά, καθορίζουν τις βιολογικές ιδιότητες των αιθέριων ελαίων και

διακρίνονται σε δύο ομάδες διαφορετικής βιοσύνθεσης (Croteau et al., 2000). Η πρώτη ομάδα αποτελείται από τερπένια και τερπενοειδή και η δεύτερη από αρωματικές και αλειφατικές ενώσεις, οι οποίες χαρακτηρίζονται από πολύ μικρό μοριακό βάρος. Πιο ειδικά αποτελούνται από αλκοόλες, οξέα, εστέρες, εποξειδία, αλδεΐδες, κετόνες, αμίνες και σουλφίδια. Τα τερπένια και τα τερπενοειδή χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο για τις αρωματικές τους ιδιότητες και έχουν σημαντικό θεραπευτικό ρόλο. Τέλος, λόγω του πλήθους των συστατικών που εμπεριέχονται στα αιθέρια έλαια, δεν μπορούμε να αποδώσουμε τις ευεργετικές τους ιδιότητες με βάση τη δράση μιας και μόνο ένωσης (Bajpai et al., 2012). Παράγοντες όπως η ενεργότητα του νερού, το PH, η περιεκτικότητα σε λιπαρά, πρωτεΐνες και ένζυμα, μπορούν να μειώσουν δυννητικά την αποτελεσματικότητα της δράσης των αιθέριων ελαίων. Παράλληλα, το χαμηλό PH έχει ως συνέπεια την αύξηση της διαλυτότητας και της σταθερότητάς τους, ενισχύοντας έτσι την αντιμικροβιακή τους δράση (Burt, 2004). Επομένως, κάθε αιθέριο έλαιο με βάση τα συστατικά του, διαθέτει χαρακτηριστική οσμή και διαφορετικές ιδιότητες. (Πολυσίου, 2002).

Επιπλέον, μέθοδοι για την ενίσχυση της δραστηριότητας των αιθέριων ελαίων αποτελούν η υψηλή περιεκτικότητα σε αλάτι (NaCl) αλλά και η χαμηλή θερμοκρασία (Juliany Rivera Calo et al.). Ανάλογα με την συγκέντρωση στην οποία βρίσκονται τα αιθέρια έλαια, είναι σε θέση να εμφανίσουν κυτταροτοξικές επιδράσεις στα ζωντανά κύτταρα, αλλά συνήθως είναι μη τοξικά (Bakkali et al., 2008)

Αρκετά πειράματα έχουν πραγματοποιηθεί, όσον αφορά την επίδραση των αιθέριων ελαίων στις αιματολογικές παραμέτρους σε διάφορα είδη ιχθύων.

Ένα παράδειγμα είναι αυτό, όπου χρησιμοποιήθηκαν αιθέρια έλαια γαρίφαλου-βασιλικού (*Ocimum gratissimum*) και τζίντζερ (*Zingiber officinale*) για να γίνει η αξιολόγηση τους ως αναισθητικά για το γατόψαρο της Νότιας Αμερικής (*Pseudoplatystoma reticulatum*) καθώς και για τις επιπτώσεις τους στην αιματολογία των ψαριών και τη γλυκόζη στο πλάσμα. (Leonardo Augusto da Silva et al. 2020). Αξιολογήθηκαν οι ακόλουθες αιματολογικές μεταβλητές: Αιμοσφαιρίνη, αιματοκρίτης, συνολικός αριθμός ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC), συνολικός αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων (WBC), συνολικός αριθμός

θρομβοκυττάρων, μέσος όγκος όγκου (MCV), μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης στο σώμα (MCHC), μέση αιμοσφαιρίνη στο σώμα (MCH) επιπλέον της γλυκόζης στο πλάσμα. Η αναισθησία με το αιθέριο έλαιο *O. grississimum* δεν επηρέασε την αιματολογία των ψαριών και τη γλυκόζη στο πλάσμα. Αντίθετα, βρέθηκαν σημαντικές σχέσεις μεταξύ της συγκέντρωσης αιθέριου ελαίου *Z. officinale* και της αιμοσφαιρίνης, του αιματοκρίτη και του MCHC ($p < .05$), πιθανόν να υποδηλώνουν αιμοσυγκέντρωση. Αυτή η μελέτη έδειξε ότι τόσο τα αιθέρια έλαια *O. gratissimum* όσο και τα *Z. officinale* είναι ικανά να προκαλέσουν αναισθησία στο *P. reticulatum*, αν και το πρώτο παρουσίασε καλύτερα αποτελέσματα, λαμβάνοντας υπόψη τον χαμηλότερο χρόνο επαγωγής και το γεγονός ότι η αιματολογία των ψαριών δεν επηρεάστηκε.

Σε μια άλλη έρευνα (Eisa Ebrahimi et. al 2020), μελετήθηκαν οι επιδράσεις αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου (*Rosmarinus officinalis*) στην απόδοση ανάπτυξης καθώς και οι αιματολογικές παραμέτρους του νεαρού μεγάλου οξυρρύγχου (*Huso huso*) .Στο τέλος του πειράματος, ορισμένες άνοσό-αιματολογικές παράμετροι και μεταβολικά προϊόντα ορού, συμπεριλαμβανομένων χοληστερόλης, γλυκόζης, ολικής πρωτεΐνης, λευκωματίνης, σφαιρίνης, τριγλυκεριδίων, καθώς και ορισμένων ηπατικών ενζύμων όπως η γλουταμική οξαοξική τρανσαμινάση (GOT) και η γλουταμική πυρουβική τρανσαμινάση (GPT) εξετάστηκαν. Οι παράμετροι ανάπτυξης παρέμειναν ανεπηρέαστες στο τέλος της δοκιμής. Στην παρούσα μελέτη, τα ψάρια συμπληρώθηκαν με 0,1% RO έδειξαν η υψηλότερη αύξηση του αριθμού των λεμφοκυττάρων, καθώς επίσης , τα ουδετερόφιλα του περιφερικού αίματος είναι εξαιρετικά κινητικά κύτταρα με αποτέλεσμα να μαζεύονται γρήγορα σε σημεία λοίμωξης και έτσι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο. Συμπερασματικά, μπορεί να προταθεί ότι το αιθέριο έλαιο δεντρολίβανου μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη διατροφή για τη βελτίωση των αιματολογικών παραμέτρων και την ενίσχυση της ανοσίας του νεαρού οξυρρύγχου (*Huso huso*) καθώς, μπορεί να είναι η κατάλληλη αντικατάσταση της οξυτετρακυκλίνης στη διατροφή των νέων ιχθύων.

Τέλος , σε μια άλλη έκθεση του (Gustavo Moraes Ramos Valladão et al. 2019) που το θέμα ήταν επιδράσεις του αιθέριου ελαίου θυμαριού (*Thymus vulgaris*) σε αιμο-ανοσολογικούς δείκτες, εντερική μορφολογία και μικροβιώματα τιλάπια του

Νείλου (*Nile tilapia*), κατέληξε στο συμπέρασμα ότι οι δίαιτες ήταν ασφαλείς και δεν έδειξαν αρνητικές ή τοξικές επιδράσεις. Τα αιμοσφαίρια των ψαριών που τρέφονταν με διαφορετικές συγκεντρώσεις ελαίου κατά τη διάρκεια της μελέτης έδειξαν σημαντικές αλλαγές. Ο συνολικός αριθμός λευκοκυττάρων αυξήθηκε σημαντικά στην ομάδα TVEO 1% σε σύγκριση με εκείνη του μάρτυρα ($p < 0,05$) μετά από 15 ημέρες σίτισης. Επιπλέον, παρόλο που δεν υπήρχε σημαντική διαφορά, τα δεδομένα για τα ουδετερόφιλα, τα μονοκύτταρα και τα βασεόφιλα έδειξαν μια σαφή ανοδική τάση με ένα αυξανόμενο επίπεδο TVEO.

1.3.2 Αιθέρια έλαια ως φυσικά απολυμαντικά

Όσον αφορά, τα τελευταία χρόνια η ζήτηση των αρωματικών φυτών και των εκχυλισμάτων τους ολοένα και αυξάνεται. Ο λόγος είναι χάρη στις ευεργετικές ιδιότητές τους, όπως είναι η αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική τους δράση λόγω των φυσικοχημικών τους παραγόντων καθώς έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά και απέναντι στους ιούς, στους μύκητες, στα βακτήρια και στα παράσιτα, αναστέλλοντας την ανάπτυξη και την επιβίωσή τους. Γενικά, η αντιμικροβιακή δράση των αιθέριων ελαίων, βάσει των χημικών συστατικών τους, ταξινομείται όπως παρακάτω: φαινόλες > αλδεΐδες > κετόνες > αλκοόλες > αιθέρες > υδρογονάνθρακες. Πολλές μελέτες έχουν αποδώσει την αντιμικροβιακή δράση των αιθέριων ελαίων, στην ικανότητά τους να διεισδύουν μέσω των βακτηριακών μεμβρανών στο εσωτερικό του κυττάρου, εμφανίζοντας έτσι ανασταλτική δραστηριότητα στις λειτουργικές και λιπόφιλες ιδιότητες του κυττάρου (Bajrai et al., 2012). Η αντιοξειδωτική τους δράση οφείλεται σε φαινολικές ενώσεις, τις οποίες και εμπεριέχουν. Οι φαινολικές ενώσεις χαρακτηρίζονται ως δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών και παράγονται σε συγκεκριμένα στάδια της ανάπτυξής τους.

Οι μηχανισμοί δράσης των αιθέριων ελαίων μπορεί να σχετίζονται με την ικανότητα των φαινολικών ενώσεων να μεταβάλλουν τη διαπερατότητα των μικροβιακών κυττάρων καθώς επίσης και να διαταράσσουν τις κυτταροπλασματικές μεμβράνες (Bajrai et al., 2012). Επομένως, η αλληλεπίδραση των αιθέριων ελαίων με τις μικροβιακές κυτταρικές μεμβράνες έχουν ως αποτέλεσμα την αναστολή ανάπτυξης ορισμένων βακτηριδίων.

Η χρήση των αιθέριων ελαίων είναι ευρέως γνωστή σε βιομηχανίες τροφίμων, για την παρασκευή φαρμάκων, καλλυντικών καθώς και γεωργικών προϊόντων, καθώς συγκεκριμένα εκτιμάται ότι το 50% των φυτών που εμπορεύονται παγκοσμίως, χρησιμοποιείται στις βιομηχανίες τροφίμων, το 25% χρησιμοποιείται για την παραγωγή καλλυντικών, το 20% για θεραπευτικές χρήσεις στις φαρμακοβιομηχανίες καθώς το 5% για άλλες εφαρμογές, όπως η παραγωγή εντομοκτόνων (International Trade Center, 1982). Χρησιμοποιούνται επίσης, στη συντήρηση και στην κονσερβοποίηση των τροφίμων. Ωστόσο, βάση όλων των παραπάνω ευεργετικών ιδιοτήτων τους στους υδρόβιους οργανισμούς, έχει αποδειχθεί ακόμη ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν και στον κλάδο των υδατοκαλλιεργειών .

1.3.3 Άλλες ιδιότητες

Πολλοί είναι εκείνοι που μελετούν συνεχώς και ανακαλύπτουν νέα μυστικά όσον αφορά τις ιδιότητες των αιθέριων ελαίων, τα οποία παράγονται από αρωματικά – φαρμακευτικά φυτά. Οι κυριότερες ιδιότητες αναφέρονται παρακάτω.

Αναισθητικές : Το στρες των ιχθύων, είναι μια κατάσταση που αρχικά μπορεί να προκαλέσει την αναστολή της αναπαραγωγής τους και της ανάπτυξής τους και εν συνεχεία μπορεί να επηρεάσει άμεσα την ακεραιότητα του DNA (Malandrakis et al., 2016). Βάση αυτού του γεγονότος, η εφαρμογή των αιθέριων ελαίων σε συνθήκες εντατικής εκτροφής πραγματοποιείται για την αναισθησία των ιχθύων καθώς είναι ιδιαίτερα σημαντική για την εξασφάλιση της σωστής διαβίωσής τους (Golomazou et al., 2016). (π. χ. κανέλλα, γαρούφαλλο)

Αναλγητικές : Την ιδιότητα αυτή διαθέτουν τα αιθέρια έλαια που περιέχουν μεγάλες ποσότητες αλκοολών, τα οποία χρησιμεύουν δραστικά στην ανακούφιση συνήθως κάποιου πόνου. (π.χ. δεντρολίβανο)

Αντιαλλεργικές : Ανάλογα το είδος της αλλεργίας, το αίτιο που την προκάλεσε καθώς και τις διαστάσεις που παίρνει, υπάρχουν και τα αντίστοιχα αιθέρια έλαια που επιδρούν σε αυτή. (π.χ. χαμομήλι)

Αποσυμφορητικές : Αυτή την ιδιότητα διατηρούν τα αιθέρια έλαια κατά της κυτταρίτιδας ή και περιπτώσεων θαμπής επιδερμίδας.(π.χ. γεράνιο , ρίγανη)

Αντισηπτικές : Πολλά είναι τα αιθέρια έλαια που διαθέτουν αυτή την ιδιότητα, καθώς είναι ικανά να επηρεάζουν αρνητικά την ανάπτυξη ή και ακόμη να θανατώνουν παθογόνους μικροοργανισμούς, όπως είναι τα βακτήρια, τα παράσιτα, τους ιούς και τους μύκητες. (π.χ. γιασεμί, ευκάλυπτος, θυμάρι, κανέλλα, κίτρο, ροδόξυλο)

Αφροδισιακές : Από τα αρχαία χρόνια είναι γνωστό , ότι το αιθέριο έλαιο εμπεριέχει χαλαρωτικές και καταπραϋντικές ιδιότητες για το σώμα και το μυαλό.(π.χ. σανταλόξυλο, μαύρο πιπέρι)

Διουρητικές : Βάση αυτής της ιδιότητας καταπολεμούνται προβλήματα ουροποιητικού συστήματος καθώς συμβάλει στην αποτοξίνωση του οργανισμού. (π.χ. άρκευθος)

Ενυδατικές : Ο ίδιος ο Ιπποκράτης αναφέρει την σπουδαιότητα του αρωματικού λουτρού, αφού μέσω αυτής της διαδικασίας κατά εκατό φορές η δράση του εκάστοτε αιθέριου ελαίου .(χαμομήλι)

Ηπατικές : Αιθέρια έλαια μεγάλης περιεκτικότητας σε αλκοόλες βοηθούν την τόνωση του συκωτιού. (π.χ. δυόσμος, λουίζα, πεύκο, τριαντάφυλλο)

Καταπραϋντικές : Πολλά είναι τα αιθέρια έλαια που εμφανίζουν τέτοιες ιδιότητες . (λιβάνι, μαντζουράνα, μύτρο)

Καρδιοτονωτικές : Ιδιαίτερη αποτελεσματική είναι η χρήση αιθέριων ελαίων με τέτοιες ιδιότητες, καθώς συμβάλλουν ως ρυθμιστές των καρδιακών παλμών ακόμη και της αναπνοής . (π.χ. κανέλλα, μαντζουράνα, υλάνγκ)

Νευροτονωτικές : Σε περιπτώσεις απλής δυσφορίας τα αιθέρια έλαια μπορεί να ανταπεξέλθουν θετικά (π.χ. γιασεμί, θυμάρι, τριαντάφυλλο, λεβάντα), ενώ σε άλλες περιπτώσεις μπορεί να επαναφέρει τον άνθρωπο ακόμη και από σοκ. (π.χ. νερόλι)

Ορμονικές : Πολλά είναι τα αιθέρια έλαια που εμπεριέχουν τέτοιες ιδιότητες, για ξεχωριστές περιπτώσεις το κάθε ένα. (π.χ. μύρο, υλάνγκ, αχιλλεία, κυπαρίσσι, γλυκάνισος)

Οφθαλμικές : Η δράση των αιθέριων ελαίων είναι πολύ έντονη σε ορισμένες περιπτώσεις, όμως καθώς τα μάτια είναι πολύ ευαίσθητα όργανα του ανθρώπινου οργανισμού, η χρήση τους θα πρέπει να εφαρμόζεται μόνο υπό ιατρική συνταγογράφηση. (π.χ. λιβάνι, δεντρολίβανο, μέντα, λεμονόχορτο, σανταλόξυλο)

Προβιοτικές : Αρκετά είναι τα αιθέρια έλαια που έχουν αυτή την ιδιότητα. (π.χ. βασιλικός, γαρύφαλλο, δεντρολίβανο)

Στυπτικές : Η συγκεκριμένη ιδιότητα δρα ως ρυθμιστής των υγρών του σώματος καθώς είναι χρήσιμη και για την αναστολή αιμορραγίας μιας πληγής . (π.χ. λεβάντα, κυπαρίσσι)

Τονωτικές : Κύρια τονωτικά αιθέρια έλαια είναι (π.χ. βασιλικός, λεμόνι, γιασεμί)

Εντομοαπωθητικές : Υπάρχουν συγκεκριμένα αιθέρια έλαια που παρουσιάζουν εντομοαπωθητική δράση σε συγκεκριμένα είδη εντόμων . (π.χ. άρκευθος – αγριοκυπαρίσσι, γαρύφαλλο, ευκάλυπτος, κέδρος, κίτρο, λεμονόχορτο, μέντα, σιτρονέλα)

Τέλος, εκτός από τις παραπάνω ιδιότητες που είναι και οι κυριότερες ιδιότητες, τα αιθέρια έλαια εμφανίζουν και άλλες ιδιότητες όπως είναι, αντισπασμωδικές, διεγερτικές, επουλωτικές, χαλαρωτικές, αποτοξινωτικές, λιπολυτικές, υποτασικές – υπερτασικές (Bίνος 2013).

1.4 Ρίγανη (*Origanum vulgare*) και Κανέλα (*Cinnamomum zeylanicum*)

Τα αιθέρια έλαια από *O.vulgare* και *C.zeylanicum* μπορούν να χαρακτηριστούν ως φυσικοί παράγοντες που περιλαμβάνουν αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, φαρμακευτικές και αντικαρκινικές ιδιότητες. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως τοπικά αναισθητικά, αναλγητικά και αντιφλεγμονώδη προϊόντα. Μαζί με τα συστατικά και τις ενώσεις που περιλαμβάνει το κάθε ένα αντίστοιχα, έχουν την ικανότητα να αναστείλλουν νευρολογικές διαταραχές και καρδιαγγειακά νοσήματα. Σύμφωνα με τις παραπάνω ιδιότητες τους, μπορούν να βοηθήσουν και στην ανάπτυξη του οργανισμού. Σήμερα, οι χρήσεις τους σχετίζονται κυρίως με βιομηχανίες τροφίμων, φαρμάκων και καλλυντικών αλλά και στη παραγωγή

υδατοκαλλιεργειών, με σκοπό την καλύτερη ανάπτυξη των ιχθύων και τον έλεγχο των ασθενειών.

1.4.1 Ρίγανη: *Origanum vulgare*

Η ρίγανη ανήκει στην οικογένεια *Lamiaceae*, στο γένος *Origanum* και στο είδος *vulgare*. Πρόκειται για ένα βότανο, το οποίο διανέμεται στην Ευρώπη, στην Βόρεια Αφρική, στην Αμερική και την Ασία (Kintzios, 2002).

Τα αιθέρια έλαια της ρίγανης χαρακτηρίζονται από τις αντιμικροβιακές, αντιοξειδωτικές και αντιμυκητιακές τους δράσεις. Τα κύρια συστατικά των αιθέριων ελαίων της ρίγανης είναι η καρβακρόλη, η θυμόλη και η λιναλοόλη (Cengiz Sarikurkcu et al., 2015). Τα αιθέρια έλαια από *O.vulgare* παρουσιάζουν μεγαλύτερη αντιμικροβιακή δραστηριότητα λόγω της υψηλής περιεκτικότητας των επιμέρους φαινολικών ενώσεών τους, ιδίως από το συνδυασμό θυμόλης και καρβακρόλης, τα οποία συμβάλλουν επίσης στο άρωμα και στη γεύση του φυτού. Η θυμόλη, η οποία βρίσκεται σε υψηλή συγκέντρωση στο *O.vulgare* αλλά και σε άλλα φυτά, έχει την ικανότητα να αναστέλλει τη δράση της οξειδωσης του λινολεικού οξέος καθώς αποτελεί αυξητικό παράγοντα με υψηλό επίπεδο αντιοξειδωτικής δράσης και ανθετικότητα έναντι σε παθογόνους μικροοργανισμούς.

Τα αιθέρια έλαια ρίγανης χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο είτε σε φάρμακα, τρόφιμα αλλά και σε καλλυντικά. Ευρεία είναι η χρήση τους και ως πρόσθετα σε ζωοτροφές, στην παγκόσμια κτηνοτροφία. Επίσης, χρησιμοποιούνται στην παραγωγή υδατοκαλλιεργειών, κυρίως λόγω της ικανότητάς τους να βοηθούν στην ανάπτυξη των ιχθύων, για τον καλύτερο έλεγχο των ασθενειών, καθώς και για την αντικατάσταση των αντιβιοτικών.

Συγκεκριμένα, σε πειράματα που έχουν πραγματοποιηθεί, στην τσιπούρα *Sparus aurata L.* παρατηρήθηκε ότι τα αιθανολικά και υδατικά εκχυλίσματα του φυτού *Origanum vulgare*, έχουν αντιοξειδωτική δράση, στην περίπτωση που το αιθέριο έλαιο της ρίγανης προστέθηκε στο σιτηρέσιο της τσιπούρας (J. M. G. Beltran et al., 2018). Ακόμη, μετά από χρήση του εκχυλίσματος του φυτού *O. vulgare* έχουν καταγραφεί διάφοροι βαθμοί προστασίας από παρασιτώσεις στην τσιπούρα

(*Sparus aurata* Linnaeus 1758) και στο μυτάκι (*Puntazzo puntazzo*, Cetti 1977), (Athanassopoulou et al. 2004).

Τέλος, το καταναλωτικό ενδιαφέρον για αυτά τα προϊόντα είναι αρκετά μεγάλο, εξαιτίας των βιολογικών ιδιοτήτων τους, που βοηθούν στην προστασία της ανθρώπινης υγείας (Al-Kalaldeh et al., 2010).

1.4.2 Κανέλα: *Cinnamomum zeylanicum*

Η κανέλα ανήκει στην οικογένεια *Lauraceae*, στο γένος *Cinnamomum* και στο είδος *zeylanicum*. Το *C. zeylanicum* είναι ο εσωτερικός φλοιός, ενός μικρού αειθαλούς δέντρου, το οποίο χρησιμοποιούνταν ακόμα και στα αρχαία χρόνια ως βάλσαμο. Πρόκειται για ένα από τα πιο σημαντικά καρυκεύματα και χρησιμοποιείται ευρέως σε όλο τον κόσμο, καθώς έχει πολυάριθμες ευεργετικές και φαρμακευτικές ιδιότητες.

Ενδείκνυται για ποικιλία παθήσεων λόγω των αντιοξειδωτικών, των αντιφλεγμονωδών, των αντιδιαβητικών, των αντικαρκινικών αλλά και των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων του. Η κανέλα παρουσιάζει περισσότερες αντιοξειδωτικές ικανότητες σε σύγκριση με άλλα είδη καρυκευμάτων (M. A. Murcia et al., 2004).

Σύμφωνα με μια συγκριτική μελέτη του *B. Shan et al., 2005* το *C. zeylanicum* ενδείκνυται για εφαρμογή σε τρόφιμα ως αντιοξειδωτικό, καθώς παρουσίασε την υψηλότερη αντιοξειδωτική δράση ανάμεσα σε 26 παρόμοια είδη. Επίσης μπορεί να εφαρμοστεί σε προϊόντα διατροφής όχι μόνο ως αντιοξειδωτικός παράγοντας αλλά και ως συντηρητικό. Ακόμη, σε μελέτη βασιζόμενη στην αναισθησία ιχθύων και συγκεκριμένα είδος *Sparus aurata* L. χρησιμοποιήθηκαν αναισθητικές ιδιότητες από έξι αιθέρια έλαια, τα οποία εξήχθησαν από τα παρακάτω φαρμακευτικά φυτά, *Origanum vulgare*, *Eugenia aromatica*, *Aloysia triphylla*, *Melaleuca alternifolia*, *Juniperus communis*, *Cinnamomum zeylanicum* (Golomazou E. et al., 2016). Στο τέλος της μελέτης, ο πιο αποτελεσματικός αναισθητικός παράγοντας από τα παραπάνω φυτά, ήταν το *C. zeylanicum* καθώς ικανοποιούσε όλα τα κριτήρια μιας ιδανικής αναισθησίας (Golomazou et al., 2016).

Εκτός των παραπάνω ευεργετικών ιδιοτήτων τους, τα αιθέρια έλαια κανέλας έχουν και αντιδιαβητική δραστηριότητα. Σύμφωνα με μελέτες του *Blevins et al., 2007*, τα εκχυλίσματα κανέλας μειώνουν όχι μόνο τη γλυκόζη του αίματος αλλά και τα επίπεδα χοληστερόλης. Επίσης μειώνουν σημαντικά την απορρόφηση της αλανίνης στο έντερο.

Παράλληλα, συγκεκριμένες δόσεις κανέλας μπορούν να βελτιώσουν το οξειδωτικό στρες και το προφλεγμονώδες περιβάλλον στο πάγκρεας, έτσι ώστε να υπάρξει μεγαλύτερη προστασία των β – παγκρεατικών κυττάρων (*S.-C. Lee et al., 2013*). Επίσης δρουν και ως αντικαρκινικοί παράγοντες, με τη βοήθεια των προκυανιδών, έχουν την δυνατότητα να αναστείλλουν την αγγειογένεση που εμπλέκεται με τον καρκίνο (*J. Lu. et al., 2010*).

1.5 Συστατικά του αίματος των ιχθύων

1.5.1 Αίμα

Αίμα είναι το παχύρευστο υγρό ερυθρού χρώματος, που κυκλοφορεί στο αγγειακό σύστημα. Αποτελείται από έμμορφα κύτταρα, τα οποία συγκροτούνται σε ένα υγρό μέσο, το πλάσμα. Η κυκλοφορία του διά μέσου τις καρδίας, των αρτηριών, των φλεβών και των τριχοειδών αγγείων επιτελεί διάφορες λειτουργίες, όπως είναι η μεταφορά θρεπτικών ουσιών, ορμονών, βιταμινών, θερμότητας και οξυγόνου στους ιστούς και η απομάκρυνση του διοξειδίου του άνθρακα, καθώς και άχρηστων ουσιών που παράγονται κατά τον μεταβολισμό. Στους τελεόστεους ιχθύες ο όγκος του αίματος αντιστοιχεί περίπου στο 3-4% του σωματικού τους βάρους, αντίθετα με τους ελασμοβράγχιους ιχθύες και τα άλλα σπονδυλωτά, όπου το ποσοστό αυτό κυμαίνεται στο 5-8% (*Ferguson, 2006*). Το αίμα του ψαριού πήζει σε 20-30” ενώ το αίμα του ανθρώπου σε 7-8’ (*Κουφός Σ. - Βορεινάκης Φ. 1994*).

1.5.2 Πλάσμα

Το πλάσμα αποτελείται κατά κύριο μέρος του από νερό (90 –92%) και το υπόλοιπο μέρος του αποτελείται από πρωτεΐνες (8 – 9 %) και άλατα (1%). Το πλάσμα περιέχει υψηλές συγκεντρώσεις ιόντων νατρίου και χλωρίου που παραμένουν σε σταθερή αναλογία με τα ιόντα καλίου, ασβεστίου και μαγνησίου.

Όταν αυτή η ιοντική ισορροπία διαταραχθεί μπαίνει άμεσα σε κίνδυνο η ζωή του οργανισμού (Καββαδίας Σπ. 1994).

1.5.3 Ορός

Ο ορός είναι υγρό κιτρινωπού χρώματος, το οποίο απομένει μετά την πήξη του αίματος. Η σύνθεση είναι η ίδια με του πλάσματος, μόνο που ο ορός δεν περιέχει την πρωτεΐνη ινωδογόνο, η οποία συμβάλει στην πήξη του αίματος.

1.5.4 Κύτταρα του αίματος

Τα αιμοκύτταρα είναι το σύνολο των έμμορφων στοιχείων (ερυθρά αιμοσφαίρια, λευκά αιμοσφαίρια, θρομβοκύτταρα) καθώς αποτελούν και τον αιματοκρίτη . Ο αιματοκρίτης ποικίλλει ανάμεσα στα διάφορα είδη ιχθύων.

Ερυθρά αιμοσφαίρια

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια (ερυθροκύτταρα) είναι τα πλέον πολυάριθμα κύτταρα στο αίμα των ιχθύων και αποτελούν τον πιο ευδιάκριτο τύπο κυττάρων. Περιέχουν αιμοσφαιρίνη και συμμετέχουν κυρίως στη μεταφορά οξυγόνου από τα βράγχια στους ιστούς και του διοξειδίου του άνθρακα από τους ιστούς προς την καρδιά και τα βράγχια (Groman, 1982). Πρόκειται για κύτταρα με μεγάλο πυρήνα, ο οποίος περιέχει κόκκινη χρωματίνη με τη μορφή συσπειρώσεων και περιβάλλεται από κυτταρόπλασμα, το οποίο χρωματίζεται γαλάζιο με χρώση Giemsa. (LopezRuiz et al., 1992)

Αιμοπετάλια ή Θρομβοκύτταρα

Τα θρομβοκύτταρα αποτελούν τα πιο ευδιάκριτα κύτταρα αίματος στο αίμα των ιχθύων, μετά από τα ερυθροκύτταρα, και πιστεύεται ότι συμβάλλουν στη διαδικασία της πήξης του αίματος (*Doggett and Harris, 1989*), βοηθώντας στη

μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη (Groman, 1982). Εμφανίζονται είτε ως μεμονωμένα κύτταρα είτε σε συναθροίσεις. Στην τσιπούρα έχουν παρατηρηθεί τρεις μορφές θρομβοκυττάρων: στρογγυλά, επιμήκη και ατρακτοειδή. Τα θρομβοκύτταρα διαθέτουν έναν μεγάλο κεντρικό και έντονα χρωματισμένο πυρήνα, που φέρει χρωματίνη, και περιβάλλεται από κυτταρόπλασμα.

Λευκά αιμοσφαίρια

Τα λευκά αιμοσφαίρια (λευκοκύτταρα) των ψαριών είναι λιγότερο άφθονα συγκριτικά με τα ερυθρά και λειτουργούν με ποικίλους τρόπους προκειμένου να απαλλάξουν το αίμα από διάφορους βλαπτικούς παράγοντες. Μετρήσεις των μεταβολών του συνολικού αριθμού των λευκοκυττάρων ή των ποσοστών των διαφόρων τύπων των κυττάρων αυτών οδηγούν συχνά στην αντίληψη μιας παθολογικής κατάστασης.

Οι κύριοι τύποι τα κοκκιοκύτταρα(ουδετερόφιλα, ηωσινόφιλα και βασεόφιλα) και μη κοκκιώδη (λεμφοκύτταρα και μονοκύτταρα).

Λεμφοκύτταρα

Τα λεμφοκύτταρα μπορεί να ποικίλουν σε μέγεθος μεταξύ των ειδών των ιχθύων, η μορφολογία τους όμως είναι περισσότερο σταθερή. Πρόκειται για μικρά σφαιρικά κύτταρα, τα οποία διαθέτουν έναν μεγάλο, σφαιρικό, έκκεντρο πυρήνα και ένα ελάχιστο, σε σχήμα λεπτού δακτυλίου, γύρω από τον πυρήνα, κυτταρόπλασμα. Τα λεμφοκύτταρα μπορούν να μεταναστεύουν μέσω του επιθηλίου και του συνδετικού ιστού και δρουν στα πλαίσια της χημικής και της κυτταρικής ανοσίας (Groman, 1982).

Μονοκύτταρα

Τα μονοκύτταρα ή μακροφάγα κύτταρα του αίματος αποτελούν, συνήθως, ένα μικρό ποσοστό του πληθυσμού των λευκοκυττάρων. Αποτελούν σφαιρικά κύτταρα, που διαθέτουν ευρείες κυτταρικές αποφύσεις. Ο πυρήνας τους είναι μεγάλος, με σχήμα νεφρού, και το κυτταρόπλασμα τους, το οποίο χρωματίζεται κυανό με χρώση Giemsa, δίνει στα κύτταρα ένα ασύμμετρο περίγραμμα.

Ουδετερόφιλα ή πολυμορφοπύρρηνα

Τα ουδετερόφιλα στα ψάρια υπάρχουν περίπου στους ίδιους αριθμούς, όπως στα θηλαστικά, αλλά σε σύγκριση με το συνολικό ποσοστό του πληθυσμού λευκοκυττάρων του αίματος υπάρχουν διαφοροποιήσεις (περίπου 6-8 % σε ψάρια και 60-70 % σε θηλαστικά). Ο χρόνος ζωής των ουδετερόφιλων στους ιχθύς είναι κατά πάσα πιθανότητα οι 5 ημέρες καθώς μορφολογικά μοιάζουν πολύ με αυτά των θηλαστικών.

Ηωσινόφιλα

Τα ηωσινόφιλα κοκκιοκύτταρα , που συνήθως αναφέρονται απλά ως “ηωσινόφιλα” ή “ εοσινόφιλα”, αναπτύσσονται κατά την διάρκεια της αιμοποίησης στον μυελό των οστών , πριν μετοικήσουν στο αίμα. Αποτελούν συστατικά του ανοσοποιητικού συστήματος και είναι υπεύθυνα για την καταπολέμηση πολυκυττάρων παρασίτων και ορισμένων λοιμώξεων στα σπονδυλωτά.

Βασεόφιλα

Όπως και τα ηωσινόφιλα, θεωρούνται από ορισμένους ερευνητές σπάνια στα ψάρια, χωρίς καθορισμένη λειτουργία και εμπλοκή σε κάποιο αμυντικό μηχανισμό. Περιέχουν μεγάλους κυτταροπλασματικούς κόκκους, που επισκιάζουν τον πυρήνα των κυττάρων καθώς παρατηρούνται στο μικροσκόπιο.

1.6 Αιματολογικές αναλύσεις στους ιχθύες

Όλες οι αιματολογικές αναλύσεις αναπτύχθηκαν για χρήση της ανθρώπινης ιατρικής. Ταυτόχρονα, οι εξετάσεις αίματος έχουν προσαρμοστεί και στους ιχθύες. Βάση της ιατρικής πρακτικής στον άνθρωπο και στα σπονδυλωτά, πολλοί ερευνητές αποπειράθηκαν να οριοθετήσουν τις φυσιολογικές αιματολογικές τιμές σε ποικίλα είδη ιχθύων. Αυτές οι τιμές μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση των συνθηκών των εκτρεφόμενων ιχθύων, για την διάγνωση μολύνσεων

και παθογόνων περιπτώσεων καθώς και για τον εντοπισμό άλλων παραμέτρων, οι οποίες προκαλούν καταπόνηση του οργανισμού.

Οι ιχθύες ως υδρόβιοι ποικιλόθερμοι οργανισμοί, ανταποκρίνονται αμέσως στις αλλαγές του περιβάλλοντος τους. Αυτές οι αλλαγές μπορούν να λάβουν χώρα βάση της ώρας, της ημέρας καθώς ακόμη και της εποχής. Οι υδρόβιοι οργανισμοί πιθανώς να είναι συχνά σε κατάσταση διαδικασίας προσαρμογής στις νέες συνθήκες ή να έχουν ήδη προσαρμοστεί. Το κύριο ερώτημα είναι αν ο όρος «φυσιολογικό» μπορεί να εφαρμοστεί στους υδρόβιους ποικιλόθερμους, αφού «φυσιολογική» αιματολογική κατάσταση στους ιχθύες μπορεί να παρουσιαστεί με τιμή εύρους τόσο μεγάλη ώστε να είναι άνευ σημασίας. Παρόλα αυτά, μια προσεχτική ερμηνεία των αιματολογικών στοιχείων μπορεί να μας εξασφαλίσει σημαντικές πληροφορίες για πολυσήμαντες λειτουργίες. Για αυτό τον λόγο, περισσότερη έμφαση δόθηκε στην ανάπτυξη, την εφαρμογή και τη διάθεση μεθοδολογιών (Hesser 1960, Blaxhall & Daisley 1973, Casillas & Smith 1977, Christopher et al. 1978).

Τα στοιχεία που θεωρούνται κατάλληλα ,χαρακτηρίζονται από τους όρους των ερυθροκυττάρων, των οποίων κύριος ρόλος τους είναι η αναπνευστική μεταφορά αερίων, και των λευκοκυττάρων, των οποίων ο κύριος ρόλος τους είναι η πήξη του αίματος καθώς και η ανταπόκριση τους στην παθογένεια.

Αυτές οι τεχνικές αναφέρονται σε μια σειρά από προσπάθειες να υπολογισθούν διάφοροι βιοχημικοί παράμετροι του αίματος των ιχθύων συλλέγοντας έγκυρες τιμές.

Συνήθως οι δείκτες του αίματος χρησιμοποιούνται είτε ως άμεσοι είτε ως συμπερασματικοί δείκτες της λειτουργικής κατάστασης του οργανισμού. Ωστόσο η επίδραση του στρες (stress) σε αυτούς τους δείκτες είναι διαρκής και εκτενής, δίνοντας έτσι τη δυνατότητα σύνδεσης των τιμών των αιματολογικών αναλύσεων με πορίσματα που σχετίζονται με την φυσιολογική ή όχι συμπεριφορά του ψαριού (Iwama. G.K. et al. 1995).

Οι κυριότερες αναλύσεις σχετίζονται συνήθως με την καταμέτρηση των ερυθροκυττάρων, τον προσδιορισμό της αιμοσφαιρίνης και του αιματοκρίτη, τον υπολογισμό όγκων αίματος, την κατανομή μεγεθών των ερυθρών κυττάρων, την ηλεκτροφόριση της αιμοσφαιρίνης, την εξίσωση καμπύλης του οξυγόνου, την δραστηριότητα των ενζύμων των ερυθρών κυττάρων, τον προσδιορισμό και

υπολογισμό των λευκοκυττάρων, μονοκυττάρων, θρομβοκυττάρων, λεμφοκυττάρων, μακροφάγων, ετερόφιλων, βασεόφιλων και ηωσινόφιλων, και τέλος τον υπολογισμό επιπέδων ορμονών και βιοχημικών ουσιών.

1.7 Τεχνικές αιμοληψίας

Τα ψάρια συλλέγονται απαλά με μια μικρή καθαρή απόχη, αποφεύγοντας το στρες και αμέσως αναισθητοποιούνται σε φαινοξυαιθανόλη. Ο χρόνος που απαιτείται για την αναισθητοποίηση των ψάρια είναι συνήθως 2-3 λεπτά. Η αναισθητοποίησή τους μπορεί να διακριθεί από την απώλεια της ισορροπίας και την ακινησία όταν αυτά αγγίζονται. Η χρήση αποστειρωμένων συριγγών είναι ένα απαραίτητο μέτρο προφύλαξης λόγω του ότι στην περίπτωση που το αίμα έρθει σε επαφή με γυαλί οδηγείται σε μειωμένους χρόνους πήξης (Smith, Lewis & Kaplan, 1952). Για να αποφευχθεί η μόλυνση με βλέννα και νερό η περιοχή πρέπει να σκουπιστεί με ένα απορροφητικό χαρτί.

Η λήψη του αίματος στους ιχθύες πραγματοποιείται από την ουραία φλέβα είτε με πλευρική είτε με κοιλιακή προσέγγιση, καθώς μπορεί να πραγματοποιηθεί εναλλακτικά και από την καρδιά. Ωστόσο, ως καλύτερη μέθοδο για τη λήψη μεγάλης ποσότητας αίματος συστήνεται η αιμοληψία από τα αγγεία της ουράς (Lawbart, 2001, Meyers, 2004, White 2000).

Κατά την πλευρική προσέγγιση, η βελόνα εισέρχεται με γωνία 45ο κάτω από την πλευρική γραμμή κοντά στη βάση του μίσχου της ουράς. Στη συνέχεια, προωθείται διαμέσου των μυών προς την σπονδυλική στήλη. Στην αίσθηση της αντίστασης λόγω επαφής με το σπόνδυλο, η βελόνα οδηγείται κοιλιακά και πλευρικά προς την σπονδυλική στήλη (1-3mm) κάνοντας ταυτόχρονα αναρρόφηση με τη σύριγγα (Collinw, 1993). Η αναρρόφηση πρέπει να γίνεται αργά για την αποφυγή ρήξης αγγείων, καθώς τα ψάρια έχουν χαμηλή πίεση αίματος.

Κατά κοιλιακή προσέγγιση, η βελόνα εισέρχεται διαμέσου μυϊκών μαζών των κάτω κοιλιακών τοιχωμάτων, κάθετα με τον οριζόντιο άξονα του σώματος και 1cm οπισθίως του εδρικού πτερυγίου και ακολουθεί η ίδια διαδικασία με την πλευρική προσέγγιση.

Στην συνέχεια, το αίμα μεταφέρεται αμέσως είτε σε σωλήνα διαχωρισμού ορού ή σε σωλήναριο επικαλυμμένο με ηπαρίνη. Ο ορός ή το πλάσμα προσδιορίζουν το σύνθητες προφίλ στη χημεία του αίματος. Χρησιμοποιώντας σωλήνες ηπαρίνης επιτρέπεται ο διαχωρισμός του πλάσματος από τα ερυθροκύτταρα καθώς προσδίδει καλύτερα αποτελέσματα με διατηρημένο αίμα.

.

1.8 Χρώση May Grünwald- Giemsa

Χρησιμοποιείται κυρίως για τα επιχρίσματα αίματος και μυελού των οστών καθώς αλλά και για τα στείρα βιολογικά υλικά (πλευριτικό υγρό, περικαρδιακό υγρό, ασκίτικό, υγρό, αρθρικό υγρό, εγκεφαλονωτιαίο υγρό) για το χαρακτηρισμού του τύπου των λευκών. Χαρακτηρίζεται ως πανοπτική χρώση, επειδή βάφει όλα τα κυτταρικά συστατικά. Έτσι έχουμε μπλε το RNA, το κυτταρόπλασμα και τους πυρινίσκους, κόκκινα και μωβ το DNA καθώς πορτοκαλί τα πρωτογενή κοκκία, και κόκκινα την αιμογλοβίνη και τα ηωσινοφιλικά κοκκία. (Pages et al 1995)

1.9 Σκοπός της διατριβής

Σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η διερεύνηση της επίδρασης διαλυμάτων αιθέριων ελαίων σε αιματολογικές παραμέτρους της εκτρεφόμενης τσιπούρας. Συγκεκριμένα, θα μελετηθούν τα κύτταρα του αίματος μετά από εφαρμογή αιθέριων ελαίων ρίγανης και κανέλας στο νερό εκτροφής για χρονικό διάστημα δυο μηνών. Θα χρησιμοποιηθούν τέσσερις μεταχειρίσεις με προσθήκη 1% και 2% αιθέριου ελαίου ρίγανης και κανέλας και μια ομάδα ελέγχου. Στις εργαστηριακές αναλύσεις θα γίνει καταγραφή των κυττάρων του αίματος (ερυθρών και λευκών αιμοσφαιρίων) και τυποποίηση λευκοκυττάρων μετά από τους πειραματικούς χειρισμούς. Επίσης, θα εκτιμηθεί ο αιματοκρίτης. Από την παρούσα διατριβή αναμένεται να προκύψουν συμπεράσματα που θα συσχετίσουν καινοτόμα πρωτόκολλα εκτροφής με δείκτες υγείας των εκτρεφόμενων ιχθύων.

2.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Πειραματικός σχεδιασμός

Για την διεξαγωγή του πειράματος, μεταφέρθηκαν 150 ιχθύδια του είδους *Sparus aurata* με αρχικό μέσο βάρος $5.00 \pm 0,20g$ σε ειδικές συσκευασίες με παροχή οξυγόνου, από τον ιχθυογεννητικό σταθμό «ΣΕΛΟΝΤΑ (πρώην ΔΙΑΣ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ Α.Β.Ε.Ε.)» που έχει τις εγκαταστάσεις του στην Πελασγία Φθιώτιδος προς τις εγκαταστάσεις του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος στο Βόλο, όπου και έλαβε χώρα το πείραμα. Το πείραμα διήρκεσε συνολικά 62 ημέρες.

Τα ιχθύδια, τοποθετήθηκαν σε δεξαμενές κλειστού κυκλώματος κυκλοφορίας θαλασσινού νερού. Συγκεκριμένα, οι πειραματικές εγκαταστάσεις αποτελούνταν από 3 ενυδρεία χωρητικότητας 120L το καθένα, και από σύστημα μηχανικής – βιολογικής διήθησης του νερού, για την απομάκρυνση της αμμωνίας, των περιττωμάτων και υπολειμμάτων τροφής. Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, χρησιμοποιήθηκε νερό βρύσης στο οποίο προθέτονταν συνθετικό αλάτι, ώστε η αλατότητα του νερού να είναι 30‰. Σε καθημερινή βάση πραγματοποιούνταν σιφωνισμός του πυθμένα και αντικατάσταση του νερού έως και 10% του συνολικού όγκου του ενυδρείου. Επίσης, για την νιτροποίηση των αζωτούχων οργανικών ενώσεων, τοποθετούνταν τόσο στο νερό του ενυδρείου όσο και μέσα στα φίλτρα, διάλυμα βακτηρίων, σε τακτά χρονικά διαστήματα. Η διάταξη των ενυδρείων καθώς και των φίλτρων απεικονίζεται στην Εικόνα 2.1.



Εικόνα 2.1. Διάταξη δεξαμενών και απεικόνιση του συστήματος φιλτραρίσματος-αποστείρωσης.

Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος πραγματοποιούνταν έλεγχος για τις φυσικοχημικές παραμέτρους του νερού. Εβδομαδιαία με τη χρήση φορητών ηλεκτρονικών οργάνων, καταγράφονταν μετρήσεις για τη θερμοκρασία του νερού (21 °C), το pH (8,00 ± 0,4), την αλατότητα (30 ± 0,5‰) καθώς και για το διαλυμένο οξυγόνο (>6,5 mg/l). Επιπρόσθετα, σε τακτά χρονικά διαστήματα με τη χρήση εμπορικών test-kits, προσδιορίζονταν η συγκέντρωση της ολικής αμμωνίας (<0,5 mg/l), των νιτρικών και νιτρωδών. Η τεχνητή φωτοπερίοδος που εφαρμόστηκε ήταν 12 ώρες φως – 12 ώρες σκότους με την εναλλαγή να πραγματοποιείται στις 08:00 και 20:00, αντίστοιχα.

Ο εμπλουτισμός του νερού με τα αιθέρια έλαια , αρχικά έλαβε χώρα στο 1^ο ενυδρείο με έλαιο κανέλας (Cin) με συγκέντρωση 1% , στο 2^ο ενυδρείο με έλαιο κανέλας (Cin) 2 % ,στο 3^ο ενυδρείο με έλαιο ρίγανης (Or) 1%, στο 4^ο ενυδρείο με έλαιο ρίγανης (Or) 2 % και τέλος στο 5^ο ενυδρείο που ήταν η ομάδα ελέγχου.

Η διατροφική ομάδα αποτελούνταν από 150 ιχθύδια, τα οποία κατανεμήθηκαν σε υποομάδες των 30 ατόμων σε 5 ενυδρεία, και η σίτιση γινόταν με τροφή του εμπορίου κατάλληλη για το μέγεθος και τις ανάγκες του ιχθύος.

Η χορήγηση της τροφής γινόταν με το χέρι καθημερινά, 1 φορές την ημέρα και λάμβανε χώρα στις 11.00 π.μ. . Η σίτιση ήταν σύμφωνα με τη βιομάζα.

2.2 Δειγματοληψίες

Η εκτροφή των ιχθυδίων διήρκεσε 62 ημέρες. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου πραγματοποιήθηκε 1 καταμέτρηση βάρους και ολικού μήκους την 11^η ημέρα. Για την αναισθητοποίηση των ψαριών χρησιμοποιήθηκε φαινοξυθανόλη σε συγκέντρωση 0,10 ml/l. Στη συνέχεια, ζυγίζονταν ατομικά κάθε ιχθύδιο σε ζυγό ακριβείας 2 δεκαδικών ψηφίων (0,01 g) και μετρούνταν το ολικό μήκος με ιχθυόμετρο (ακρίβεια 0,1 cm).

2.3 Αιμοληψία

Η αιμοληψία ψαριών στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε από την τυχαία συλλογή συνολικών 9 ψαριών από κάθε ενυδρείο. Αρχικά τα ψάρια αναισθητοποιήθηκαν με τη χρήση του αναισθητικού φαινοξυαιθανόλης. Η

αιμοληψία έγινε από την ουραία φλέβα με τη χρήση σύριγγας 2,5ml και βελόνας 23G. Η είσοδος της βελόνας έγινε στη βάση του ουραίου μίσχου υπό γωνία 45°. Μετά την ολοκλήρωση της αιμοληψίας το αίμα τοποθετήθηκε σε ειδικά σωληνάρια επιστρωμένα με αντιπηκτική ουσία EDTA, προκειμένου να αποφευχθεί η πήξη του.

2.4 Μέτρηση αιματοκρίτη

Προκειμένου να μετρηθεί ο αιματοκρίτης χρησιμοποιούνται τριχοειδή σωληνάρια μήκους 75mm τα οποία περιέχουν αντιπηκτική ουσία. Η πλήρωση των τριχοειδών σωληναρίων γίνεται από τα σωληνάρια που έχει αποθηκευτεί το αίμα μετά την αιμοληψία. Το τριχοειδές σωληνάριο τοποθετείτε οριζόντια μέχρι να γεμίσει με αίμα στο 60-70% του μήκους του αποφεύγοντας τη δημιουργία φυσαλίδων αέρα και στη συνέχεια σφραγίζεται με πλαστελίνη έτσι ώστε να αποφευχθεί η διαρροή του αίματος. Τα 9 δείγματα τοποθετούνται στη φυγόκεντρο μικροαιματοκρίτη και ακολουθεί φυγοκέντριση για 5'. Μετά την ολοκλήρωση της φυγοκέντρισης γίνεται υπολογισμός του αιματοκρίτη για κάθε δείγμα με την βοήθεια του ειδικού χάρακα υπολογισμού αιματοκρίτη. Η φυγοκέντριση των δειγμάτων γίνεται αμέσως μετά την αιμοληψία.

2.5 Επίχρισμα περιφερειακού αίματος

Κατά την διαδικασία της επίστρωσης, από το φλεβικό αίμα πρέπει να απορρίπτονται οι πρώτες σταγόνες αίματος από τη σύριγγα. Στη συνέχεια, μια μικρή σταγόνα επιστρώνεται σε μια αντικειμενοφόρο πλάκα, αφού έχει καθαριστεί με απορρυπαντικό και οινόπνευμα και έχει σκουπιστεί με απαλό πανί. Το μέγεθος της σταγόνας αίματος είναι πολύ σημαντικό για τη σωστή επίστρωση. Μεγάλες σταγόνες δημιουργούν πολύ μακρύ ή παχύ επίχρισμα. Όσο πιο μικρή είναι η σταγόνα, τόσο μικρότερο και λεπτότερο το επίχρισμα. Για τη δημιουργία της επίστρωσης, το πλακίδιο με το οποίο γίνεται η επίστρωση κρατείται σταθερά στη σταγόνα του αίματος σε μια γωνία 30 – 45 ° προς το πλακίδιο επίστρωσης. Το πλακίδιο με το οποίο γίνεται η επίστρωση ωθεί τη σταγόνα προς τα πίσω, μέσα στην ίδια σταγόνα, και κρατείται σε αυτή τη θέση έως ότου το αίμα διασπαρεί 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. (Εικόνα 3)



Εικόνα 3. Επίστρωση αίματος σε αντικειμενοφόρο πλάκα

2.6 Πρωτόκολλο χρώσεων

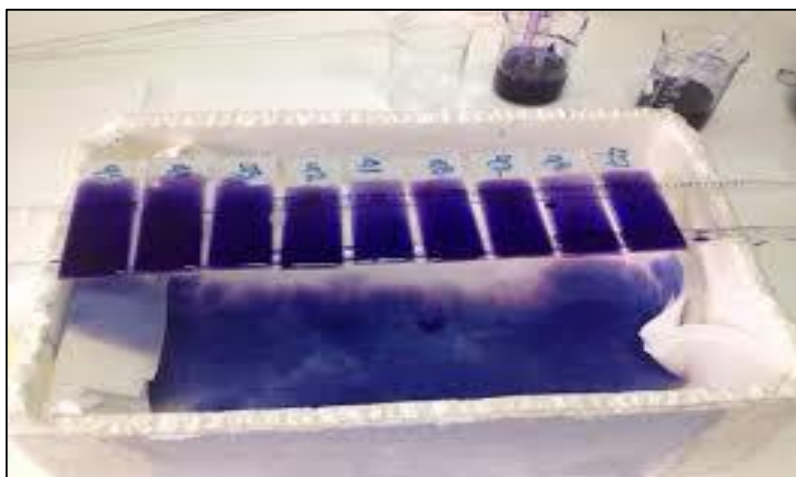
Οι σύνθετες χρώσεις περιέχουν: μία κύρια χρωστική, σταθεροποιητή, αποχρωματιστική ουσία (αιθανόλη, ακετόνη) και μία χρώση με αντιθέτου χρώματος χρωστική. Στο πείραμα εφαρμόστηκαν δύο χρώσεις, η χρώση May-Grünwald και η χρώση Giemsa.

2.7 Χρώση των επιχρισμάτων αίματος

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν είναι το επίχρισμα κυττάρων αίματος, δοχεία καθώς και για την χρώση, εφαρμόστηκε η χρωστική May-Grünwald και Giemsa καθώς και απεσταγμένο νερό. Αρχικά δημιουργούμε δύο διαλύματα αραιώνοντας με απιονισμένο νερό. Για την προετοιμασία διαλύματος May-Grünwald, σε δοχείο χρώσης αραιώνουμε 25ml χρώσης May-Grünwald με 25ml απιονισμένο νερό. Αντίστοιχα, για την προετοιμασία διαλύματος Giemsa, σε δοχείο χρώσης με 45ml απιονισμένο νερό αραιώνουμε 5ml χρώση Giemsa.

Στην συνέχεια, τοποθετούμε τις αντικειμενοφόρους πλάκες με το με το επίχρισμα αίματος σε αραιά απόσταση μεταξύ τους. Μετά, καλύπτουμε το παρασκεύασμα με το διάλυμα της May Grünwald (εφαρμογή με πιπέτα 5ml) και αναμένουμε 5 min σε θερμοκρασία δωματίου. Αντίστοιχα, καλύπτουμε το παρασκεύασμα με το διάλυμα της Giemsa χωρίς πρωτίστως να έχει ξεπλυθεί (εφαρμογή με πιπέτα 5ml) και αναμένουμε 30 min σε θερμοκρασία δωματίου. Με το πέρασμα 30 min, ξεπλένουμε καλά τις αντικειμενοφόρους πλάκες με απιονισμένο νερό με βύθιση

και ανακίνηση μέσα στο δοχείο νερού καθώς στην συνέχεια περιμένουμε να στεγνώσουν οι πλάκες στον αέρα σε όρθια τοποθέτηση. Τέλος, παρατηρούμε στο μικροσκόπιο με καταδυτικό φακό (100x) κάτω από σταγόνα ελαίου την διάκριση ερυθροκυττάρων, κοκκιοκυττάρων και ακοκκιοκυττάρων και συνεχίζουμε με την επί της εκατό καταμέτρηση των μονοκύτταρων, των λεμφοκυττάρων, των ηωσινόφιλων, των ουδετερόφιλων και των βασεόφιλων λευκών αιμοσφαιρίων. (Εικόνα 4)



Εικόνα 4: Εφαρμογή χρώσεων σε επιχρίσματα

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Αρχικά, ο εμπλουτισμός του νερού με τα αιθέρια έλαια, έλαβε χώρο στο 1^ο ενυδρείο με έλαιο κανέλας (Cin) με συγκέντρωση 1% , στο 2^ο ενυδρείο με έλαιο κανέλας (Cin) 2 % ,στο 3^ο ενυδρείο με έλαιο ρίγανης (Or) 1%, στην πορεία όμως βάση κάποιων επιπλοκών τα ιχθύδια στο συγκεκριμένο ενυδρείο υπέστησαν θάνατο, στο 4^ο ενυδρείο με έλαιο ρίγανης (Or) 2 % και τέλος στο 5^ο ενυδρείο που ήταν η ομάδα ελέγχου. Τα συστατικά του πλάσματος και τα αιματολογικά χαρακτηριστικά , που συλλέχτηκαν από την τυχαία επιλογή 9 ψαριών παρουσιάζονται στον Πίνακα 1, όπου βρίσκονται οι μετρήσεις των λευκών αιμοσφαιρίων (WBC), των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC) των ψαριών συμπεριλαμβανομένου και του αιματοκρίτη (HTC).

Από την επεξεργασία των δειγμάτων καθώς την ανάλυση και την επεξεργασία των αποτελεσμάτων προέκυψε ο παρακάτω πίνακας, στον οποίο περιγράφονται οι αιματολογικές παράμετροι βάσει τις ποσότητες αιθέριων ελαίων στο νερό που εκτιμήθηκαν.

Πίνακας 1. Αιματολογικές παράμετροι

ΕΜΛΟΥΤΙΣΜΟΣ ΝΕΡΟΥ				
	Control	Cin1%	Cin2%	Or2%
Ερυθρά αιμοσφαίρια (RBC) *10⁶ ml⁻¹	1.36	1.58	1.33	1.29
Λευκά αιμοσφαίρια (WBC) *10³ ml⁻¹	4.35	5.89	4.92	4.32
Αιματοκρίτης (HTC) %	45.2	43.3	44.3	45.5
Λεμφοκύτταρα %	70.3	73.3	73.3	71
Ουδετερόφιλα %	14.3	16.6	17	15.6
Ηωσινόφιλα %	6.6	4.2	3.3	7
Μονοκύτταρα %	9.6	6.5	6.3	6.3

Όπως φαίνεται, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν, ότι μεταξύ των αιθέριων ελαίων δεν παρατηρήθηκαν στατιστικώς έντονες διαφορές.

Συγκεκριμένα, τα ερυθρά αιμοσφαίρια σε σχέση με τον μάρτυρα, στην περίπτωση του Cin 1% παρατηρείται μια μικρή άνοδος της τάξης 0.22% , καθώς στην περίπτωση του Or 2% σε σχέση με την τιμή του μάρτυρα μια μόλις μικρή μείωση της τάξης 0.07%.

Στην περίπτωση των λευκών αιμοσφαιρίων η τιμή του Cin 1% σε σχέση με τον μάρτυρα παρουσιάζει άνοδο της τάξης 1.54%. Στον αιματοκρίτη, παρατηρείται μια ελάχιστη μείωση σε σχέση με τον μάρτυρα, εκτός από την τιμή του Or 2% που υπάρχει άνοδος μόλις 0.3%. Τα λεμφοκύτταρα καθώς και τα ουδετερόφιλα , σε σχέση πάντα με την τιμή του μάρτυρα, παρατηρήθηκε μια αύξηση κατά μέσο όρο 2.8%. Τέλος, στα ηωσινόφιλα και στα μονοκύτταρα υπέστησαν μείωση της τάξης κατά μέσο όρο 2.75%, εκτός από την περίπτωση που το Or2 % έδειξε αύξηση κατά μόλις 0.7 % σε σχέση με την τιμή του μάρτυρα στα ηωσινόφιλα.

Πρέπει παρόλα αυτά να διεξαχθούν περαιτέρω έρευνες στο μέλλον για την επίδραση αιθέριων ελαίων σε αιματολογικές παραμέτρους του είδους, διότι οι γνώσεις είναι ακόμα ελλιπείς.

Παράλληλα, είναι γνωστό ότι οι παράμετροι του αίματος θεωρούνται οι δείκτες καλής υγείας για την αξιολόγηση της φυσιολογικής κατάστασης και της μη ειδικής ανοσολογικής απόκρισης των ψαριών (Zhou et al., 2005, De Pedro et al., 2005).

4.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η εξέταση του αίματος αποτελεί σημαντικό διαγνωστικό εργαλείο συμπεριλαμβανομένων των εργαστηριακών πρωτοκόλλων και μία σειρά επιστημονικών πηγών που αφορούν την ιατρική, καθώς και την κτηνιατρική των ζώων αλλά και των ιχθύων. Με άλλα λόγια, και συγκεκριμένα στους υδρόβιους οργανισμούς, η μελέτη και η ανάλυση του αίματος χρησιμεύει ως ένας πολύτιμος δείκτης για την αξιολόγηση της υγείας τους, διότι παρέχει μια αξιόπιστη αξιολόγηση χωρίς να χρησιμοποιούνται θανατηφόρα μέσα (Satheeshkumar et al, 2012). Παράλληλα, σε συνδυασμό με την χρήση αιθέριων ελαίων εμπλουτισμένα σε νερό εκτροφής ιχθύων διασφαλίζει αντιμικροβιακή και αντιοξειδωτική δράση λόγω των φυσικοχημικών τους παραγόντων.

Επιπροσθέτως, άλλοι παράγοντες όπως η συμπεριφορά, ο τόπος καθώς και το κλίμα που επιβιώνει κάθε ζωντανός οργανισμός, μπορεί επίσης να επηρεάσει σημαντικά τις αιματολογικές τιμές.

Ωστόσο, η μέτρηση των παραμέτρων του αίματος μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως εργαλείο για την μέτρηση καταπόνησης (stress) στους ιχθύες. Οι σημαντικότεροι δείκτες καταμέτρησης είναι η γλυκόζη και η κορτιζόλη στο πλάσμα του αίματος και χρησιμοποιούνται ευρέως από τους επιστήμονες, καθώς και άλλοι αιματολογικοί δείκτες όπως ο προσδιορισμός αριθμού ερυθροκυττάρων, αιμοσφαιρίνης, αιματοκρίτη, λευκοκυττάρων κ.λ.π.

Γενικά, τα αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά, αλλά υπάρχει ανάγκη για περαιτέρω έρευνα καθώς αρκετοί δείκτες είναι ιδιαίτερα ευαίσθητοι στους ανθρώπινους χειρισμούς, θέτοντας αρκετά αποτελέσματα προς αμφισβήτηση. Επομένως, είναι ιδιαίτερα σημαντική η σωστή επεξεργασία και προστασία των

δειγμάτων, ώστε να εξασφαλιστεί η μικρότερη θνησιμότητα, με το μεγαλύτερο κέρδος για την εκάστοτε επιχείρηση.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξένη βιβλιογραφία

- Animal Genome Size (2013). Cell size – Fish erythrocyte sizes
- Asbahani, A.E., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Addi, E.H.A., Casabianca, H., Mousadik, A.E., Elaissari, A., 2015. Essential oils: From extraction to encapsulation, *International Journal of Pharmaceutics*, 483:220-243
- Aksozek, A., K. McClellan, K. Howard, J.Y. Niederkorn, and H. Alizadeh. 2002. Resistance of *Acanthamoeba castellanii* cysts to physical, chemical, and radiological conditions. *Journal of Parasitology*. 88:621–623
- Ayers, R. S. and Wescott, D. W., (1979). Water quality for agriculture, *FAO Irrigation and Drainage Paper*, vol. 29, pp. 737–746.
- Backer, H. 2002. Water disinfection for international and wilderness travelers. *Clinical Infectious Diseases* 34:355–364
- Barton, B.A., 2000. Stress. In: Stickney, R.R. (Ed.), *Encyclopedia of Aquaculture*. JohnWiley and Sons, New York
- Banerjee G Ray A.K, 2017. The advancement of probiotics research and its application in fish farming industries, *Research in Veterinary Science*, 115:66- 77
- Benedito L. & Ballester-Lozano G (2016) Lasting effects of butyrate and low FM/FO diets on growth performance, blood haematology/biochemistry and molecular growthrelatedmarkers in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) *Aquaculture* 454 8–18
- Blaxhall P. C. & Daisley K. W. (1973) Routine haematological methods for use with fish blood, *J. Fish Bid.* 5, 771-781
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foodsea review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223e253.
- B. Marongiu, A. Piras, S. Porcedda et al., “Supercritical CO₂ extract of *Cinnamomum zeylanicum*: chemical characterization and antityrosinase activity,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 55, no. 24, pp. 10022–10027, 2007.

- B. Shan, Y. Z. Cai, M. Sun, and H. Corke, “Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, no. 20, pp. 7749–7759, 2005.
- Cabello F., 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment, *Environmental microbiology*, 8: 1137–1144
- Danner, G.R. 2000. Hatchery Policy and Procedures Guide. Maine Department of Inland Fisheries & Wildlife, Augusta, ME 1100 pp.
- Esteban M. A., Meseguer J. (2015) Blood Cells of the Gilthead Seabream (*Sparus aurata* L.): Light and Electron Microscopic Studies, *The Anatomical Record* 234:161-171
- Esteban, M.A., Cuesta, A., Ortuno, J. , Meseguer, J., 2001. Immunomodulatory effects of dietary intake of chitin on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune system, *Fish & Shellfish Immunology*, 11: 303-315.
- Genten, F., Terwinghe, E. & Danguy, A. (2009). *Atlas of fish histology*. Enfield: Science Publishers
- Golomazou E., Malandrakis E., Kabouras M., Karatzinos T., Milou H., Exadectylos A., Panagiotaki P., 2016. Anaesthetic and genotoxic effect of medicinal plant extracts in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.), *Aquaculture*, 464: 673-682
- Han Y., Jiang Z., (2015) Effect of dietary fish oil replacement with palm oil on growth performance, hematology and liver anti-oxidative enzymes of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* (Temminck & Schlegel, 1846)
- Kofidis G., A.M. Bosabalidis and M. Moustakas, (2003). Contemporary Seasonal and Altitudinal Variations of Leaf Structural Features in *Oregano* (*Origanum vulgare* L). *Annals of Botany*. (92), pp. 635-645
- Kokkini S., R. Karousou, and D. Vokou, (1994). Pattern of geographic variation of *Origanum vulgare* trichomes and essential oil content in Greece. *Biochemical Systematics and Ecology*, (22), pp. 517-528.

- Lay, P.A. & Baldwin, J. (1999). What determines the size of teleost erythrocytes? Correlations with oxygen transport and nuclear volume. *Fish Physiology and Biochemistry* 20: 31 – 35.
- Levetin, E., R. Shaughnessy, C.A. Rogers, and R. Scheir. 2001. Effectiveness of germicidal UV radiation for reducing fungal contamination within air-handling units. *Applied and Environmental Microbiology* 67:3712–3715
- Mumford, S. Heidel, J., Smith, C., Morrison, J., MacConnell, B., & Blazer, V., (2007). *Fish histology and histopathology*. US Fish & Wildlife Service. National Conservation Training Center (USFWS - NCTC).
- Olivia- Teles A., (2000). Recent advances in European sea bass and gilthead sea bream nutrition, *Aquaculture International*, 8: 477-92
- Plumb, J.A. 1999. *Health Maintenance and Principal Microbial Diseases of Cultured Fishes*, 1st edition. Iowa State University Press, Ames, IA 328 pp.
- Sivropoulou A., Kokkini S., Kanaras T., Arsenakis M., (1995). Antimicrobial activity of mint essential oils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (43), pp.2384-2388.
- Roberts, R.J. 2001. *Fish Pathology*, 3rd edition. W.B. Saunders, London, UK. 472 pp.
- Souza, E.L., Stamford, T.L.M., Lima, E.D.O., 2006. Sensitivity of spoiling and pathogen food-related bacteria to *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) essential oil, *Brazilian Journal of Microbiology*, 37: 527-532
- S.-T. Chou, W.-L. Chang, C.-T. Chang, S.-L. Hsu, Y.-C. Lin, and Y. Shih, “Cinnamomum cassia Essential Oil inhibits α -MSH-induced melanin production and oxidative stress in murine B16 melanoma cells,” *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 14, no. 9, pp. 19186–19201, 2013.
- Neiffer, D.L., Stamper, M.A., 2009. Fish sedation, anesthesia, analgesia, and euthanasia: considerations, methods, and types of drugs. *ILAR J.* 50, 343–360.

- Tzironi E. (2010) Study on the morphology of peripheral blood cells of sea bream (*Sparus aurata*), porstgraduadte studies program
- Zheug L., Tan J., Liu H., Wang K., 2009. Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Ictalurus punctatus*), *Aquaculture*, 292:214-218

Ελληνική βιβλιογραφία

- Βερίλλης Π. , Μεντέ Ε., Ιστοφυσιολογία Ιχθύων και Καρκινοειδών, σελ. 173 – 182.
- Γκόλιαρης Απ., (1992). Η καλλιέργεια της ρίγανης, Γεωργία και Ανάπτυξη , τεύχος 2^ο Μάρτιος – Απρίλιος , Αθήνα, σελ. 39 – 42.
- Ζήσης Κ. , Μάνος Γ., Λενέτη Ε. , Υφαντή Π., Καριπίδης Χ. Μελέτη των κύριων τεχνολογικών στοιχείων τριών αυτοφυών αρωματικών φυτών της οικογένειας Lamiales σε διάφορα οικολογικά περιβάλλοντα της Ηπείρου. Τ.Ε.Ι Ηπείρου , Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας , Άρτα .
- Κασπίρης Π., (1998). Πανεπιστημιακές παραδόσεις Ιχθυολογίας. Πανεπιστήμιο Πατρών.
- Κλαουδάτος Σ., Κλαουδάτος Λ., (2012). Καλλιέργειες φυτικών και εκτροφής υδρόβιων ζωικών οργανισμών, σελ. 36-42.
- Μεντέ Ε., Νέγκας Ι.,(2011). Στοιχεία φυσιολογίας θρέψεως και εφαρμοσμένη διατροφή ιχθύων και καρκινοειδών. Εκδόσεις Παπαζήση, Αθήνα, σελ.17-632.
- Φώτης Γ. , Αγγελίδης Π., (2003) . Εκτροφή και παθολογία ιχθύων και καρκινοειδών. Τόμος Α Εκδόσεις Παπαζήση, σελ. 73-107.
- Παπουτσόγλου Ε.Σ., (2008). Διατροφή ιχθύων. Εκδόσεις Αθ.Σταμούλης. σελ.128-156 ,225-245.
- Νεοφύτου Χ.,(2015). Βιολογία ιχθύων και θαλάσσιων θηλαστικών, UNIVERSITY STUDIO PRESS, σελ.53-54, 183-184.
- Σαρλής Γ., (1994) .Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά . Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών , Αθήνα.
- Σύνδεσμος Ελληνικών Θαλασσοκαλλιεργειών 2019

- Χώτος Γ., Ρογδάκης Ι., (1995). Υδατοκαλλιέργειες ευρύαλων ψαριών λαβράκι & τσιπούρα σελ.64-66 89-94.

Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

- <http://www.fao.org/fishery/affris/species-profiles/gilthead-seabream/faqs/en/>
- www.fishbase.org
- <http://www.votanologion.gr/votanologion/images/pdf/IDIOTITES%20TWN%20AITHERIWN%20ELAIWN.pdf>