

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ
ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Αιματολογικό προφίλ εντατικά εκτρεφόμενων ιχθύων (Blood
profile of intensively farmed fish)»**

Μπουτίνα Όλγα

ΒΟΛΟΣ 2024

«Αιματολογικό προφίλ εντατικά εκτρεφόμενων ιχθύων (Blood profile of intensively farmed fish)»

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

- 1) Ελένη Γκολομάζου, Αν. Καθηγήτρια, Προστασία-Ευζωία 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) Εμμανουήλ Μαλανδράκης, Επ. Καθηγητής, Εφαρμοσμένη Υδροβιολογία, Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Μέλος.**

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η τσιπούρα και το λαβράκι αποτελούν δύο από τα κυριότερα είδη των εντατικών ιχθυοκαλλιεργειών τόσο στην Ελλάδα όσο και στην Μεσόγειο. Έτσι, η υγεία και ευημερία των ιχθύων είναι κρίσιμοι παράγοντες για την επιτυχή εκτροφή τους, η οποία εξαρτάται άμεσα από την ποιότητα του υδάτινου περιβάλλοντος που διαβιών καθώς και τις πρακτικές που εφαρμόζονται στις ιχθυοκαλλιέργειες. Τα συστατικά και οι παράμετροι του αίματος των συγκεκριμένων εκτρεφόμενων ιχθύων – βιοχημικοί και ορμονολογικοί – δύναται να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες για την καλή υγεία τους καθώς και ως διαγνωστικοί και προγνωστικοί παράγοντες ασθενειών και μέτρο της καταπόνησης που υφίστανται από τις πρακτικές της εντατικής εκτροφής. Οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί δείχνουν πως οι φυσιολογικές τιμές των παραμέτρων του αίματος στις τσιπούρες και στα λαβράκια διαταράσσονται από πλήθος περιβαλλοντικών και βιολογικών παραγόντων, όπως είναι το μέγεθος των ιχθύων, η θερμοκρασία και η αλατότητα του νερού, η φωτοπερίοδος, η ποιότητα των υδάτων, καθώς και παράγοντες που εξαρτώνται από τις πρακτικές στις ιχθυοκαλλιέργειες, όπως είναι ο βαθμός της ιχθυοφόρτισης, τα διατροφικά σχήματα και οι φαρμακευτικοί και χημικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται. Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η ανασκόπηση των μελετών που έχουν πραγματοποιηθεί διεθνώς για την ανεύρεση τόσο των φυσιολογικών τιμών των αιματολογικών παραμέτρων των δύο αυτών θαλάσσιων ειδών, καθώς και οι μεταβολές τους σε σχέση με τους βιολογικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες, με στόχο τη χρήση τους ως πολύτιμα εργαλεία στην ανάπτυξη και ευημερία των εντατικών ιχθυοκαλλιεργειών.

Λέξεις – κλειδιά: Τσιπούρα, Λαβράκι, Εντατική Ιχθυοκαλλιέργεια, Αιματολογικές και Βιοχημικές Παράμετροι

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι: ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 Η πρακτική της υδατοκαλλιέργειας.....	1
1.2. Η τσιπούρα (<i>Sparus aurata</i>) και το λαβράκι (<i>Dicentrarchus labrax</i>).....	3
1.2.1 Γενικές πληροφορίες για την τσιπούρα	3
1.2.2. Γενικές πληροφορίες για το λαβράκι.....	6
1.2.3. Η εντατική εκτροφή της τσιπούρας και του λαβρακίου	9
1.3 Το κυκλοφορικό σύστημα στους ιχθύες και οι σημαντικότεροι παράγοντες στο αίμα τους.....	12
1.3.1 Το κυκλοφορικό σύστημα των τελεόστων	12
1.3.2 Το αίμα των ψαριών και οι κύριες λειτουργίες του.....	13
1.3.3 Βιοχημική και ορμονολογική σύσταση του ορού του αίματος στους ιχθύες	22
1.3.4 Παράγοντες που επηρεάζουν τα συστατικά του αίματος και τις συγκεντρώσεις τους στους ιχθύες.....	23
1.4 Σκοπός της διπλωματικής εργασίας και μεθοδολογία.....	25
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙ: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	27
2.1 Μελέτες που σχετίζονται με τα αιματολογικό και βιοχημικό προφίλ τσιπούρας – λαβρακίου.....	27
2.2 Μελέτες που αφορούν στις εποχιακές και περιβαλλοντικές διακυμάνσεις των αιματολογικών παραμέτρων στην τσιπούρα και το λαβράκι	33
2.3 Μελέτες που αφορούν στην επίδραση του στρες στις αιματολογικές αναλύσεις τσιπούρας – λαβρακίου	50
2.4 Μελέτες που αφορούν στην επίδραση της διατροφής στις αιματολογικές αναλύσεις τσιπούρας – λαβρακίου	55
2.5 Μελέτες που αφορούν στην επίδραση διαφόρων παραγόντων των εντατικών ιχθυοκαλλιεργειών στις αιματολογικές αναλύσεις τσιπούρας – λαβρακίου	64
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ: ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗΣ	74
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙV: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	77
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	79
ABSTRACT	86

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η πρακτική της υδατοκαλλιέργειας

Σύμφωνα με τον ορισμό του FAO (Οργανισμός τροφίμων και γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών), ως υδατοκαλλιέργειες νοούνται οι καλλιέργειες των υδρόβιων οργανισμών στους οποίους συμπεριλαμβάνονται τόσο τα υδρόβια φυτά όσο και τα καρκινοειδή, τα μαλάκια και οι ιχθύες. Με τον όρο καλλιέργεια νοείται πως έχει πραγματοποιηθεί ανθρώπινη παρέμβαση για την ανάπτυξη και ενίσχυση της παραγωγικής διαδικασίας μέσω της εκτροφής των υδρόβιων οργανισμών, που περιλαμβάνει τη σίτισή τους, τον εμπλουτισμό με γόνο καθώς και την προστασία τους από ασθένειες αλλά και από άλλα αρπακτικά υδρόβια ζώα (www.fao.org).

Οι ρίζες της πρακτικής της υδατοκαλλιέργειας βρίσκονται από τα αρχαία ήδη χρόνια και συγκεκριμένα στην Αρχαία Κίνα, περίπου 4000 χρόνια πριν, λόγω της ανάγκης του τότε αυτοκράτορα να δέχεται συνεχή προμήθεια ψαριών. Στις μέρες μας, η αυξανόμενη ζήτηση θαλάσσιων προϊόντων προς βρώση, λόγω της υψηλής θρεπτικής αξίας τους και η συνεχόμενη αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού της Γης, έχει οδηγήσει στην ραγδαία ανάπτυξη και ολοένα αυξανόμενη παραγωγή των υδατοκαλλιεργειών και ιδιαίτερα των ιχθυοκαλλιεργειών (www.fao.org).

Οι υδατοκαλλιέργειες βρίσκουν σήμερα εφαρμογή τόσο στη θάλασσα όσο και στο γλυκό νερό με διάφορες μεθόδους και συστήματα ανάλογα με τα είδη που εκτρέφονται και τον παραγωγικό στόχο. Στα πλέον συνηθισμένα συστήματα υδατοκαλλιεργειών ανήκουν τα εξής (www.fao.org) :

- *Εκτατικά συστήματα υδατοκαλλιέργειας:* Τα συστήματα αυτά χαρακτηρίζονται από τη σχετικά μικρή πυκνότητα υδρόβιων οργανισμών στην καλλιέργεια και συνεπώς σε χαμηλότερη παραγωγική απόδοση. Επιπρόσθετα, στα εκτατικά συστήματα, η παρέμβαση του καλλιεργητή είναι περιορισμένη όσον αφορά στη διατροφή των υδρόβιων οργανισμών και στο περιβάλλον της καλλιέργειας, το οποίο εξαρτάται σημαντικά από την υφιστάμενη ποιότητα των υδάτων και τις κλιματικές συνθήκες της περιοχής που βρίσκονται οι καλλιέργειες.
- *Ημιεντατικά συστήματα υδατοκαλλιέργειας:* Πρόκειται για καλλιέργειες υδρόβιων οργανισμών στις οποίες η ανθρώπινη παρέμβαση είναι παρούσα σε όλα τα στάδια της εκτροφής και της ανάπτυξης των καλλιεργούμενων υδρόβιων

οργανισμών, με χρήση διαφόρων τεχνικών, εξασφαλίζοντας σημαντικά επίπεδα παραγωγής.

- *Εντατικά και υπερεντατικά συστήματα υδατοκαλλιέργειας:* Τα συστήματα αυτά χαρακτηρίζονται από την πολύ υψηλή πυκνότητα των καλλιεργούμενων ειδών σε ιδιαίτερα περιορισμένους χώρους, εξασφαλίζοντας τη μέγιστη δυνατή απόδοση παραγωγής. Στα συστήματα αυτά, υπάρχει ο απόλυτος έλεγχος από τον άνθρωπο του περιβάλλοντος της υδατοκαλλιέργειας που αφορά τόσο στη διαδικασία εκτροφής όσο και στις φυσικοχημικές παραμέτρους του υδάτινου περιβάλλοντος (Oddsson, 2020).

Λόγω της υπεραλίευσης που έχει οδηγήσει στη μείωση των φυσικών ιχθυοαποθεμάτων και της αλιευτικής απόδοσης, καθώς επίσης και η ολοένα αυξανόμενη ζήτηση που υπάρχει στα προϊόντα του συγκεκριμένου κλάδου, είναι γεγονός η ευρεία ανάπτυξη των εντατικών και υπερεντατικών συστημάτων υδατοκαλλιέργειας που έχουν ως στόχο τη μεγιστοποίηση της παραγωγής. Στις χώρες της Μεσογείου, όπως είναι και η Ελλάδα, υπάρχουν εγκατεστημένα εντατικά συστήματα ιχθυοκαλλιέργειών που αφορούν κυρίως ευρύαλα και ευρύθερμα ψάρια, όπως είναι η τσιπούρα και το λαβράκι, σε πλωτούς θαλάσσιους ιχθυοκλωβούς (Εικ. 1.1).



Εικόνα 1.1. Εντατική ιχθυοκαλλιέργεια στην Ελλάδα
(http://aquagc.apae.uth.gr/?page_id=62)

1.2. Η τσιπούρα (*Sparus aurata*) και το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*)

1.2.1 Γενικές πληροφορίες για την τσιπούρα

Η τσιπούρα αποτελεί ένα από τα βασικότερα θαλάσσια είδη που εκτρέφονται στις εντατικές υδατοκαλλιέργειες καθώς λόγω της άριστης ποιότητας που παρουσιάζει το κρέας της εμφανίζει σχετικά υψηλή εμπορική αξία στην αγορά ιχθύων (Μπακόπουλος, 2017). Έως ότου αναπτυχθούν οι εντατικές ιχθυοκαλλιέργειες στη δεκαετία του 1980, η καλλιέργεια της τσιπούρας πραγματοποιούνταν παραδοσιακά σε λιμνοθάλασσες καθώς και σε λίμνες με αλμυρό νερό μέσω συστημάτων εκτατικής εκτροφής βασισμένα στη φυσική μετανάστευση των ιχθυδίων για εύρεση τροφής προς τις παραθαλάσσιες λιμνοθάλασσες, οι οποίες διαδραματίζουν το ρόλο μίας φυσικής παγίδας. Στις αρχές της δεκαετίας του '80 ξεκίνησε στην Ιταλία η τεχνητή αναπαραγωγή της τσιπούρας, ενώ στα τέλη της ίδιας δεκαετίας ήταν ήδη γεγονός η παραγωγή γόνου τσιπούρας σε υψηλή κλίμακα, σε χώρες της Μεσογείου όπως η Ιταλία, η Ελλάδα και η Ισπανία, λόγω της μεγάλης προσαρμοστικότητας του συγκεκριμένου είδους ψαριού στις συνθήκες της εντατικής εκτροφής σε κλωβούς αλλά και σε λίμνες.

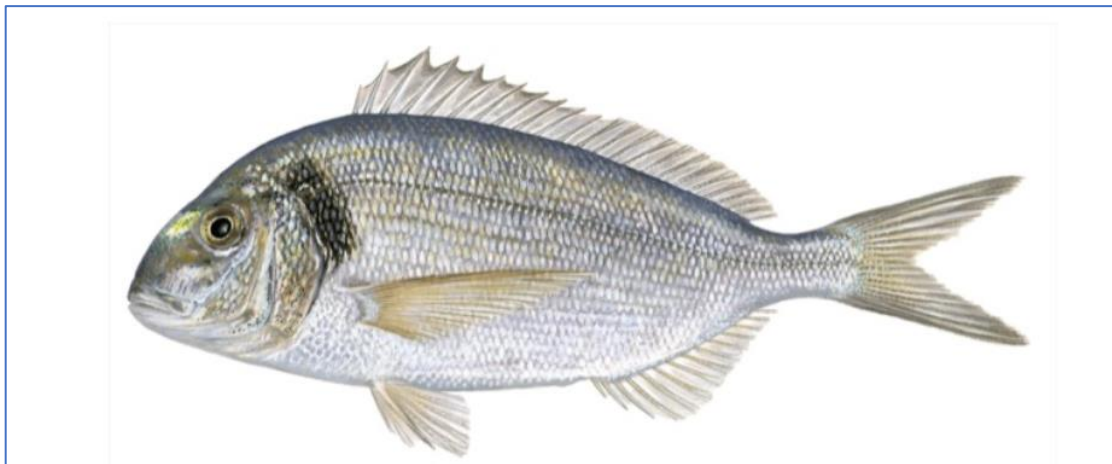
Η τσιπούρα ανήκει στην οικογένεια των σπαροειδών και στην ομοταξία των οστεϊχθύων, ενώ η συστηματική της κατάταξη καταγράφεται στον ακόλουθο πίνακα:

Πίνακας 1.1. Συστηματική κατάταξη της τσιπούρας (Οικονομίδης, 1997)

ΕΙΔΟΣ	SPARUS AURATA
ΓΕΝΟΣ	SPARUS
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ	SPARIDAE (ΣΠΑΡΙΔΕΣ)
ΥΠΟΤΑΞΗ	ΠΕΡΚΟΕΙΔΗ
ΤΑΞΗ	ΠΕΡΚΟΜΟΡΦΟΙ
ΥΠΕΡΤΑΞΗ	ΤΕΛΕΟΣΤΕΟΙ
ΥΦΟΜΟΤΑΞΙΑ	ΑΚΤΙΝΟΠΤΕΡΥΓΙΟΙ
ΟΜΟΤΑΞΙΑ	ΟΣΤΕΙΧΘΕΙΣ

ΥΠΟΦΥΛΟ	ΣΠΟΝΔΥΛΩΤΑ
ΦΥΛΟ	ΧΟΡΔΩΤΑ

Όσον αφορά στη μορφολογία, το σώμα της τσιπούρας έχει σχήμα ατρακτοειδές και πεπλατυσμένο και διαθέτει κυρτή ράχη με κοντό ρύγχος, μεγάλο μέγεθος οφθαλμών και χονδρά χείλη. Έχει χρώμα γκρι – ασημί, ανοιχτού χρώματος κοιλιά και πλευρά και σκουρότερη ράχη (Εικ. 1). Στο μέτωπο διακρίνεται μία κίτρινου χρώματος λωρίδα σχήματος V, ενώ στην αρχή του πλευρικού τμήματος του βραγχοκαλύμματος υπάρχει μια κηλίδα μαύρου χρώματος. Τα λέπια της τσιπούρας έχουν μεγάλο μέγεθος και κτενοειδές σχήμα και ο αριθμός τους στην πλευρική γραμμή κυμαίνεται από 73-85 (species-identification.org). Το στόμα είναι μικρού μεγέθους και διαθέτει 6 κυνόδοντες στο εμπρόσθιο τμήμα των σιαγόνων, ενώ πλευρικά και στην κάτω σιαγόνα φέρει μικρά, μυλοειδή δόντια χρήσιμα για την σύνθλιψη της τροφής. Το σύνηθες μέγεθος μιας τσιπούρας ανέρχεται στα σε περίπου 35 εκατοστά με μέγιστο μήκος τα 70 εκατοστά (fishbase.se) και το σύνηθες βάρος της υπολογίζεται σε 300 – 600 γραμμάρια (www.helfish.gr).



Εικόνα 1.2. Η τσιπούρα (fish-commercial-names.ec.europa.eu.)

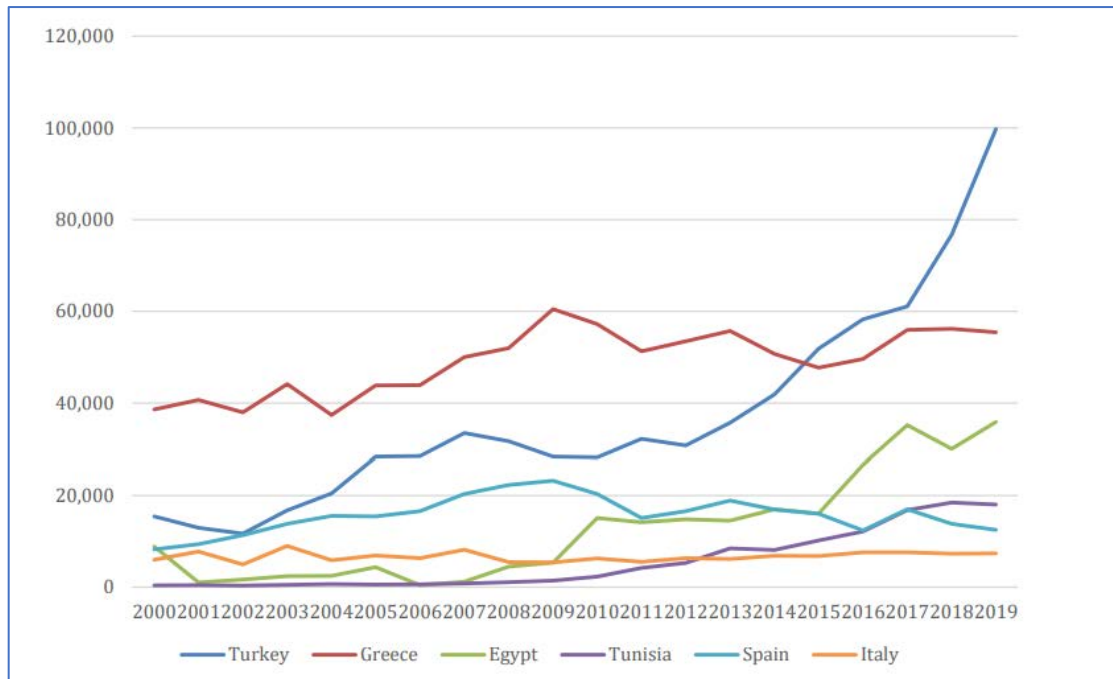
Η τσιπούρα κατά τη γέννησή της είναι ανδρικού φύλου, ενώ έπειτα από την πάροδο περίπου 2 ετών γίνεται θηλυκό, είναι δηλαδή πρωτανδρικός ιχθύς. Οι θηλυκές τσιπούρες μέσω διαδοχικών ωοτοκιών που διαρκούν 3 μήνες από τον Οκτώβριο έως τον Δεκέμβριο, γεννούν έως και 80000 αυγά ημερησίως, με την εκκόλαψη να διαρκεί 2 περίπου ημέρες. Τα ιχθύδια έχουν γεννηθεί στην ανοικτή θάλασσα, όμως την άνοιξη

μεταναστεύουν σε ρηχότερα νερά όπως είναι οι λιμνοθάλασσες προς ανεύρεση τροφής και ασφάλεια, ενώ τον Οκτώβριο επιστρέφουν ξανά στην ανοικτή θάλασσα λαμβάνοντας μέρος στην αναπαραγωγική διαδικασία, ζώντας είτε σε μικρά κοπάδια είτε μοναχικά (Sola et al, 2006).

Η τσιπούρα ανήκει στα βενθικά θαλάσσια είδη που ζουν σε βραχώδεις πυθμένες, αλλά δύναται να απαντηθεί και σε περισσότερο αμμώδεις βυθούς. Η γεωγραφική εξάπλωση της τσιπούρας περιλαμβάνει περιοχές από τον Ατλαντικό έως την Αγγλία, τη Μεσόγειο θάλασσα, τη Σενεγάλη καθώς και στα περίξ των Κανάριων Νήσων (fishbase.se). Συναντάται ως επί πλείστον σε νερά που έχουν θερμοκρασίες από 5-27°C καθώς είναι ευρύθερμο θαλάσσιο είδος, ιδιαίτερα ευαίσθητο σε χαμηλές θερμοκρασίες κάτω των 4°C. Επιπρόσθετα, διαθέτει ευρύαλες συνήθειες με το βέλτιστο εύρος αλατότητας του νερού για την ανάπτυξή τους να κυμαίνεται από 25 - 40%. Σε αντίθεση με την ανεκτικότητα της τσιπούρας σε μεγάλα εύρη θερμοκρασιών και αλατότητας, δεν ισχύει το ίδιο για τις τιμές των επιπέδων οξυγόνου στο νερό καθώς είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο είδος σε θαλάσσια περιβάλλοντα με χαμηλές συγκεντρώσεις οξυγόνου (Tandler et al., 2009).

Όσον αφορά στις διατροφικές της συνήθειες, πρόκειται για σαρκοφάγο ψάρι που τρέφεται κυρίως με ζωοπλαγκτόν, μαλάκια, μικρά καρκινοειδή, οστρακόδερμα, πολύχαιτους, καθώς και μικρά ψάρια και έντομα. Στις ιχθυοκαλλιέργειες, για να αναπτυχθούν τα ιχθύδια χρησιμοποιούνται τεμαχισμένες φυσικές τροφές από τεμάχια διαφόρων ιχθύων, μαλάκια και κωπήποδα (Κλαουδάτος, 2012).

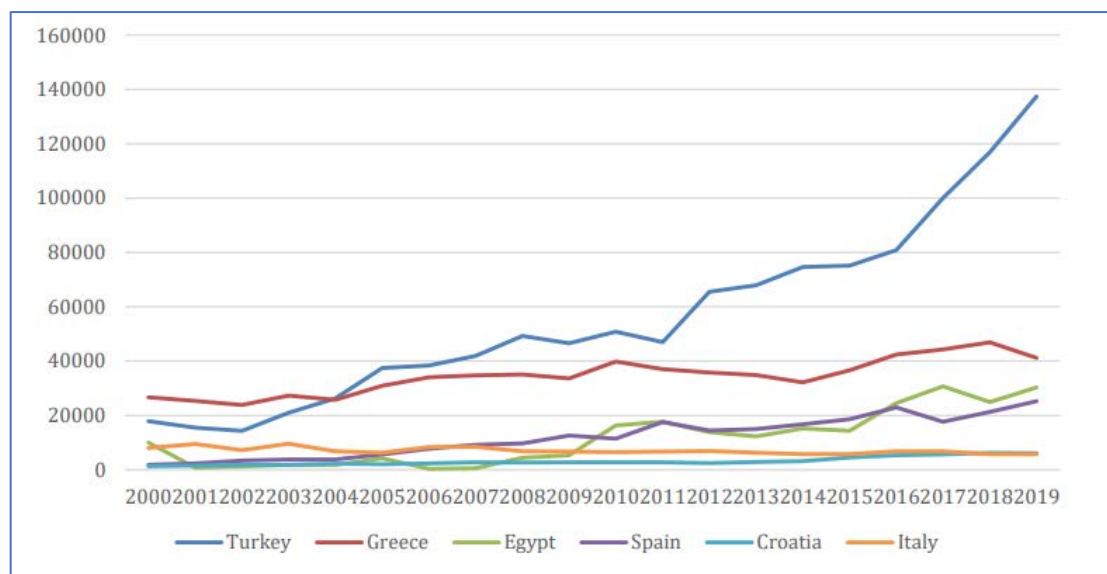
Καθώς πρόκειται για ένα πολύ γευστικό ψάρι με λευκή και τρυφερή σάρκα, πλούσια σε πρωτεΐνες και βιταμίνες, η ζήτησή του από τους καταναλωτές είναι πολύ υψηλή με αποτέλεσμα την εντατικοποίηση της καλλιέργειας και την αύξηση της παραγωγής τσιπούρας τις τελευταίες δεκαετίες (Εικόνα 2). Στη Μεσόγειο το κύριο σύστημα εκτροφής της τσιπούρας είναι η εντατική υδατοκαλλιέργεια σε θαλάσσιους ιχθυοκλωβούς (πλωτούς, υποβρύχιους και ημικαταδυόμενους) και οι χώρες με τη μεγαλύτερη παραγωγή είναι η Τουρκία, η Ελλάδα, η Ιταλία, η Ισπανία, η Τυνησία και η Αίγυπτος (Zarantoniello et al., 2021).



Εικόνα 1.3. Διακύμανση της παραγωγής τσιπούρας από το 2000 – 2019 στις χώρες με τη μεγαλύτερη παραγωγή παγκοσμίως (www.compassioninfoodbusiness.com/media/7447728/gilthead-seabream-in-numbers.pdf)

1.2.2. Γενικές πληροφορίες για το λαβράκι

Το λαβράκι, με την επιστημονική ονομασία *D. labrax*, αποτελεί ένα, επίσης, εξαιρετικά διαδεδομένο ψάρι στις ιχθυοκαλλιέργειες και ιδιαίτερα στις χώρες της Μεσογείου καθώς βρίσκεται πολύ ψηλά στη λίστα διατροφικών προτιμήσεων των καταναλωτών λόγω της ποιότητας του κρέατος του, της διατροφικής του αξίας και της νοστιμιάς του. Η πρώτη επιτυχημένη τεχνητή γονιμοποίηση και εκκόλαψη αυγών λαβρακίου πραγματοποιήθηκε στα τέλη της δεκαετίας του 1960, ενώ από τη δεκαετία του 1980 ξεκίνησε η μαζική παραγωγή του στις ιχθυοκαλλιέργειες. Το κύριο σύστημα εκτροφής του λαβρακίου είναι η εντατική υδατοκαλλιέργεια σε θαλάσσιους ιχθυοκλωβούς και οι χώρες με τη μεγαλύτερη παραγωγή λαβρακίου παγκοσμίως είναι η Τουρκία, η Ελλάδα, η Ιταλία, η Αίγυπτος, η Κροατία και η Ισπανία (www.fao.org).



Εικόνα 1.4. Διακύμανση της παραγωγής λαβρακίου από το 2000 – 2019 στις χώρες με τη μεγαλύτερη παραγωγή παγκοσμίως (<https://www.compassioninfoodbusiness.com/media/7447727/european-seabass-in-numbers.pdf>)

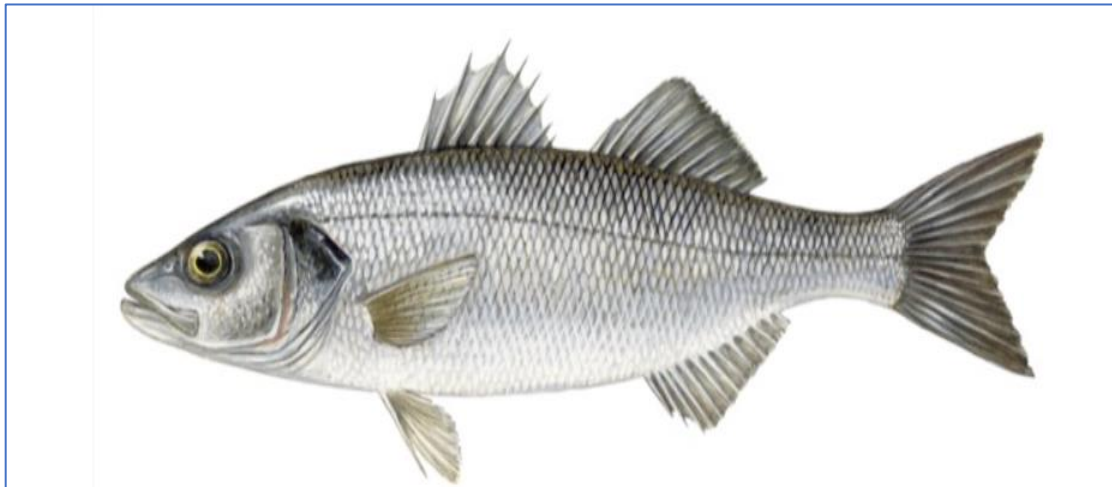
Το λαβράκι ανήκει στην οικογένεια των μορονίδων και στην ομοταξία των οστεϊχθύνων, ενώ η συστηματική του κατάταξη καταγράφεται στον ακόλουθο πίνακα:

Πίνακας 1.2. Συστηματική κατάταξη του λαβρακίου (www.marinespecies.org)

ΕΙΔΟΣ	DICENTRARCHUS LABRAX
ΓΕΝΟΣ	DICENTRARCHUS
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ	MORONIDAE (ΜΟΡΟΝΙΔΕΣ)
ΥΠΟΤΑΞΗ	ΠΕΡΚΟΕΙΔΗ
ΤΑΞΗ	ΠΕΡΚΟΜΟΡΦΑ
ΥΠΕΡΤΑΞΗ	ΤΕΛΕΟΣΤΕΟΙ
ΥΦΟΜΟΤΑΞΙΑ	ΑΚΤΙΝΟΠΤΕΡΥΓΙΟΙ
ΟΜΟΤΑΞΙΑ	ΟΣΤΕΙΧΘΕΙΣ

ΥΠΟΦΥΛΟ	ΣΠΟΝΔΥΛΩΤΑ
ΦΥΛΟ	ΧΟΡΔΩΤΑ

Όσον αφορά στη μορφολογία του, το σώμα του λαβρακίου είναι επίμηκες, ατρακτοειδές και ελαφρώς κυλινδρικό με δύο ραχιαία πτερύγια (Εικ. 4). Το χρώμα του είναι ασημένιο-γκρι, πιο σκουρόχρωμο στη ράχη και πιο ανοιχτόχρωμο στην περιοχή της κοιλιάς, ενώ μέχρι την ηλικία του ενός έτους διαθέτει σκουρόχρωμα σημάδια στη ράχη. Διαθέτει, επίσης, μία σκούρου χρώματος γραμμή στα πλευρά, αρκετά ευδιάκριτη, που καλύπτεται από μικρά, κυκλοειδή λέπια που κυμαίνονται από 62-80 (Νεοφύτου, 2015). Το σύνηθες μέγεθός του είναι τα 50 εκατοστά, όμως δύναται να φθάσει και το 1 μέτρο, ενώ το συνηθισμένο μέσο βάρος του κυμαίνεται από 2 έως 5 κιλά, ενώ έχουν αναφερθεί και λαβράκια με βάρος που αγγίζει τα 12 κιλά (www.fishbase.com).



Εικόνα 1.5. Το λαβράκι (fish-commercial-names.ec.europa.eu)

Το λαβράκι είναι βενθοπελαγικό θαλάσσιο είδος που ζει στην υποτροπική ζώνη σε βάθος που φθάνει έως και τα 200 μέτρα και είναι ευρύθερμο και ευρύαλο είδος με εξαιρετική αντοχή στις θερμοκρασιακές μεταβολές και στα επίπεδα αλατότητας του νερού (Masroor et al., 2017). Όταν βρίσκονται σε νεαρή ηλικία, τα λαβράκια ζουν κυρίως σε κοπάδια σε ρηχά νερά όπως είναι αυτά των λιμνοθαλασσών, αλλά αργότερα στην ενήλικη ζωή τους ζουν μοναχικά στα βαθύτερα νερά των θαλασσών (Νεοφύτου

2015). Η μετανάστευσή τους είναι εποχική, που σημαίνει πως το καλοκαίρι ζουν κυρίως σε παράκτιες περιοχές, ενώ το χειμώνα μεταναστεύουν σε θερμότερα και βαθύτερα νερά για την αναπαραγωγή τους. Η γεωγραφική του εξάπλωση περιλαμβάνει τις περιοχές της Μεσογείου και της Μαύρης θάλασσας, αλλά μπορεί επίσης να απαντηθεί και σε βορειότερες περιοχές όπως είναι η Μεγάλη Βρετανία, η Ιρλανδία και η Σκανδιναβία (Brosowski, n.d.).

Υπάρχει σαφής διάκριση των δύο φύλων στο λαβράκι, είναι δηλαδή γονοχωριστικό είδος, η οποία εξαρτάται από τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος με τις υψηλότερες θερμοκρασίες να λειτουργούν θετικά για τα αρσενικά λαβράκια. Για το λόγο αυτό, η πλειοψηφία των ενήλικων λαβρακίων στις υδατοκαλλιέργειες είναι αρσενικά, λόγω της υψηλότερης θερμοκρασίας των νερών (Piferrer et al. 2005). Η σεξουαλική τους ωρίμανση ξεκινά από τον τρίτο χρόνο της ζωής των θηλυκών και από τον δεύτερο χρόνο της ζωής των αρσενικών λαβρακίων. Η ωοτοκία πραγματοποιείται στη Μεσόγειο θάλασσα κατά τους μήνες Δεκέμβριο έως και Μάρτιο και στον Ατλαντικό ωκεανό από τον Ιανουάριο έως το Μάρτιο, ενώ τα θηλυκά λαβράκια μπορούν να παράγουν έως και μισό εκατομμύριο αυγά ανά κιλό του σώματός τους (Jennings and Pawson, 1992).

Ως προς τις διατροφικές του συνήθειες, το λαβράκι είναι σαρκοφάγο και δρα ως αρπακτικό. Τρέφεται κυρίως με μαλάκια, οστρακοειδή και μικρά ψάρια, κυρίως αφρόψαρα, ενώ τα νεαρότερα λαβράκια τρέφονται κυρίως με αμφίποδα και προνύμφες εντόμων (Νεοφύτου 2015).

1.2.3. Η εντατική εκτροφή της τσιπούρας και του λαβρακίου

Η καλλιέργεια της τσιπούρας και του λαβρακίου είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί τόσο σε γλυκό όσο και σε αλμυρό νερό, καθώς πρόκειται για ευρύαλα θαλάσσια είδη, γεγονός που διευκολύνει την ανάπτυξή τους σε ιχθυοκαλλιεργητικούς σταθμούς παραγωγής. Όπως ήδη αναφέρθηκε, στα εντατικά συστήματα εκτροφής υπάρχει πολύ υψηλή πυκνότητα εκτρεφόμενων ψαριών, οπότε είναι κρίσιμης σημασίας η επίτευξη της μέγιστης δυνατής χορήγησης τροφής, κάτι που, για παράδειγμα, μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω πολλαπλών γευμάτων. Για τη διαδικασία πάχυνσης των συγκεκριμένων ιχθύων χρησιμοποιούνται θρεπτικές ιχθυοτροφές σε μορφή pellets. Τα νεαρά ιχθύδια που προέρχονται από τη διαδικασία της πάχυνσης φθάνουν στο

επιθυμητό εμπορεύσιμο μέγεθος έπειτα από περίπου 1,5 χρόνο κατά μέγιστο. Το επιθυμητό βάρος για την τσιπούρα κυμαίνεται στα 350-400 γραμμάρια, ενώ για το λαβράκι είναι περίπου τα 400 γραμμάρια (oeiclass.aua.gr).

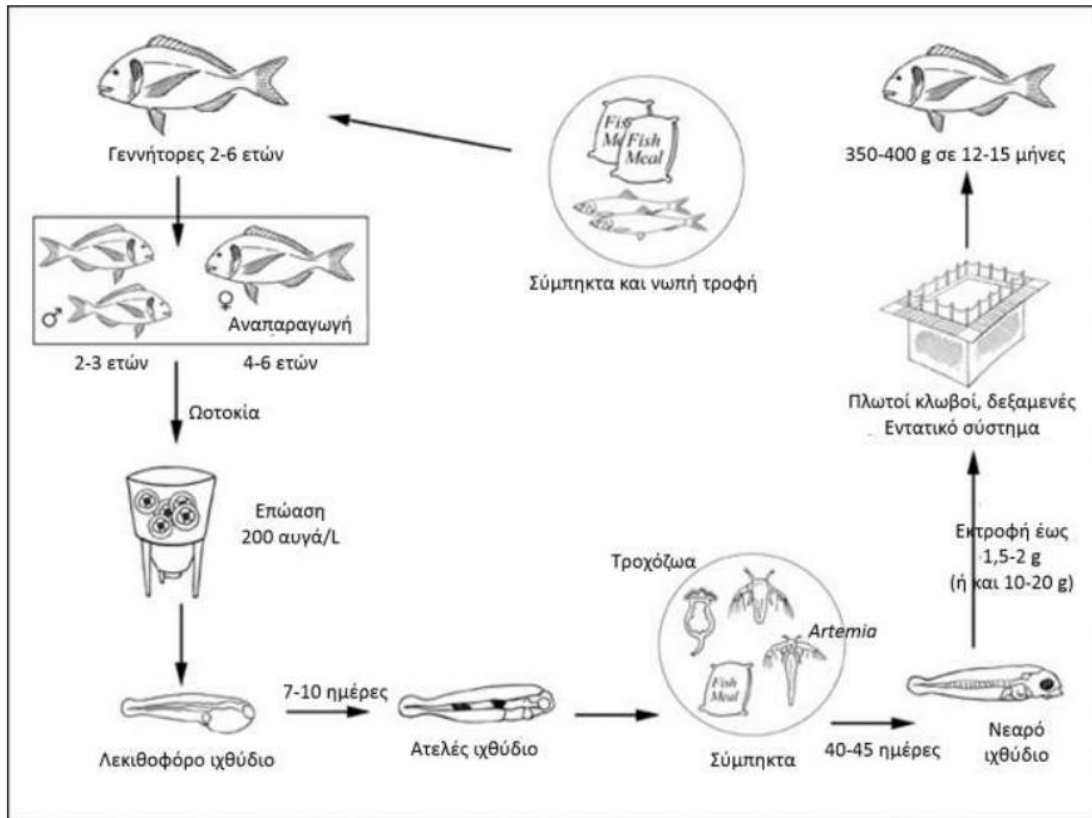
1.2.3.1. Στάδια εντατικής ιχθυοκαλλιέργειας τσιπούρας και λαβρακίου

Υπάρχουν δύο κύρια στάδια παραγωγής των συγκεκριμένων εκτρεφόμενων ψαριών (Εικ. 1.6 και 1.7). Στο πρώτο στάδιο, πραγματοποιείται η ανεύρεση και η ανάπτυξη του γόνου έως ότου φθάσει τα περίπου 2 γραμμάρια. Ο γόνος μπορεί να ανευρεθεί είτε από ιδιόκτητο ιχθυογεννητικό σταθμό της εγκατεστημένης ιχθυοκαλλιέργειας, είτε με αγορά από άλλον σταθμό, είτε απευθείας από το φυσικό περιβάλλον (Vadstein et al., 1993). Ο γόνος αναπτύσσεται μέχρι τη μετατροπή του σε νεαρό ιχθύδιο λαμβάνοντας ζωντανή τροφή, όπως είναι η *artemia* και τα *rotifiers*, ενώ στη συνέχεια μεταφέρεται στους θαλάσσιους ιχθυοκλωβούς ώστε να ξεκινήσει το δεύτερο στάδιο παραγωγής που είναι η πάχυνση μέχρι το επιθυμητό βάρος. Αξίζει να σημειωθεί πως η μεταφορά στη θάλασσα γίνεται όταν η θερμοκρασία του νερού είναι η κατάλληλη για την ανάπτυξη των ψαριών, κάτι που συμβαίνει προς το τέλος της Άνοιξης (oeiclass.aua.gr).

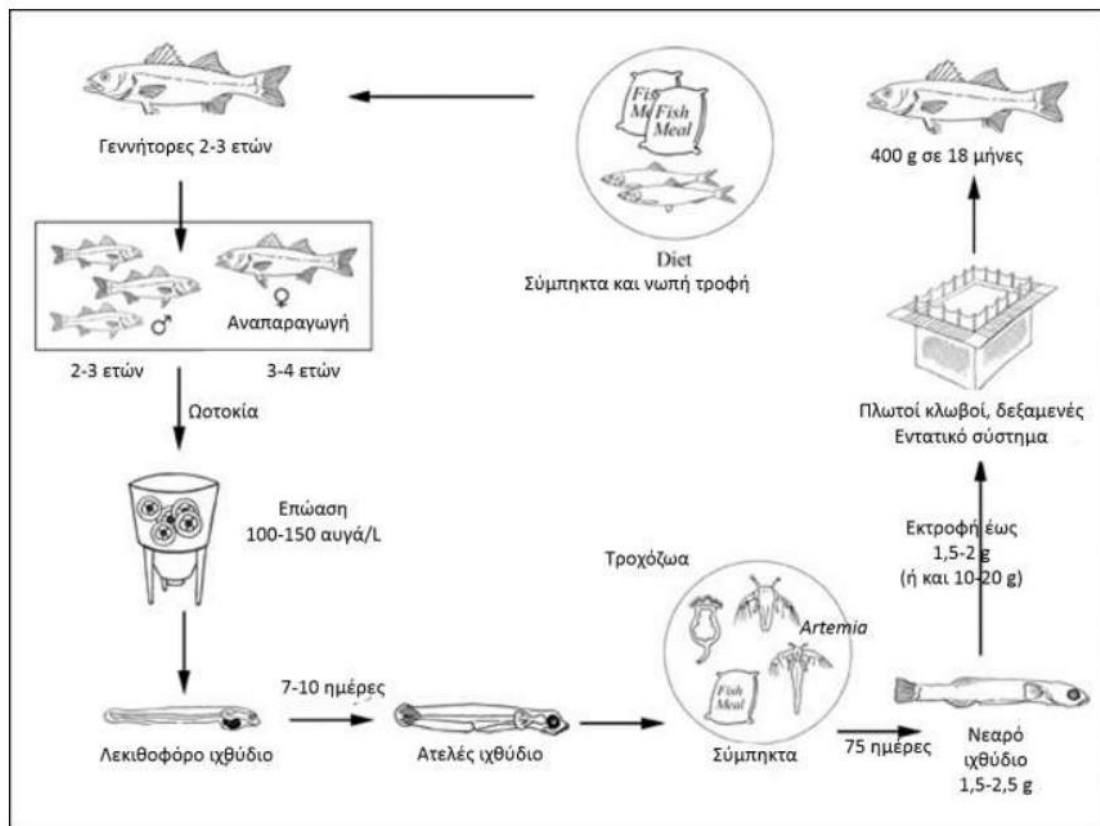
Το δεύτερο στάδιο της παραγωγής τσιπούρας και λαβρακίου στις εντατικές καλλιέργειες περιλαμβάνει δύο επιμέρους στάδια:

- *Προπάχυνση*: Σε αυτό το στάδιο πραγματοποιείται η αύξηση του βάρους των νεαρών ιχθυδίων στους ιχθυοκλωβούς από τα περίπου 2 γραμμάρια στα 140 γραμμάρια. Η προπάχυνση επιτυγχάνεται με τη χορήγηση συχνών γευμάτων υπό αυστηρή επίβλεψη.

- *Πάχυνση*: Η διαδικασία της πάχυνσης αποτελεί το σημαντικότερο στάδιο της εκτροφής, καθώς μέσω αυτής της διαδικασίας πραγματοποιείται η αύξηση του βάρους των ψαριών στην επιθυμητή τιμή. Η τροφή που χορηγείται στα ψάρια κατά το στάδιο αυτό, είναι τυποποιημένη και έχει ως κύρια συστατικά τα δημητριακά, τα ιχθυέλαια και τα ιχθυάλευρα (oeiclass.aua.gr).



Εικόνα 1.6. Διάγραμμα σταδίων εντατικής εκτροφής τσιπούρας (oeclass.aua.gr)



Εικόνα 1.7. Διάγραμμα σταδίων εντατικής εκτροφής λαβρακίου (oeclass.aua.gr)

1.2.3.2. Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των ιχθύων

Στις εντατικές ιχθυοκαλλιέργειες, όπως αυτές της τσιπούρας και του λαβρακίου, υπάρχουν διάφοροι παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν τη βέλτιστη ανάπτυξη και παραγωγή των εκτρεφόμενων ειδών, οι σημαντικότεροι εκ των οποίων είναι οι εξής (Viadero, 2005):

- Η θερμοκρασία των υδάτων, καθώς η αύξηση της θερμοκρασίας του νερού τους καλοκαιρινούς μήνες οδηγεί σε ταχύτερη ανάπτυξη των ψαριών.
- Η γενετική προδιάθεση που έχουν τα ψάρια όσον αφορά την ανάπτυξή τους.
- Οι ασθένειες που μπορεί να προκύψουν κατά την εκτροφή τους, όπως είναι για παράδειγμα βακτηριακές και ιογενείς λοιμώξεις, παρασιτώσεις και μυκητιάσεις.
- Η πυκνότητα των καλλιεργούμενων ιχθύων στους κλωβούς.
- Η ποσότητα της χορηγούμενης τροφής καθώς και η ποιότητά της.
- Η συχνότητα με την οποία χορηγούνται τα γεύματα στους εκτρεφόμενους ιχθύες.
- Η ποιότητα των υδάτων στα οποία είναι εγκαταστημένη η ιχθυοκαλλιέργεια, όπως είναι οι συνθήκες υγιεινής των υδάτων, η αλατότητα, το pH και το ποσοστό του διαλυμένου οξυγόνου.

1.3 Το κυκλοφορικό σύστημα στους ιχθύες και οι σημαντικότεροι παράγοντες στο αίμα τους

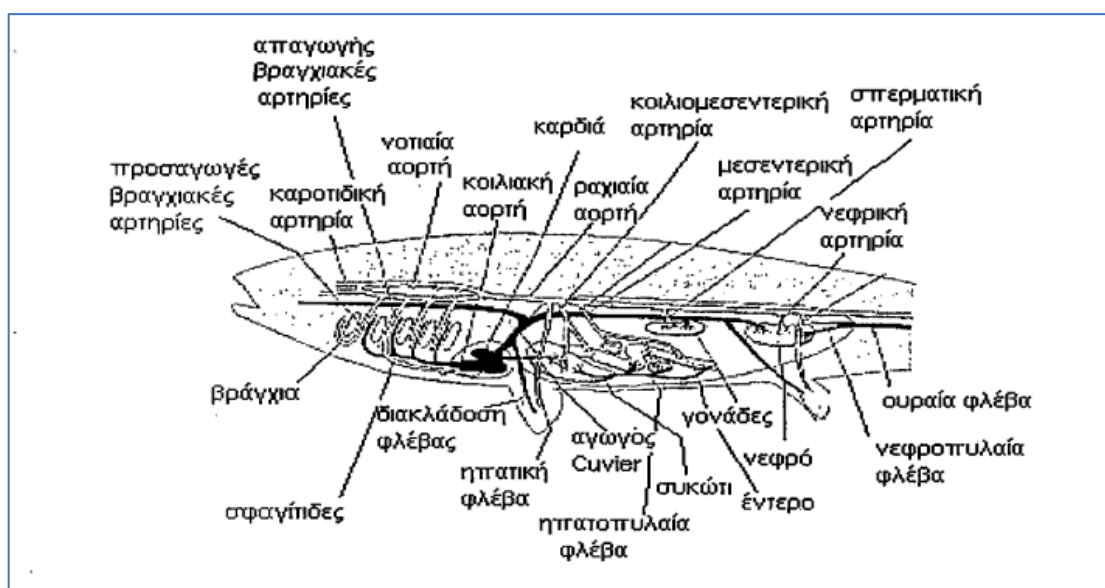
1.3.1 Το κυκλοφορικό σύστημα των τελεόστεων

Το κυκλοφορικό σύστημα των θαλάσσιων οργανισμών που ανήκουν στα τελεόστεα, όπως είναι η τσιπούρα και το λαβράκι, θεωρείται πλήρες και απλό ως προς τη δομή και τη λειτουργία του και περιλαμβάνει την καρδιά, τις φλέβες, τις αρτηρίες, τη λέμφο και τη σπλήνα (Εικ. 1.8). Η κυκλοφορία του αίματος στα τελεόστεα γίνεται μέσα σε κλειστό σύστημα αποτελούμενο από αγγεία και η λειτουργία του έγκειται στο να ωθεί το αίμα από τον καρδιακό μυ προς τα διάφορα σημεία και όργανα του σώματος και τα βράγχια. Καθώς δεν υφίσταται μικρή κυκλοφορία, το αίμα του φλεβικού συστήματος εισέρχεται στα βράγχια κινούμενο από την καρδιά ώστε να

πραγματοποιηθεί η ανταλλαγή των αερίων και στη συνέχεια το εμπλουτισμένο με οξυγόνο αίμα ωθείται προς όλα τα μέρη του σώματος, σε αντίθεση με τα χερσαία σπονδυλωτά στα οποία το αίμα μεταβαίνει πίσω στην καρδιά.

Ο καρδιακός μυς στα ψάρια συναντάται στο εμπρόσθιο τμήμα της κοιλιακής χώρας και είναι περιβεβλημένος από έναν σάκο. Αξίζει να σημειωθεί πως το μέγεθος του καρδιακού μυ διαφέρει ανάμεσα στα ψάρια που ζουν ελεύθερα στη θάλασσα και στα εκτρεφόμενα ψάρια. Συγκεκριμένα, τα εκτρεφόμενα ψάρια διαθέτουν υποτροφική καρδιά ενώ στα ελεύθερα η καρδιά είναι υπερτροφική (Vera et al, 1984).

Κατά την ανταλλαγή αερίων (οξυγόνου και διοξειδίου του άνθρακα) και άλλων ενώσεων που πραγματοποιείται στα βράγχια μεταξύ του ύδατος και του αίματος, γίνεται η οξυγόνωση με το διαλυμένο O_2 του νερού. Για το λόγο αυτό, οποιαδήποτε μεταβολή στις περιβαλλοντικές συνθήκες των υδάτων καθιστά επιρρεπές το κυκλοφορικό σύστημα των τελεόστεων.



Εικόνα 1.8. Κυκλοφορικό σύστημα των ιχθύων (Vera et al., 1984)

1.3.2 Το αίμα των ψαριών και οι κύριες λειτουργίες του

Αρχικά, κυριότερη λειτουργία του αίματος αποτελεί η μεταφορά των θρεπτικών συστατικών καθώς και των αερίων σε ιστούς και αγγεία του σώματος όπου η πρόσβαση είναι περιορισμένη. Κάποιες άλλες βασικές λειτουργίες αυτού του ιστού

περιλαμβάνουν τη μεταφορά θερμότητας από τον πυρήνα του σώματος προς το περιβάλλον, τη μεταφορά ορμονών και μεταβολιτών, όπως η αδρεναλίνη και το γαλακτικό οξύ αντίστοιχα, τη μεταφορά κυττάρων που είναι απαραίτητα για το ανοσοποιητικό σύστημα, όπως τα λευκοκύτταρα, καθώς και μεταβολίτες οι οποίοι ρυθμίζουν σημαντικά στοιχεία του αίματος, όπως για παράδειγμα το pH και την ισορροπία ιόντων εντός και εκτός του κυττάρου. Ως εκ τούτου το αίμα το οποίο κυκλοφορεί διαμέσου των αγγείων παρέχει ζωτική λειτουργία για ζώα ποικίλου μεγέθους από μερικά χιλιοστά έως πολύ μεγαλύτερου μεγέθους (Καπαρελιώτης, 1997).

Το αίμα, λοιπόν, αποτελεί ένα είδος ιστού και συγκεκριμένα είναι ένας ρευστός ιστός μέσα στον οποίο εμπεριέχονται διάφορα κύτταρα, το πλάσμα, και σε συγκεκριμένα είδη σπονδυλωτών ζώων, η αιμολέμφο. Όπως και στον άνθρωπο έτσι και στα ζώα, ο ρόλος αυτού του ιστού είναι η ανταλλαγή αερίων με σημαντικότερο το οξυγόνο (O_2), τα θρεπτικά συστατικά και τα απεκκρίματα τα οποία κατευθύνονται σε διάφορα τμήματα του οργανισμού. Επιπλέον, το αίμα κυκλοφορεί διαμέσου των αγγείων μέσω της καρδιάς και συγκεκριμένα στα ψάρια έχει την ικανότητα να πήζει σε χρονικό διάστημα μεταξύ 20 και 30 δευτερολέπτων συγκριτικά με τους ανθρώπους όπου πήζει σε περίπου οχτώ λεπτά (Κουφός και Βορεινάκης, 1994). Το ποσοστό του αίματος επί του σωματικού βάρους των τελεόστεων ψαριών είναι περίπου 3-4% (Ferguson, 2006), ενώ το αίμα των ιχθύων περιλαμβάνει το πλάσμα, τον ορό και τα αιμοκύτταρα.

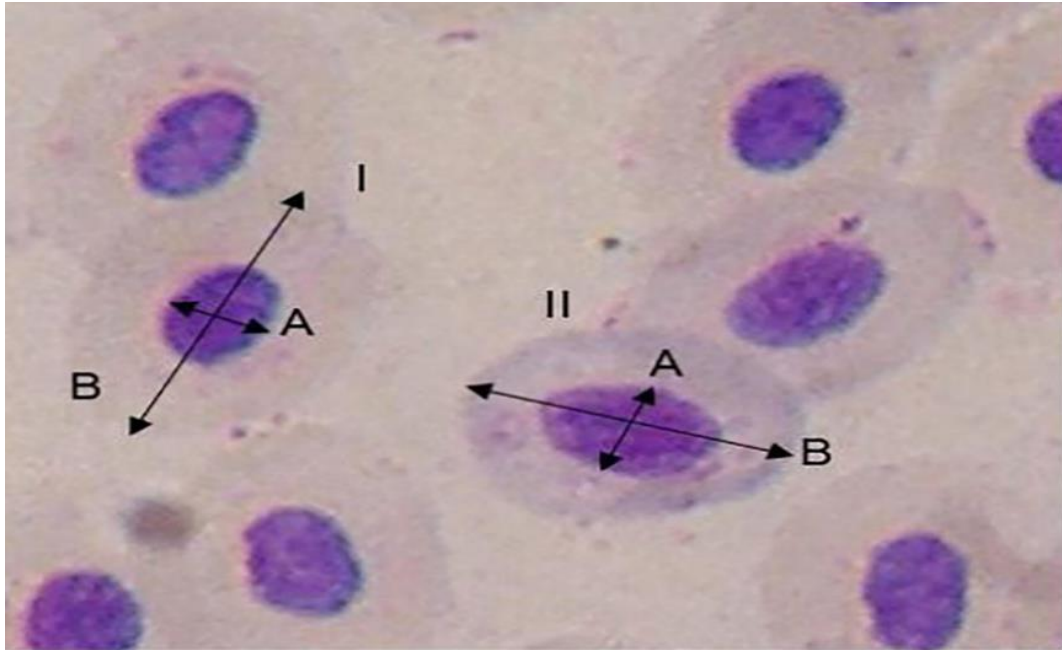
Στη συνέχεια, όσον αφορά στο πλάσμα, αυτό αποτελείται κατά κύριο λόγο από νερό (90%) και το υπόλοιπο 10% αφορά διάφορες οργανικές και ανόργανες ουσίες οι οποίες είναι διαλυμένες μέσα σ' αυτό το εναίωρημα. Πιο συγκεκριμένα, στις οργανικές ουσίες περιλαμβάνονται πρωτεΐνες όπως οι αλβουμίνες, οι σφαιρίνες και το ινωδογόνο που είναι απαραίτητο για τον μηχανισμό της πήξης του αίματος καθώς και αντισώματα τα οποία αντιμετωπίζουν παθογόνους μικροοργανισμούς που εισβάλλουν στον οργανισμό. Επιπροσθέτως, στο πλάσμα περιέχονται ιόντα νατρίου, καλίου, ασβεστίου και μαγνησίου τα οποία όλα βρίσκονται σε μία ωσμωτική ισορροπία απαραίτητη για την επιβίωση του κυττάρου (Καββαδίας, 1994).

Ο ορός του αίματος είναι το υδάτινο τμήμα (υγρό υποκίτρινου χρώματος) που απομένει μετά την πήξη του αίματος. Είναι δηλαδή το συστατικό του αίματος το οποίο χαρακτηρίζεται από την απουσία ερυθρών αιμοσφαιρίων, λευκών αιμοσφαιρίων ή πηκτικών παραγόντων.

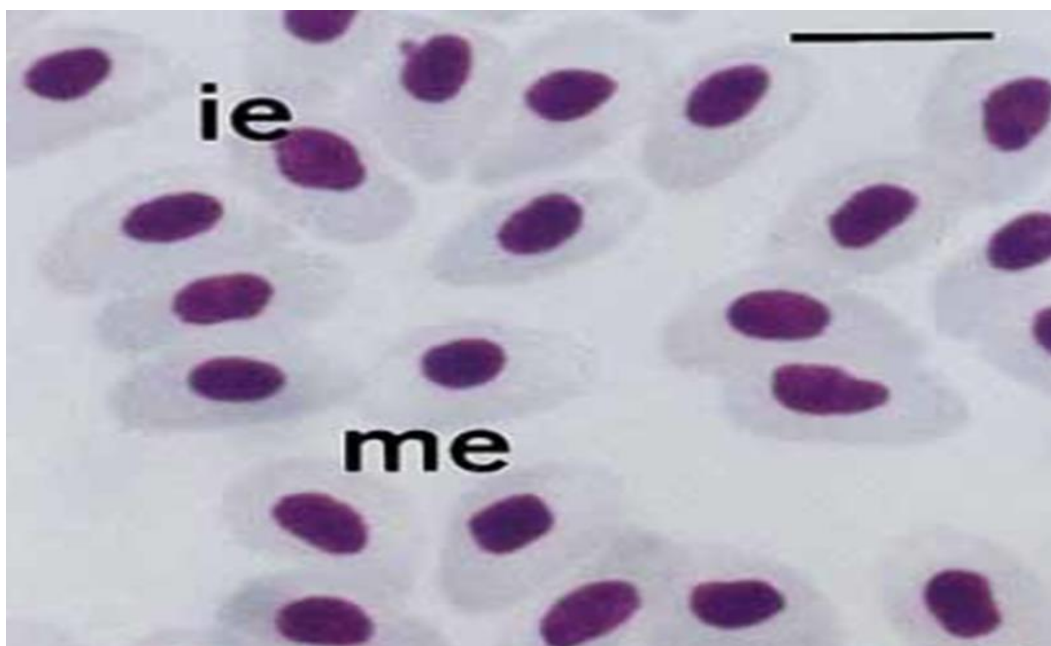
Όσον αφορά στα κύτταρα του αίματος, αυτά διαχωρίζονται στα ερυθρά και λευκά αιμοσφαίρια. Τα ερυθρά αιμοσφαίρια στα ψάρια αποτελούν εμπύρηνα κύτταρα τα οποία περιέχουν αιμοσφαιρίνη και συμμετέχουν στην ανταλλαγή των αερίων. Επίσης, ο αριθμός τους διαφέρει από είδος σε είδος μεταξύ των ψαριών ακόμη και μεταξύ του ίδιου είδους καθώς αυτός εξαρτάται από τις ανάγκες του οργανισμού σε οξυγόνο καθώς και την κατάσταση της υγείας τους (Κουφός και Βορεινάκης, 1994). Συνεχίζοντας, τα ερυθρά αιμοσφαίρια στα ψάρια προέρχονται είτε από τους ερυθροβλάστες ή από αρχέγονα πρόδρομα κύτταρα του περιφερικού αίματος. Συγκεκριμένα, οι ερυθροβλάστες υπόκεινται σε πολλαπλές μιτωτικές διαιρέσεις μέχρι να σχηματίσουν τα ερυθρά αιμοσφαίρια στα οποία εμπεριέχεται η πρωτεΐνη αιμοσφαιρίνη και η οποία τους προσδίδει αυτό το χαρακτηριστικό κόκκινο χρώμα. Ένα παράδειγμα ερυθροποίησης στους οστειχθείς είναι πως η ερυθροποίηση συμβαίνει στους νεφρούς ενώ σε πρωτόγονα ψάρια όπως οι χονδριχθείς και τα άγναθα το ίδιο το αίμα αποτελεί το όργανο ερυθροποίησης. Ακόμη, η δομή τους μπορεί να είναι είτε ελλειπτική ή επιμήκης και ο πυρήνας τους είναι ωοειδής (Καββαδίας, 1994).

Πιο συγκεκριμένα, στην τσιπούρα και στο λαβράκι παρατηρούνται τόσο άωρα όσο και ώριμα ερυθρόκύτταρα. Στην τσιπούρα (Εικ. 1.9) τα άωρα ερυθροκύτταρα έχουν οβάλ σχήμα και τα ώριμα ερυθροκύτταρα είναι ατρακτοειδή με ωοειδές πυρήνα. Στο λαβράκι (Εικ. 1.10), τα ώριμα ερυθροκύτταρα έχουν επίσης ατρακτοειδές σχήμα με έναν κεντρικό οβάλ πυρήνα, ενώ τα άωρα ερυθροκύτταρα έχουν ωοειδές σχήμα με έναν μεγάλου μεγέθους κεντρικό οβάλ πυρήνα ((Marques et al., 2020, Esteban et al., 2000).

Η πραγματοποίηση της ποσοτικής ανάλυσης των ερυθρών αιμοσφαιρίων περιλαμβάνει τη μέτρηση του αριθμού των ερυθροκυττάρων καθώς και της συγκέντρωσης της αιμοσφαιρίνης. Πολύ σημαντική, επίσης, παράμετρος του αίματος στους ιχθύες είναι η τιμή του αιματοκρίτη, δηλαδή της αναλογίας των ερυθροκυττάρων επί του όγκου του συνολικού αίματος. Πολύ σημαντική είναι, επίσης, και η εκτίμηση του όγκου και του περιεχομένου των ερυθροκυττάρων, η οποία μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω δεικτών όπως είναι ο μέσος όγκος των ερυθρών αιμοσφαιρίων, η μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης ανά ερυθρό αιμοσφαίριο και η μέση περιεκτικότητα των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε αιμοσφαιρίνη.



Εικόνα 1.9. Ερυθροκύτταρα τσιπούρας I. Ωριμα II. Άωρα (Marques et al., 2020)



Εικόνα 1.10. Ερυθροκύτταρα λαβρακίου, ie: Άωρα, me: Ωριμα (Esteban et al., 2000)

Συνεχίζοντας, τα λευκά αιμοσφαίρια αποτελούν άχρωμα κύτταρα τα οποία διαθέτουν πυρήνα και η λειτουργία τους περιλαμβάνει την αντιμετώπιση ξένων μικροοργανισμών που εισβάλλουν στον οργανισμό. Κάποιες από αυτές τις λειτουργίες

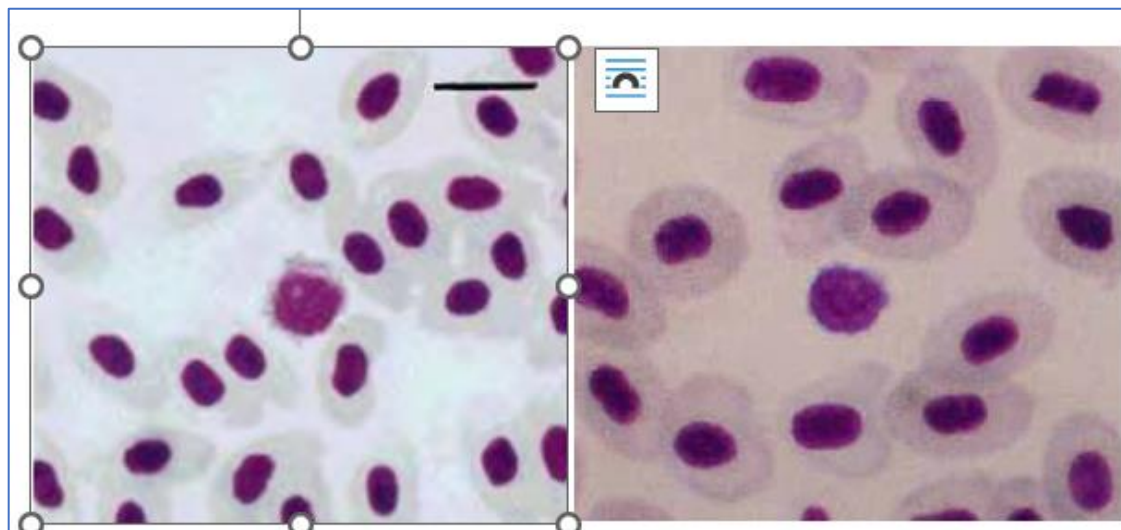
εμπεριέχουν τη φαγοκυττάρωση και την πέψη θραυσμάτων κυττάρων. Ακόμη, έχουν την ικανότητα να διαπερνούν τοιχώματα αγγείων ώστε να φτάσουν στον ιστό όπου βρίσκεται το ξένο σώμα με σκοπό την αντιμετώπισή του, μία λειτουργία που τα κάνει να διαφέρει από τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Όσον αφορά στα ψάρια, ο αριθμός τους διαφέρει ανάλογα με το είδος, ενώ η αιμοποίηση των λευκών κυττάρων πραγματοποιείται από όργανα όπως οι νεφροί, ο θύμος αδένας και ο σπλήνας.

Τα λευκοκύτταρα διαχωρίζονται σε τέσσερις κατηγορίες, καθεμία από τις οποίες εκτελεί και διαφορετική λειτουργία. οι οποίες είναι οι εξής:

- λεμφοκύτταρα
- θρομβοκύτταρα
- μονοκύτταρα
- κοκκιοκύτταρα

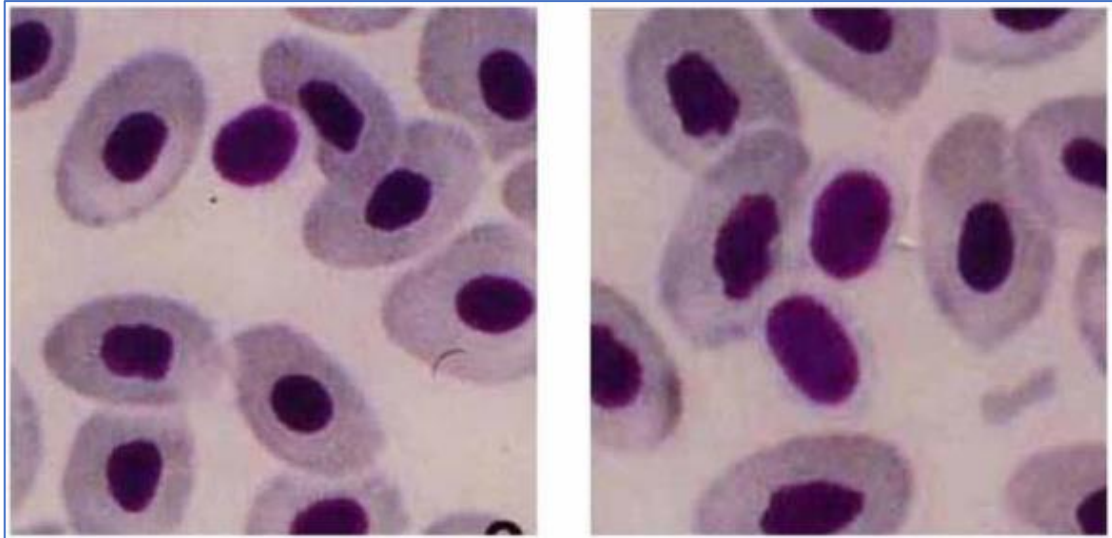
Λεμφοκύτταρα: η αναλογία τους συγκριτικά με τα λευκά αιμοσφαίρια στα ψάρια είναι περίπου 80%, παρ' όλα αυτά η δομή τους είναι τέτοια ώστε είναι αρκετά δύσκολο να διακριθούν από τα θρομβοκύτταρα οπότε και να εκτιμηθεί ο πραγματικός τους αριθμός. Ως προς τη δομή τους, αυτά έχουν σφαιρικό σχήμα με μέγεθος διαμέτρου περίπου 8 μm τα μικρότερα και τα μεγαλύτερα 12 μm . Η διαφορά τους έγκειται στην ποσότητα του κυτταροπλάσματος που διαθέτουν και στον συνολικό αριθμό των οργανιδίων και για το λόγο αυτό τα τελευταία έχουν και μεγαλύτερη διάμετρο (Κουφός και Βορεινάκης, 1994). Σύμφωνα λοιπόν με τα παραπάνω στοιχεία, διακρίνονται τρεις κατηγορίες κυττάρων οι οποίες είναι τα λεμφοκύτταρα, οι λεμφοβλάστες και τα πλασμοκύτταρα. Συγκεκριμένα, οι λεμφοβλάστες έχουν σχήμα είτε στρογγυλό ή ωοειδές με διάμετρο περίπου 11 μm με έναν ή και δύο πυρηνίσκους. Αξίζει ωστόσο να αναφερθεί πως το σχήμα τους είναι ακανόνιστο καθώς διαθέτουν ψευδοπόδια. Ακόμη, το κυτταρόπλασμά τους είναι βασεόφιλο με πυρήνα ο οποίος εμπεριέχει συμπυκνωμένη χρωματίνη και μέγεθος το οποίο καλύπτει ένα μεγάλο μέρος του συνολικού κυτταρικού όγκου. Στη συνέχεια, τα πλασμοκύτταρα αποτελούν ωοειδή κύτταρα με διάμετρο που φτάνει τα 12 μm και με σφαιρικό πυρήνα διαμέτρου 7 μm ο οποίος είναι τοποθετημένος προς την περιφέρεια του κυττάρου (Καββαδίας, 1994). Επιπλέον, τα λεμφοκύτταρα στα ψάρια διακρίνονται σε υποκατηγορίες όπως στον άνθρωπο και διαφοροποιούνται σε T και B λεμφοκύτταρα τα οποία και συμμετέχουν στην ανοσιακή απόκριση παράγοντας τα αντισώματα ή αλλιώς ανοσοσφαιρίνες, κατ'

αυτόν τον τρόπο αντιμετωπίζοντας ξένα σώματα τα οποία ονομάζονται αντιγόνα. Στην Εικόνα 1.11 παρουσιάζονται τα λεμφοκύτταρα της τσιπούρας και του λαβρακίου.

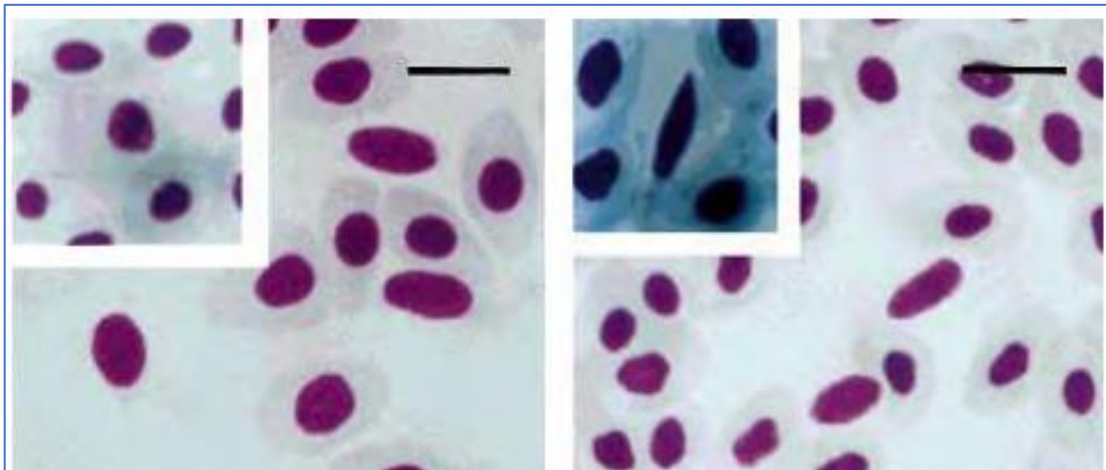


Εικόνα 1.11. Λεμφοκύτταρα λαβρακίου (αριστερά) (Estepan et al., 2000) και λεμφοκύτταρα τσιπούρας (δεξιά) (López-Ruiz et al., 1992)

Θρομβοκύτταρα: Όσον αφορά στα θρομβοκύτταρα, αυτά ονομάζονται και αιμοπετάλια τα οποία είναι υπεύθυνα για τον μηχανισμό πήξης του αίματος και αποτελούν τα αμέσως πιο ευδιάκριτα κύτταρα έπειτα από τα ερυθρά κύτταρα, στο αίμα των ιχθύων. Ακόμη, η προέλευσή τους στα ψάρια δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί ωστόσο πιστεύεται πως προέρχονται από τον σπλήνα καθώς παρατηρείται μεγάλος αριθμός από αυτών στο όργανο αυτό. Ως προς τη μορφολογία τους, τα θρομβοκύτταρα διακρίνονται σε τέσσερις κατηγορίες, τα αιχμηρά, τα ωοειδή, τα διαμερισματοποιημένα και τα ατρακτοειδή. Συγκεκριμένα, τα ατρακτοειδή ή ωοειδή θρομβοκύτταρα αποτελούν την πιο συχνή τους μορφή σε βιολογικό οργανισμό (*in vivo*) ενώ κάποιες φορές τα ίδια μπορούν να παρουσιάζονται και ως αιχμηρά. Στο λαβράκι συναντώνται δύο κατηγορίες τα ώριμα και τα νεαρά όπου τα ώριμα έχουν σχήμα στρογγυλό και μέγεθος έως και 8μm, ενώ μπορεί να εντοπιστούν μεμονωμένα ή σε συστάδες (Καβαδίας, 1994), ενώ στην τσιπούρα έχουν παρατηρηθεί τρεις μορφές θρομβοκυττάρων που έχουν έναν μεγάλο κεντρικό πυρήνα: στρογγυλά, επιμήκη και ατρακτοειδή ((Pavlidis et al., 2007).



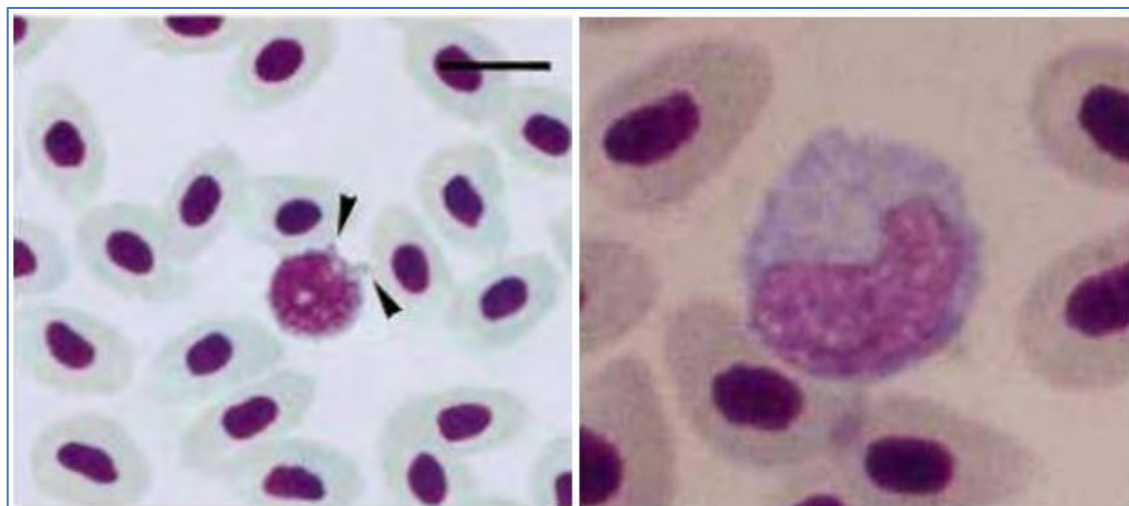
Εικόνα 1.12. Θρομβοκύτταρα τσιπούρας σε στρογγυλό (αριστερά) και οβάλ (δεξιά) σχήμα (López-Ruiz et al., 1992)



Εικόνα 1.13. Θρομβοκύτταρα λαβρακίου σε συστάδα (αριστερά) και ελλειψοειδές (δεξιά) σχήμα (Esteban et al., 2000)

Μονοκύτταρα: Συνεχίζοντας, τα μονοκύτταρα (ή αλλιώς μακροφάγα) διαθέτουν μεγάλο πυρήνα και καταλαμβάνουν το 1/3 του συνολικού όγκου του κυττάρου στους ιχθύες. Επίσης, βρίσκονται σε ελάχιστο ποσοστό περίπου 0.1% από τον συνολικό αριθμό των λευκοκυττάρων. Το σχήμα τους είναι ωοειδές με διάμετρο από 9 έως 25μm και εμπεριέχουν μικρά κοκκία στο κυτταρόπλασμά τους (Κουφός και Βορεινάκης, 1994). Ακόμη, ο πυρήνας τους είναι νεφροειδούς σχήματος και βρίσκεται προς την περιφέρεια του κυττάρου, το κυτταρόπλασμά τους χρωματίζεται μπλε με ειδικές

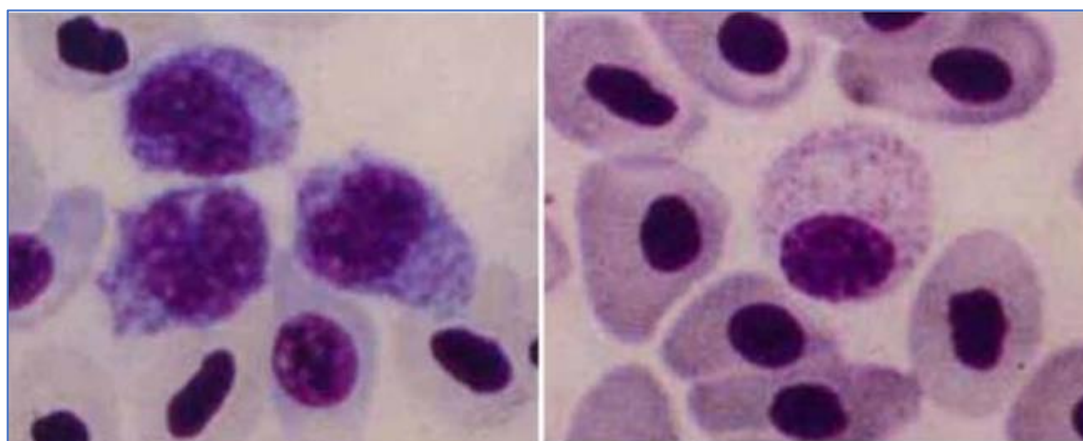
χρωστικές ενώ τα κοκκία τους με κόκκινο χρώμα (Καββαδίας, 1994). Τέλος, η λειτουργία τους συνίσταται στην αντιμετώπιση των αντιγόνων μέσω της φλεγμονής και της μη ειδικής ανοσιακής απόκρισης. Επίσης, ενδέχεται να προέρχονται από τους νεφρούς καθώς εντοπίζονται σε μεγάλο αριθμό σ' αυτούς.



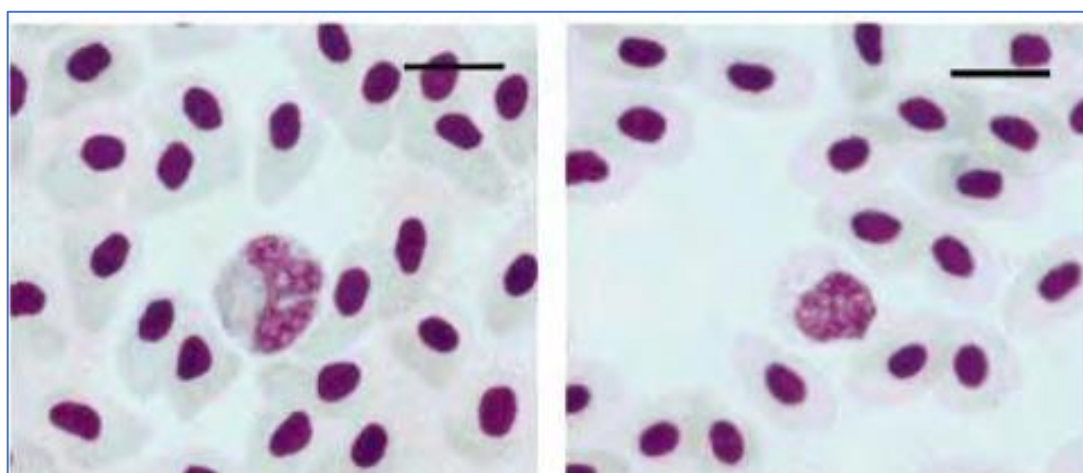
Εικόνα 1.14. Μονοκύτταρα στο λαβράκι (αριστερά) (Esteban et al, 2000.) και στην τσιπούρα (δεξιά) (López-Ruiz et al., 1992)

Κοκκιοκύτταρα: Η τελευταία μορφή των λευκοκυττάρων αφορά τα κοκκιοκύτταρα τα οποία στα ψάρια κατέχουν 4-60% του συνολικού αριθμού αυτών, καθώς αυτή η αναλογία διαφέρει μεταξύ διαφορετικών ειδών ψαριών. Επίσης, όσον αφορά στη δομή τους, χαρακτηρίζονται ως πολυμορφοπύρρηνα με πολυάριθμα κοκκία στο κυτταρόπλασμά τους και τα οποία διακρίνονται στα ψάρια σε βασεόφιλα, ηωσινόφιλα και ουδετερόφιλα. Συγκεκριμένα, τα ουδετερόφιλα αποτελούν την πλειοψηφία των κοκκιοκυττάρων στα ψάρια, δεν χρωματίζονται με βασικές ή όξινες χρωστικές οπότε και μπορούν να χρωματιστούν με ουδέτερες χρωστικές. Ακόμη, η λειτουργία τους συνίσταται στην αντιμετώπιση των βακτηρίων και διαθέτουν την ικανότητα να μετακινούνται στον αντίστοιχο μολυσμένο ιστό. Επίσης, τα ουδετερόφιλα έχουν στρογγυλό σχήμα με διάμετρο περίπου 10μm. Η χρωματίνη του πυρήνα έχει σχήμα αμπούλας και ο ίδιος βρίσκεται προς τον έναν πόλο του κυττάρου. Τα κοκκία των ουδετερόφιλων είναι άχρωμα ενώ το κυτταρόπλασμά τους χρωματίζεται γκρι (Καββαδίας, 1994). Στη συνέχεια, τα ηωσινόφιλα έχουν σχήμα είτε στρογγυλό είτε ωοειδές με διάμετρο 10μm, ο πυρήνας τους δεν βρίσκεται στο κέντρο του κυττάρου, ενώ διαθέτουν πολυάριθμους λοβούς και χρωματίζονται με όξινες χρωστικές, όπως για παράδειγμα η χρωστική ηωσίνη. Επιπλέον, τα παραπάνω κύτταρα

συμμετέχουν σε αλλεργικές αντιδράσεις και αντιμετωπίζουν παρασιτικές λοιμώξεις. Μία άλλη κατηγορία των κοκκιοκυττάρων των λευκών αιμοσφαιρίων, τα βασεόφιλα έχουν στρογγυλό σχήμα με διάμετρο 10μm και χρωματίζονται με βασικές χρωστικές (Καββαδίας, 1994), ενώ βασεόφιλα δεν έχουν παρατηρηθεί στην τσιπούρα και στο λαβράκι, καθώς σπανίζουν στα τελεόστεα ψάρια (thefishsite.com). Εν τέλη, τα κοκκιοκύτταρα παράγονται από τους νεφρούς και ο ρόλος των κοκκιοκυττάρων είναι να συμμετέχουν στο πρώτο στάδιο της ανοσοβιολογικής απόκρισης που ονομάζεται μη ειδική ανοσία καθώς δεν μπορούν να αναγνωρίσουν συγκεκριμένα αντιγόνα. Επομένως, έχουν την ιδιότητα να καταστρέφουν το αντιγόνο με τον μηχανισμό της φαγοκυττάρωσης ή μέσω της κυτταροτοξικής αντίδρασης.



Εικόνα 1.15. Ουδετερόφιλα (αριστερά) και εωσινόφιλα (δεξιά) κοκκιοκύτταρα στο αίμα της τσιπούρας (López-Ruiz et al., 1992)



Εικόνα 1.16. Ουδετερόφιλα (αριστερά) και εωσινόφιλα (δεξιά) κοκκιοκύτταρα στο αίμα του λαβρακίου (Esteban et al., 2000)

1.3.3 Βιοχημική και ορμονολογική σύσταση του ορού του αίματος στους ιχθύες

Από τις βιοχημικές και ορμονολογικές αναλύσεις του αίματος των ψαριών μπορούν να αναδειχθούν πληροφορίες για την κατάσταση της υγείας τους. Στις κυριότερες βιοχημικές παραμέτρους που μπορούν να εξεταστούν συγκαταλέγονται οι εξής (Witeska et al., 2022):

Γλυκόζη: Η γλυκόζη αποτελεί έναν μονοσακχαρίτη ο οποίος σχηματίζεται από τη διάσπαση των υδατανθράκων και χρησιμοποιείται από το σώμα ως μία από τις κύριες πηγές ενέργειας μέσω του μηχανισμού της γλυκόλυσης κατά την οποία οξειδώνεται ώστε να παραχθεί ενέργεια (ATP) στα κύτταρα. Επίσης, αποθηκεύεται στο ήπαρ και απελευθερώνεται από αυτό όταν υπάρχουν ανάγκες σε ενέργεια ενώ στον μυϊκό ιστό αποθηκεύεται με τη μορφή γλυκογόνου. Στους εκτρεφόμενους ιχθύες, οι μεταβολές στα επίπεδα της γλυκόζης στο αίμα τους αποτελεί έναν βασικό δείκτη εκτίμησης της καταπόνησής τους.

Γαλακτικό οξύ: Η παραγωγή του γαλακτικού οξέος στον οργανισμό είναι αποτέλεσμα του μεταβολισμού των υδατανθράκων και χρησιμοποιείται στις περιπτώσεις που οι ανάγκες του οργανισμού για ενέργεια είναι μεγαλύτερες της παροχής οξυγόνου, ώστε να πραγματοποιηθεί η μυϊκή σύσπαση. Οι συγκεντρώσεις του γαλακτικού οξέος στο αίμα εμφανίζουν αύξηση σε περιπτώσεις καταπόνησης και στρες και για το λόγο αυτό είναι μία εξέταση που πραγματοποιείται συχνά σε εκτρεφόμενους ιχθύες.

Λιποπρωτεΐνες: Αποτελούν μορφές λιπιδίων συνδεδεμένα με υδρόφιλες πρωτεΐνες τα οποία συμμετέχουν στη μεταφορά λιπαρών οξέων μέσω της κυκλοφορίας του αίματος και στην παραγωγή αλλά και την αποθήκευση ενέργειας. Στο αίμα, απαντώνται με τη μορφή χαμηλής σε περιεκτικότητα λιποπρωτεΐνης (LDL) και πολύ χαμηλής περιεκτικότητας σε λιποπρωτεΐνη (VLDL).

Ουρία: Η ουρία αποτελεί παραπροϊόν του μεταβολισμού των αζωτούχων ενώσεων στο σώμα και συναντάται στα ούρα. Πιο συγκεκριμένα, η σύνθεσή της πραγματοποιείται στο ήπαρ και από εκεί μέσω της κυκλοφορίας του αίματος απεκκρίνεται μέσω των νεφρών με τα ούρα. Επίσης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης καλής λειτουργίας των νεφρών, καθώς μορφές νεφρικής ανεπάρκειας επηρεάζουν την αποβολή της από τον οργανισμό.

Ολικές πρωτεΐνες: Αντιπροσωπεύουν τη συνολική συγκέντρωση της αλβουμίνης αλλά και των σφαιρινών στο αίμα. Επιπλέον, συντίθενται στο ήπαρ και για το λόγο αυτό η μέτρησή τους αποτελεί καλό δείκτη εύρυθμης λειτουργίας του ήπατος. Επίσης, οι ολικές πρωτεΐνες περιλαμβάνουν ένζυμα όπως παράγοντες πήξης που είναι απαραίτητοι για τον μηχανισμό της αιμόστασης. Έλλειψη αυτών μπορεί να υποδηλώνει κάποιας μορφής ηπατικής νόσου.

Ιόντα Νατρίου-Χλωρίου: Το νάτριο είναι απαραίτητο για την καλή λειτουργία του νευρικού και μυϊκού συστήματος, ενώ το κάλιο ανευρίσκεται στα υγρά εντός των κυττάρων. Οι συγκεντρώσεις των ιόντων αυτών στο αίμα των ιχθύων χρησιμοποιείται επίσης συχνά ως δείκτης καταπόνησης των εκτρεφόμενων ιχθύων.

Γαλακτική αφυδρογονάση: Αποτελεί ένα ένζυμο στους βιολογικούς οργανισμούς το οποίο καταλύει την αντίδραση μετατροπής του γαλακτικού οξέος σε πυροσταφυλικό οξύ μέσω του κύκλου της γλυκόλυσης.

Κρεατινική κινάση: Αποτελεί ένα ένζυμο το οποίο καταλύει τη μετατροπή της κρεατινίνης σε τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) ώστε στη συνέχεια να δημιουργηθεί φωσφοκρεατινίνη (PCr) και διφωσφορική αδενοσίνη (ADP) αλλά και αντίστροφα.

Κορτιζόλη: Αποτελεί τον ορμονολογικό δείκτη καταπόνησης που προσδιορίζεται πιο συχνά στα ψάρια. Η απελευθέρωση της κορτιζόλης στα ψάρια πραγματοποιείται κατά κύριο λόγο από τα ενδοεφρικά κύτταρα όταν διεγείρεται η ACTH (φλοιοεπινεφριδιοτρόπος ορμόνη).

1.3.4 Παράγοντες που επηρεάζουν τα συστατικά του αίματος και τις συγκεντρώσεις τους στους ιχθύες

Τα συστατικά του αίματος του ψαριού μπορούν να επηρεαστούν από οποιαδήποτε διατάραξη της ομοιόστασης του οργανισμού τους. Πιο συγκεκριμένα, το ψάρι αποτελεί έναν ποικιλόθερμο οργανισμό ο οποίος προσαρμόζεται σύμφωνα με τις συνθήκες που επικρατούν στο εξωτερικό περιβάλλον, δηλαδή το νερό. Ως εκ τούτου, αλλαγές που συμβαίνουν στο νερό μέσα στο οποίο ζει, αυτές επηρεάζουν και την εύρυθμη λειτουργία του οργανισμού επομένως και τα στοιχεία του αίματος (Pavlidis et al., 2007).

Ένας ακόμη παράγοντας που επηρεάζει τις φυσιολογικές τιμές των συστατικών του αίματος των ψαριών είναι ο τρόπος με τον οποίο γίνεται η αιμοληψία καθώς και ο τρόπος ανάδυσης από το νερό. Για παράδειγμα, ένας λάθος χειρισμός μπορεί να επιφέρει διόγκωση των ερυθροκυττάρων των ψαριών λόγω έκκρισης κατεχολαμινών, επιδρώντας στις τιμές αιμοσφαιρίνης και αιματοκρίτη. Πιο συγκεκριμένα, αυτό συμβαίνει λόγω της διατάραξης των συγκεντρώσεων των ιόντων Na^+ και Cl^- που επέρχεται στην κυτταρική μεμβράνη και της ωσμωτικής ισορροπίας. Τέλος, άλλοι παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν τον αιματοκρίτη είναι η εποχική περίοδος και εάν το ψάρι βρίσκεται σε αναπαραγωγικό στάδιο ή όχι, η θερμοκρασία του νερού αλλά και το πόσο δραστήριο είναι το ψάρι, όπως το λαβράκι το οποίο λόγω υψηλής δραστηριότητας έχει και αυξημένο αιματοκρίτη (Railo et al., 1985).

Εν συνεχεία, άλλες παράμετροι οι οποίες εξετάζονται είναι ο συνολικός αριθμός των αιμοσφαιρίων, η συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης καθώς και η συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης ανά ερυθροκύτταρο. Όπως και στους ανθρώπους έτσι και στα ψάρια μπορούν να υπάρξουν παθολογικές καταστάσεις του αίματος, όπως είναι η αναιμία η οποία μπορεί να παρουσιαστεί όταν υπάρχει υπερπληθυσμός ψαριών στο περιβάλλον, όπως για παράδειγμα στην εντατική ιχθυοκαλλιέργεια (Witeska et al., 2022).

Όσον αφορά στα λευκοκύτταρα στα ψάρια, αυτά έχουν παρόμοιες λειτουργίες με εκείνων των θηλαστικών δηλαδή αυξάνονται σε φλεγμονώδεις καταστάσεις ενώ μπορούν επίσης να παρουσιάσουν και αντίστοιχα λευκοπενία (Clauss et al., 2008). Οι παραπάνω παθολογικές μεταβολές μπορεί να παραμείνουν και αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα έως ότου απομακρυνθεί ο στρεσογόνος παράγοντας που τις προκαλεί. Επίσης, αξίζει να σημειωθεί πως το στρες μπορεί να μειώσει και τον αριθμό των λεμφοκυττάρων αφού αυτά παίζουν σπουδαίο ρόλο στην ανοσολογική απόκριση των ψαριών (Witeska et al., 2022). Τέλος, τα αιμοπετάλια ή θρομβοκύτταρα συμμετέχουν στον μηχανισμό πήξης του αίματος των ψαριών σε περιπτώσεις τραυματισμού. Σ' αυτόν τον μηχανισμό συμμετέχει και μία πολύ σημαντική πρωτεΐνη η οποία ονομάζεται ινωδογόνο, η οποία διαφέρει ελάχιστα από αυτήν των θηλαστικών. Παρ' όλα αυτά, ο μηχανισμός πήξης γίνεται με διαφορετικό τρόπο καθώς η θρομβοξάνη δεν συμμετέχει στη συνάθροιση των θρομβοκυττάρων όπως γίνεται στα σπονδυλωτά (Rowley et al., 1988).

Συμπερασματικά, είναι γεγονός πως τα κύτταρα του αίματος στα ψάρια διαθέτουν παρόμοιες λειτουργίες με αυτών των σπονδυλωτών όπως για παράδειγμα

έχει αποδειχθεί η σημαντικότητα των λευκοκυττάρων στην αντιμετώπιση των μολύνσεων. Όμως, δεν έχει μελετηθεί πλήρως η μορφολογία αυτών των κυττάρων και οι γνώσεις πάνω σ' αυτό είναι περιορισμένες. Ωστόσο, ασθένειες οι οποίες προκαλούνται από βακτήρια και παράσιτα μπορούν να διαγνωσθούν με αιμοληψία και παρατήρηση του δείγματος με μικροσκόπιο αρκεί οι επιστήμονες να γνωρίζουν τη φυσιολογική δομή των κυττάρων ώστε να διαγνώσουν την οποιαδήποτε παθολογία στο αίμα (Horton and Okamura, 2003). Επίσης, η μελέτη των αιματολογικών και βιοχημικών παραμέτρων των εκτρεφόμενων ιχθύων αποτελεί ένα πολύ ισχυρό εργαλείο κατά την ανάπτυξη των υδατοκαλλιεργειών, καθώς με τη χρήση τους είναι δυνατόν να διαγιγνώσκονται έγκαιρα τόσο οι ασθένειες στα καλλιεργούμενα είδη όσο και τα επίπεδα καταπόνησης που δέχεται ο οργανισμός τους από τις πρακτικές που εφαρμόζονται κυρίως στις εντατικές ιχθυοκαλλιέργειες, με στόχο την ευημερία της ιχθυοκαλλιέργειας και τη μέγιστη δυνατή παραγωγικότητα αλλά και ποιότητα των εκτρεφόμενων ειδών.

1.4 Σκοπός της διπλωματικής εργασίας και μεθοδολογία

Όπως γίνεται αντιληπτό από τα προηγούμενα, οι τιμές των αιματολογικών, βιοχημικών και ορμονολογικών παραμέτρων στους ιχθύες επηρεάζονται από πλήθος παραγόντων, μεταξύ των οποίων συγκαταλέγονται βιολογικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως είναι το είδος, το φύλο, το βάρος, η ηλικία, η διατροφή, ή έκθεση σε παράσιτα ή βακτήρια, η θερμοκρασία και η ποιότητα των υδάτων, το pH και η διαθεσιμότητά του νερού σε οξυγόνο. Επίσης, οι συνθήκες που επικρατούν στην εντατική ιχθυοκαλλιέργεια, όπως η πυκνότητα των καλλιεργούμενων ειδών, οι μέθοδοι διαχείρισης των ιχθύων καθώς και οι μέθοδοι δειγματοληψίας και αναισθησίας είναι δυνατόν να οδηγήσουν σε μεταβολές των αιματολογικών αυτών παραμέτρων.

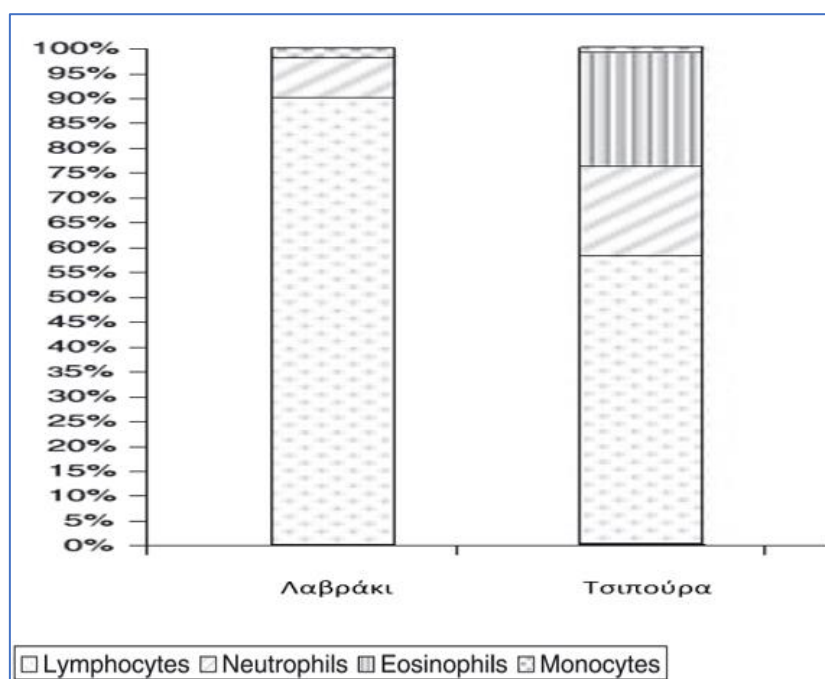
Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η βιβλιογραφική ανασκόπηση με στόχο την παρουσίαση μελετών που έχουν πραγματοποιηθεί όσον αφορά στο αιματολογικό προφίλ των εντατικά εκτρεφόμενων ιχθύων και συγκεκριμένα της τσιπούρας και του λαβρακίου, σε συνάρτηση με βιολογικές και περιβαλλοντικές παραμέτρους, καθώς και η καταγραφή και συγκριτική αξιολόγηση των κυττάρων αίματος και των αιματολογικών, βιοχημικών και ορμονολογικών αυτών αναλύσεων.

Για τον σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκε αναζήτηση άρθρων στις βάσεις δεδομένων Scopus και Pubmed, χρησιμοποιώντας ως λέξεις- κλειδιά τις ακόλουθες: intensive aquaculture, *Sparus aurata*, *Dicentrarchus labrax*, haematological profile, biochemical parameters. Παράλληλα, πραγματοποιήθηκε χειροκίνητη σάρωση για εύρεση άρθρων από τις παραπομπές των αρχικών άρθρων που επέστρεψε η αρχική αναζήτηση στις ανωτέρω βάσεις δεδομένων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ II : ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

2.1 Μελέτες που σχετίζονται με τα αιματολογικό και βιοχημικό προφίλ τσιπούρας – λαβράκιου

Οι López-Ruiz et al. (1992) μελέτησαν το αιματολογικό προφίλ στις τσιπούρες και συγκεκριμένα τα κύτταρα του περιφερειακού αίματός τους μέσω των μεθόδων της οπτικής και ηλεκτρονικής μικροσκοπίας και τα αποτελέσματα της μελέτης τους οδήγησαν στον χαρακτηρισμό της μορφολογίας των αιμοκυττάρων, όπως περιγράφονται στην εισαγωγή της παρούσας εργασίας (Κεφάλαιο 1.3.2). Στο ίδιο υποκεφάλαιο της εισαγωγής αναφέρονται και τα χαρακτηριστικά της μορφολογίας των αιμοκυττάρων στα λαβράκια, όπως προέκυψαν από τη μελέτη των Esteban et al. (2000). Η μορφολογία και το προφίλ των κυττάρων του περιφερειακού αίματος, καθώς και τα επίπεδα αιματοκρίτη στις τσιπούρες και τα λαβράκια, μελετήθηκε και από τους Pavlidis et al. (2007), όπου οι ευρεθείσες τιμές για τον αιματοκρίτη ήταν 38% και 40% για τα λαβράκια και τις τσιπούρες αντίστοιχα, ενώ η διαφοροποίηση των λευκοκυττάρων στο αίμα των συγκεκριμένων ιχθύων φαίνεται στην παρακάτω εικόνα:



Εικόνα 2.1. Διαφοροποίηση των λευκοκυττάρων στην τσιπούρα και το λαβράκι (Pavlidis et al., 2007)

Όπως παρατηρείται, το ποσοστό λεμφοκυττάρων στα λαβράκια αγγίζει το 90%, ενώ στις τσιπούρες ανέρχεται στα επίπεδα του 60% επί των λευκών αιμοσφαιρίων. Επίσης, το ποσοστό ουδετερόφιλων και ηωσινόφιλων στην τσιπούρα είναι σχετικά μεγάλο, ενώ χαρακτηριστικό είναι το γεγονός ότι τα ηωσινόφιλα λείπουν εντελώς από το λαβράκι.

Πλήθος άλλων μελετών έχουν ασχοληθεί με την εύρεση των αιματολογικών και βιοχημικών προφίλ των συγκεκριμένων ιχθύων, καθώς είναι ευρέως εκτρεφόμενα είδη στις εντατικές ιχθυοκαλλιέργειες, με σκοπό την εύρεση των φυσιολογικών επιπέδων βασικών αιματολογικών, βιοχημικών και ορμονολογικών παραμέτρων, ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως τιμές αναφοράς, χρήσιμες για τον έλεγχο της υγείας των ιχθύων σε μία καλλιέργεια. Οι Lupi et al. (2005), πραγματοποίησαν για πρώτη φορά μία μελέτη με σκοπό την εύρεση τιμών αναφοράς για τον αιματοκρίτη, τις ολικές πρωτεΐνες, τη χοληστερόλη και τη γλυκόζη σε λαβράκια εντατικής και ημι-εντατικής ιχθυοκαλλιέργειας. Οι τιμές αναφοράς που προτείνονται από τους συγγραφείς παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.1.

Πίνακας 2.1. Προτεινόμενες τιμές αναφοράς σε αιματολογικές και βιοχημικές παραμέτρους σε λαβράκια εντατικής και ημιεντατικής ιχθυοκαλλιέργειας

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΕΝΤΑΤΙΚΗ ΙΧΘ/ΓΕΙΑ	ΗΜΙ-ΕΝΤΑΤΙΚΗ ΙΧΘ/ΓΕΙΑ
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ (Hct)%	26.3-41.6	28.7-40.9
ΓΛΥΚΟΖΗ (mmol/l)	2.7-8.5	2.3-6.7
ΟΛΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ (g/dl)	3.1-6.4	3.2-6.0
ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ (mmol/l)	2.63-5.43	2.8-5.41

Οι Roncarati et al. (2006), μελέτησαν επίσης συγκεκριμένες βιοχημικές παραμέτρους που αφορούν στη γλυκόζη, σε λίπδια, πρωτεΐνες και ηπατικά ένζυμα (ALP, AST, ALT) σε τσιπούρες και λαβράκια εντατικών ιχθυοκαλλιεργειών διαφορετικής πυκνότητας σε ιχθύες. Τα αποτελέσματα των αιματολογικών αναλύσεων,

πριν την έναρξη της πειραματικής τους διαδικασίας, θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως οι αρχικές φυσιολογικές τιμές των παραμέτρων αυτών και δίνονται στον ακόλουθο Πίνακα 2.2:

Πίνακας 2.2. Μέσες τιμές βιοχημικών παραμέτρων στην τσιπούρα και στο λαβράκι (Roncarati, 2006)

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΤΣΙΠΟΥΡΑ	ΛΑΒΡΑΚΙ
ΓΛΥΚΟΖΗ (mg/100ml)	70.3	60.1
ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ (mg/100ml)	127	95
ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ (mg/100ml)	274	209
ΟΛ. ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ (U/L)	2.9	3.2
LDH (U/L)	103.3	52
ALP (U/L)	68.7	61.2
AST (U/L)	53	48.7
ALT (U/L)	30.3	23.3

Οι Fazio et al. (2012) και Filiciotto et al. (2012), μελέτησαν τις αιματολογικές παραμέτρους σε τσιπούρες και λαβράκια αντίστοιχα, χρησιμοποιώντας αυτόματο αιματολογικό αναλυτή. Οι μελέτες πραγματοποιήθηκαν σε ενήλικους ιχθύες εκτρεφόμενους σε καλλιέργειες στην Ιταλία και στις δύο περιπτώσεις και τα αποτελέσματα, τα οποία σύμφωνα με τους συγγραφείς μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως τιμές αναφοράς, δίνονται στον παρακάτω Πίνακα 2.3:

Πίνακας 2.3. Αιματολογικές παράμετροι στην τσιπούρα και το λαβράκι ιχθυοκαλλιέργειας (Fazio et al, 2012, Filiciotto et al, 2012)

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΤΣΙΠΟΥΡΑ (Fazio et al., 2012)	ΛΑΒΡΑΚΙ (Filiciotto et al., 2012)
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	3.5	3.57
Hb (g/dl)	8.0	9.7
Ht %	50.35	51.7
MCHC (g/dl)	16.28	18.4
MCH (pg)	23.42	27.2
MCV (fL)	144.4	144.0
WBC ($10^3/\mu\text{L}$)	68.08	31.7
TC ($10^3/\mu\text{L}$)	60.91	87.00

RBC: ερυθρά κύτταρα, Hb: αιμοσφαιρίνη, Ht: αιματοκρίτης, MCHC: μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης ανά ερυθροκύτταρο, MCH: μέση ποσότητα αιμοσφαιρίνης ανά ερυθροκύτταρο, MCV: μέσος όγκος ερυθροκυττάρων, WBC: λευκοκύτταρα, TC: θρομβοκύτταρα

Οι Fazio et al. (2013), μελέτησαν επίσης τις αιματολογικές παραμέτρους καθώς και τα επίπεδα γλυκόζης και γαλακτικού οξέος σε τσιπούρες και λαβράκια στο Τυρηνικό πέλαγος, με στόχο την συσχέτιση των τιμών αυτών με το είδος και τα μορφολογικά χαρακτηριστικά (όπως για παράδειγμα το μέγεθος) των ιχθύων. Από τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής (Πίν. 2.4) προκύπτει ότι οι διαφορές στις τιμές των αιματολογικών παραμέτρων και ειδικότερα του αριθμού ερυθροκυττάρων και των επιπέδων της αιμοσφαιρίνης, εξαρτώνται από το μέγεθος των ψαριών. Συγκεκριμένα, όπως αναφέρουν οι συγγραφείς, οι συγκεκριμένες τιμές εμφανίζονται αυξημένες σε ιχθύες μεγαλύτερου μεγέθους, πιθανότατα λόγω του υψηλότερου μεταβολικού ρυθμού στους μεγαλύτερους ιχθύες. Επίσης, οι συγκεντρώσεις γλυκόζης φαίνεται να συνδέονται με το είδος της διατροφής που λαμβάνουν οι ιχθύες και συγκεκριμένα, τα επίπεδα γλυκόζης εμφανίζονται αυξημένα σε σαρκοφάγους ιχθύες, όπως είναι η τσιπούρα και το λαβράκι, καθώς έχει δείχθει πως οι σαρκοφάγοι τελεόστεοι ιχθύες εμφανίζουν διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη (Moon, 2001). Όσον αφορά, στα επίπεδα γαλακτικού οξέος, είναι χαρακτηριστικό πως στα λαβράκια εμφανίζονται ιδιαίτερα

αυξημένα, γεγονός που οφείλεται στην αυξημένη κινητικότητα των συγκεκριμένων ψαριών που οδηγεί σε αναερόβιο μεταβολισμό (Fazio et al., 2013). Τέλος, ο αυξημένος αριθμός των λευκοκυττάρων και θρομβοκυττάρων που παρατηρείται στην τσιπούρα αντανακλά την αυξημένη ανοσοαπόκριση και ικανότητα των συγκεκριμένων ιχθύων να καταπολεμούν ιώσεις και φλεγμονές (Douglass & Jane, 2010).

Πίνακας 2.4. Αιματολογικές και βιοχημικές παράμετροι στην τσιπούρα και το λαβράκι του Τυρρηνικού πελάγους (Fazio et al., 2013)

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΤΣΙΠΟΥΡΑ	ΛΑΒΡΑΚΙ
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	3.06	3.49
Hb (g/dl)	9.9	8.9
Ht %	53.3	49.2
MCHC (g/dl)	20.5	18.1
MCH (pg)	33	25.5
MCV (fL)	176.3	141.0
WBC ($10^3/\mu\text{L}$)	47.36	27.22
TC ($10^3/\mu\text{L}$)	108.2	80.72
ΓΛΥΚΟΖΗ (mg/dl)	192.8	246.5
ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ (mmol/l)	6.36	16.42

Η συσχέτιση των αιματολογικών και βιοχημικών παραμέτρων με τα βιομετρικά χαρακτηριστικά των ιχθύων αποτυπώνεται και στη μελέτη των Fazio et al. (2015). Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε λαβράκια και τσιπούρες ιχθυοκαλλιέργειας και τα αποτελέσματα δίνονται στον Πίνακα 2.5. Οι συγγραφείς αναφέρουν πως υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ του μεγέθους (βάρος και μήκος) των εκτρεφόμενων τσιπούρων και των επιπέδων αιματοκρίτη και της τιμής του μέσου όγκου ερυθροκυττάρων (MCV), ενώ οι τιμές των λευκοκυττάρων, του γαλακτικού οξέος και του επιπέδου των ολικών πρωτεϊνών βρέθηκε να μειώνονται με την αύξηση του βάρους

και του μήκους των ιχθύων. Βρέθηκε επίσης, πως η αύξηση του μήκους στην τσιπούρα συνδέεται με την αύξηση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα τους. Όσον αφορά στα λαβράκια, βρέθηκε από τους συγγραφείς πως η αύξηση του μεγέθους τους (βάρος και μήκος) συνδέεται με αυξημένα επίπεδα αιματοκρίτη, αιμοσφαιρίνης, μέσου όγκου ερυθροκυττάρων, ολικών πρωτεϊνών και γλυκόζης, ενώ βρέθηκε να υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ του μήκους τους και των επιπέδων γαλακτικού οξέος στο αίμα τους. Οι συγγραφείς καταλήγουν πως είναι πολύ σημαντικό να λαμβάνονται υπόψη τα βιομετρικά χαρακτηριστικά των εκτρεφόμενων ιχθύων κατά τη μέτρηση των τιμών των αιματολογικών και βιοχημικών παραμέτρων, καθώς η αυξημένη μεταβολική δραστηριότητα που πραγματοποιείται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξής τους στις ιχθυοκαλλιέργειες, προκαλούν μεταβολές στις παραμέτρους αυτές.

Πίνακας 2.5. Αιματολογικές και βιοχημικές παράμετροι στην τσιπούρα και στο λαβράκι ιχθυοκαλλιέργειας (μέσες τιμές) (Fazio et al, 2015)

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΤΣΙΠΟΥΡΑ	ΛΑΒΡΑΚΙ
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	3.22	3.83
Hb (g/dl)	10.66	10.4
Ht %	47.78	47.87
MCHC %	22.61	21.85
MCH (pg)	33.4	27.1
MCV (fL)	149.3	125.4
WBC ($10^3/\mu\text{L}$)	60.27	36.87
TC ($10^3/\mu\text{L}$)	82	69
ΓΛΥΚΟΖΗ (mg/dl)	154	199
ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ (mmol/l)	6.15	12.46
ΟΛΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ (g/dl)	3.89	4.32

Τέλος, οι Michail et al. (2022) πραγματοποίησαν μία μεγάλη μετα-ανάλυση των άρθρων της διεθνούς βιβλιογραφίας που σχετίζονται με τις τιμές αναφοράς σε αιματολογικούς δείκτες στην τσιπούρα και στο λαβράκι. Ο Πίνακας 2.6 περιλαμβάνει τις τιμές αναφοράς που προέκυψαν από τη μετα-ανάλυση αυτή.

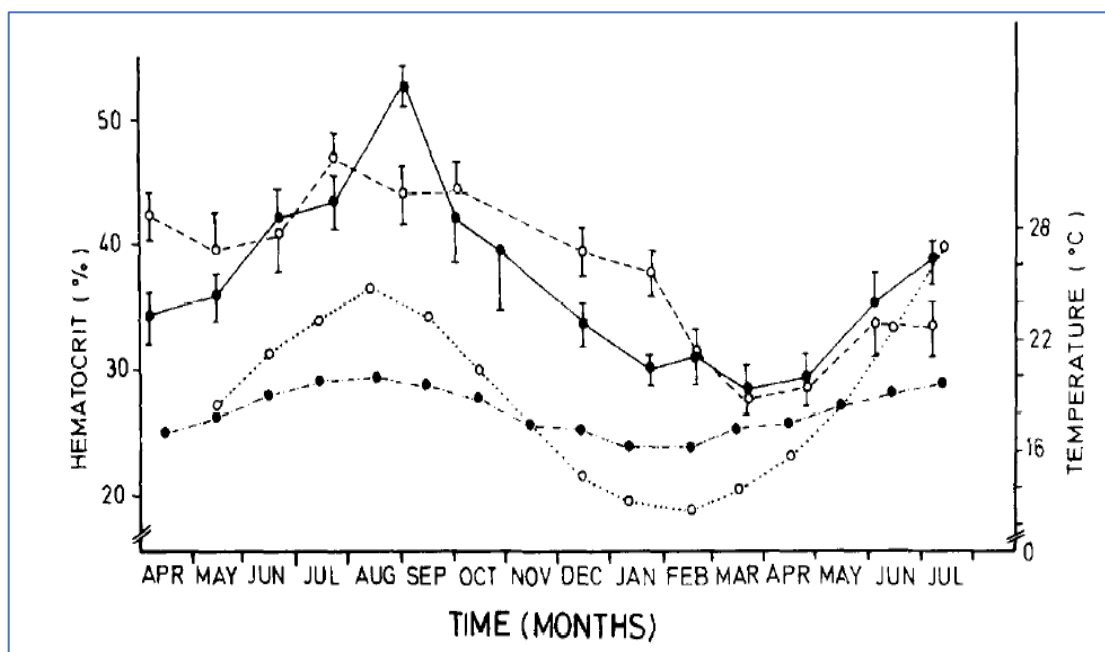
Πίνακας 2.6. Τιμές αναφοράς των αιματολογικών παραμέτρων σε εκτρεφόμενες τσιπούρες και λαβράκια όπως προκύπτουν από τη μετα-ανάλυση των Michail et al. (2022)

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΤΣΙΠΟΥΡΑ	ΛΑΒΡΑΚΙ
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	2.7- 3.2	2.8-3.6
Hb (g/dl)	7.2-9.9	7.8-9.9
Ht %	32-42	32-39
MCHC %	18-23	20-28
MCH (pg)	24-32	24-30
MCV (fL)	120-154	104-126
WBC ($10^3/\mu\text{L}$)	32-66	20-39
TC ($10^3/\mu\text{L}$)	24-74	32-73

2.2 Μελέτες που αφορούν στις εποχιακές και περιβαλλοντικές διακυμάνσεις των αιματολογικών παραμέτρων στην τσιπούρα και το λαβράκι

Οι περιβαλλοντολογικές συνθήκες που επικρατούν σε μία ιχθυοκαλλιέργεια, όπως η θερμοκρασία του νερού, το pH, η ποσότητα του διαλυμένου οξυγόνου στο νερό και η αλατότητα είναι δυνατόν να επιφέρουν μεταβολές στους αιματολογικούς δείκτες των εκτρεφόμενων ιχθύων, οι οποίες με τη σειρά τους να έχουν επίδραση στην ευημερία και ανάπτυξη των ψαριών της καλλιέργειας. Το 1985, οι Zanuy και Carrillo, μελέτησαν την ανάπτυξη των λαβρακίων και τις μεταβολές στις τιμές του αιματοκρίτη τους σε εποχιακό επίπεδο, κυρίως δηλαδή σε σχέση με τη θερμοκρασία των υδάτων, αλλά και σε σχέση με την αλατότητα των υδάτων, καθώς κατένειμαν τα λαβράκια σε

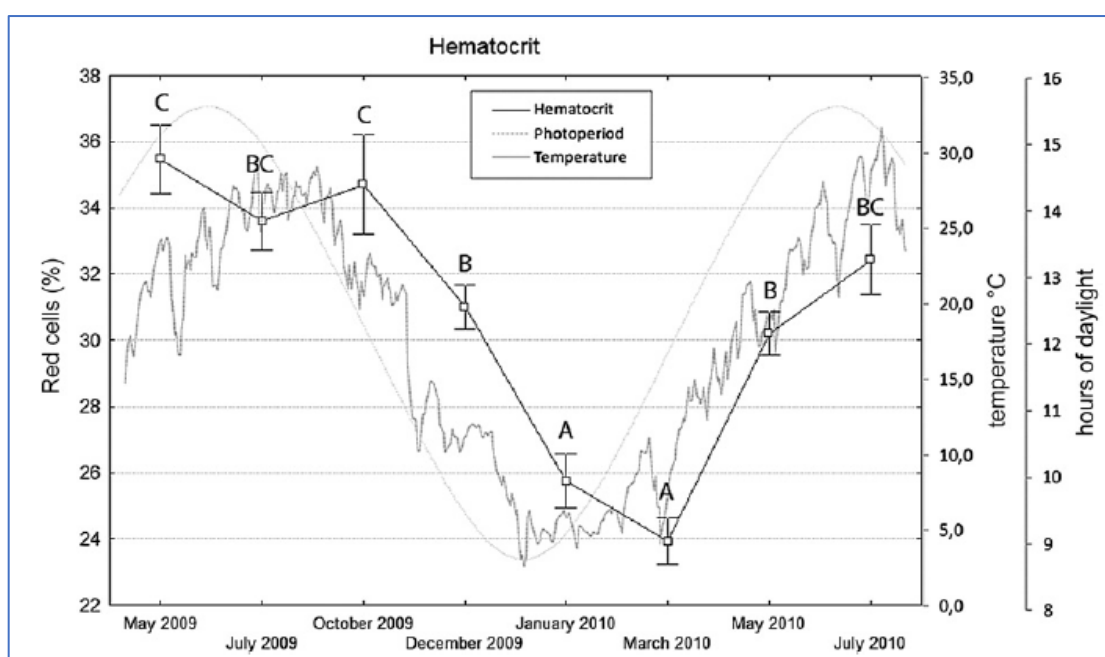
δύο ομάδες. Η πρώτη ομάδα διατηρήθηκε σε θαλασσίνο νερό με αλατότητα 37.8‰, ενώ η δεύτερη ομάδα σε νερό από πηγάδι με αλατότητα 3.5‰. Όπως διακρίνεται στην Εικόνα 2.2., οι τιμές του αιματοκρίτη και στις δύο ομάδες λαβρακίων εμφάνισε χαρακτηριστική πτώση τους χειμερινούς μήνες, από Οκτώβριο έως και Απρίλιο. Η πτώση αυτή κατά τους συγγραφείς, οφείλεται τόσο στην πτώση της θερμοκρασίας του νερού όσο και στις ορμονικές μεταβολές που συμβαίνουν στα ψάρια κατά τη χειμερινή περίοδο, λόγω της μειωμένης ηλιοφάνειας αλλά και της αυξημένης σεξουαλικής δραστηριότητας κατά τους μήνες αυτούς. Αντίθετα, κατά τους μήνες Μάιο έως και Σεπτέμβριο, παρατηρήθηκε αύξηση των τιμών του αιματοκρίτη στα λαβράκια, γεγονός που δείχνει αυξημένη ερυθροποίηση, πιθανότατα λόγω της αυξημένης ανάγκης για πρόσληψη οξυγόνου λόγω της αύξησης της θερμοκρασίας των υδάτων, η οποία οδηγεί σε μείωση του διαλυμένου οξυγόνου (Zanuy & Carrillo, 1985).



Εικόνα 2.2. Μεταβολές στις τιμές του αιματοκρίτη και η σχέση τους με τις θερμοκρασιακές μεταβολές κατά τη διάρκεια του έτους σε λαβράκια διατηρούμενα σε θαλασσίνο νερό (λευκοί κύκλοι) και σε νερό πηγαδιού (μαύροι κύκλοι) (Zanuy & Carrillo, 1985)

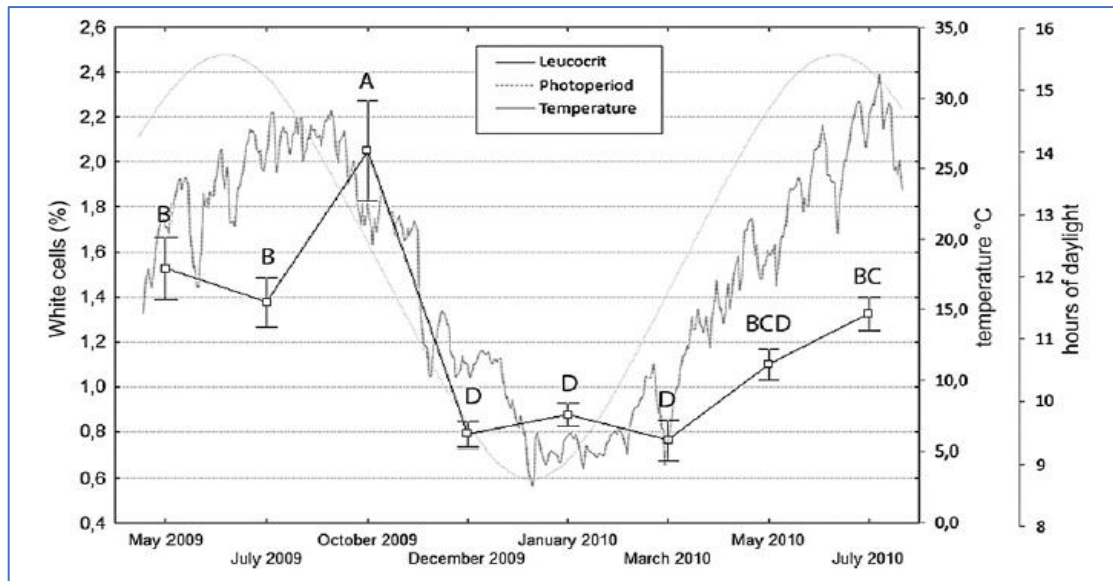
Η επίδραση της εποχικότητας, συγκεκριμένα όσον αφορά τη θερμοκρασία και τη φωτοπερίοδο, σε αιματολογικές παραμέτρους λαβρακίων ιχθυοκαλλιέργειας, μελετήθηκε επίσης και από τους Pascoli et al. (2011) στην Ιταλία. Για τους σκοπούς της μελέτης τους, παρακολούθησαν τις μεταβολές στον αιματοκρίτη και τον αριθμό

λευκών αιμοσφαιρίων καθώς και στα επίπεδα κορτιζόλης σε λαβράκια διατηρούμενα σε δεξαμενές επί 14 μήνες, από αρχικό βάρος 60g έως ότου φθάσουν τα περίπου 400g. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν πως τα επίπεδα του αιματοκρίτη ήταν σημαντικά χαμηλότερα τους χειμερινούς μήνες (Εικ. 2.3), σε συμφωνία με την προαναφερθείσα μελέτη των Zanuy & Carrillo, ενώ ο αριθμός των λευκοκυττάρων επίσης σημείωσε πτώση τους χειμερινούς μήνες, ιδιαίτερα από Δεκέμβριο έως Μάρτιο (Εικ. 2.4) πιθανότατα λόγω μεταβολών στο ανοσοποιητικό σύστημα των ιχθύων που αποφέρει η μειωμένη φωτοπερίοδος.



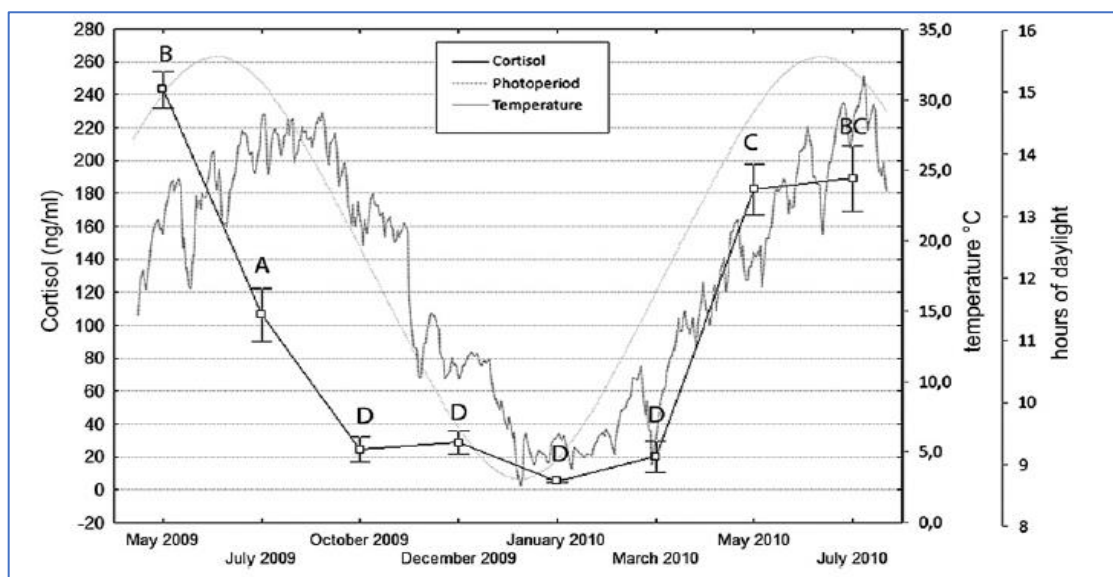
Εικόνα 2.3. Επίδραση της εποχικότητας (θερμοκρασία, φωτοπερίοδος) στα επίπεδα αιματοκρίτη των λαβρακίων (Pascoli et al., 2011)

Η μειωμένη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος κατά τους χειμερινούς μήνες επιβεβαιώθηκε και από μετρήσεις της δραστηρότητας λυσοζύμης – ενός αντιμικροβιακού ενζύμου που διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος – η οποία βρέθηκε ιδιαίτερα μειωμένη στα λαβράκια κατά τους χειμερινούς μήνες (Pascoli et al., 2011)



Εικόνα 2.4. Επίδραση της εποχικότητας (θερμοκρασία, φωτοπερίοδος) στον αριθμό λευκοκυττάρων στα λαβράκια (Pascoli et al., 2011)

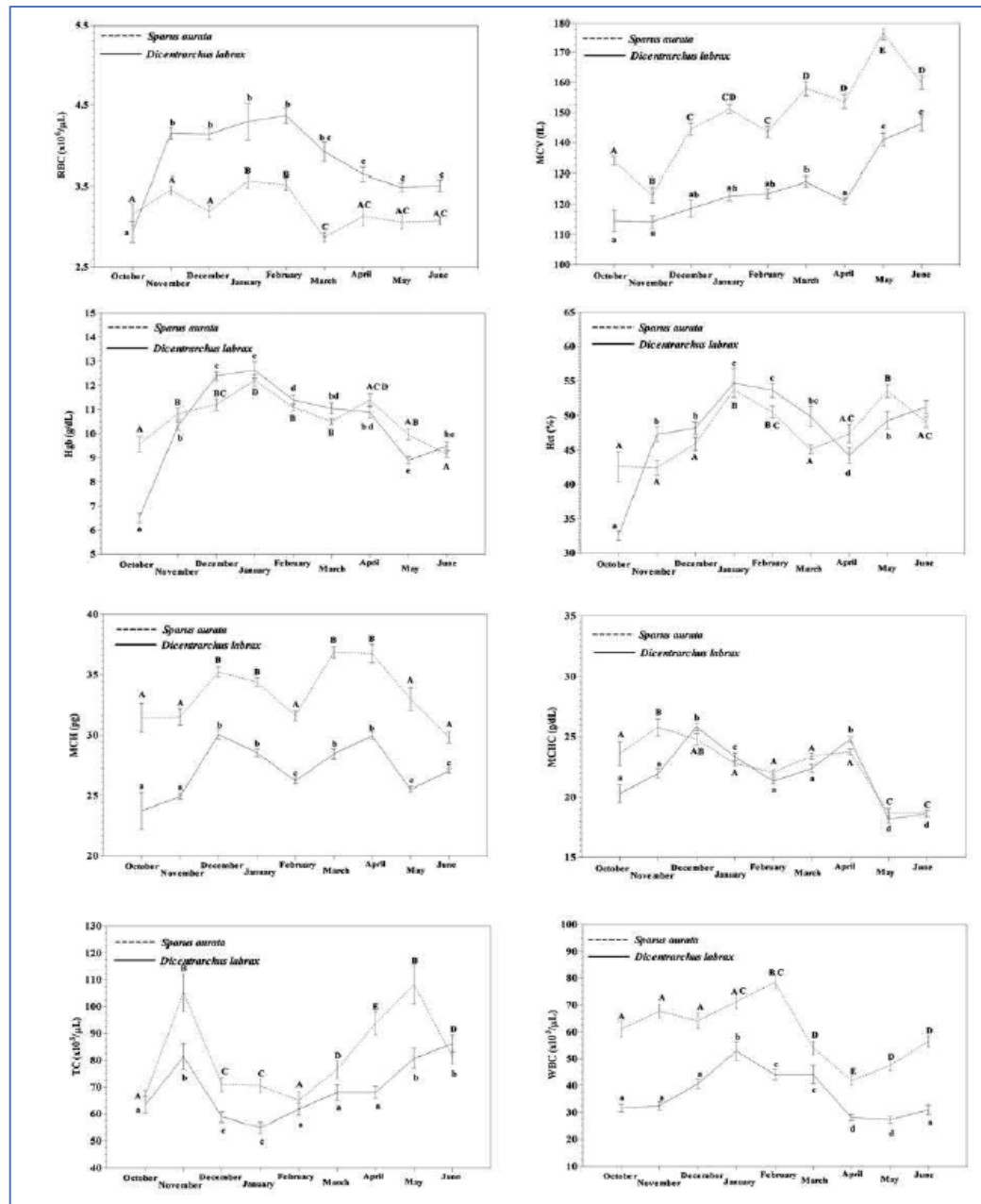
Όσον αφορά στα μετρούμενα επίπεδα κορτιζόλης, βρέθηκαν επίσης μειωμένα κατά τους μήνες Οκτώβριο – Μάρτιο. Χαρακτηριστικό είναι το γεγονός ότι τα υψηλότερα επίπεδα κορτιζόλης στο αίμα των λαβρακίων βρέθηκαν τον πρώτο μήνα της μελέτης, γεγονός που συνάδει με το αυξημένο στρες των ιχθύων την περίοδο εκείνη λόγω της μεταφοράς τους από την ιχθυοκαλλιέργεια στις δεξαμενές για την διεκπεραίωση της μελέτης.



Εικόνα 2.5. Επίδραση της εποχικότητας (θερμοκρασία, φωτοπερίοδος) στα επίπεδα κορτιζόλης στο αίμα των λαβρακίων (Pascoli et al., 2011)

Τα αποτελέσματα της μελέτης των Pascoli et al. συμφωνούν με τα αποτελέσματα μίας αντίστοιχης μελέτης που έχει πραγματοποιηθεί σε τσιπούρες (Tort et al., 1998), στην οποία οι τιμές της δραστηριότητας λυσοζύμης αλλά και τα επίπεδα των λεμφοκυττάρων στο αίμα των τσιπυρών εμφάνιζαν χαρακτηριστική μείωση κατά τους χειμερινούς μήνες.

Η Faggio (2014) μελέτησε τις μηνιαίες μεταβολές στις αιματολογικές παραμέτρους σε τσιπούρες και λαβράκια που καλλιεργούνται σε δεξαμενές εκτός θαλάσσης στην περιοχή της Μεσογείου, από Οκτώβριο έως και Ιούνιο. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν σημαντικές μεταβολές στις παραμέτρους αυτές ανάλογα με την εποχή του χρόνου (Εικ. 2.6), δηλαδή σε σχέση με τη θερμοκρασία περιβάλλοντος. Όπως διακρίνεται στα διαγράμματα αυτά, οι τιμές των ερυθροκυττάρων (RBC) και του αιματοκρίτη (Hct) ήταν υψηλότερες τον Ιανουάριο, ενώ παρουσιάζουν σημαντική πτώση από τον Ιανουάριο μέχρι και το Μάρτιο, όπου οι επικρατούσες θερμοκρασίες περιβάλλοντος ήταν χαμηλές, πιθανότατα λόγω της μειωμένης ανάγκης για μεταφορά οξυγόνου στον οργανισμό των ιχθύων, λόγω της αυξημένης διαλυτότητας του οξυγόνου στο νερό όταν η θερμοκρασία είναι χαμηλή. Όσον αφορά στα λευκά αιμοσφαίρια, οι υψηλότερες τιμές παρουσιάζονται τους χειμερινούς μήνες και στα δύο είδη ψαριών, γεγονός που δείχνει την αυξημένη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος στους ιχθύες τον χειμώνα, όπου οι θερμοκρασίες είναι χαμηλότερες και η φωτοπερίοδος μικρή. Ο αριθμός θρομβοκυττάρων (TC) εμφανίζεται αυξημένος το φθινόπωρο, μειώνεται σημαντικά κατά τη χειμερινή περίοδο και την άνοιξη αυξάνεται ξανά. Οι διακυμάνσεις αυτές στις αιματολογικές παραμέτρους σε τσιπούρες και λαβράκια, καταδεικνύουν τη συσχέτισή τους με τις κλιματολογικές συνθήκες, ειδικότερα τη θερμοκρασία, καθώς και τη φωτοπερίοδο.



Εικόνα 2.6. Μηνιαίες μεταβολές στις αιματολογικές παραμέτρους τσιπούρων και λαβρακίων (Faggio, 2014).

Η επίδραση της ποσότητας του διαλυμένου στο νερό οξυγόνου στη μορφολογία των κυττάρων αίματος σε λαβράκια, μελετήθηκε από τους Berillis et al. (2016) κατά την καλοκαιρινή περίοδο στην Ελλάδα, όπου λόγω του μεσογειακού κλίματος και των αυξημένων θερμοκρασιών το καλοκαίρι, η διαλυτότητα του οξυγόνου στο νερό είναι μειωμένη. Οι συγγραφείς, λοιπόν, μελέτησαν τα αιματολογικά επιχρίσματα δύο ομάδων λαβρακίων: η μία ομάδα διατηρήθηκε σε κλωβούς στη θάλασσα και η άλλη ομάδα διατηρήθηκε σε θαλάσσιους κλωβούς με παροχή επιπλέον αερισμού, η οποία

αύξησε το διαλυμένο οξυγόνο στα ύδατα κατά περίπου 7%. Διενεργήθηκαν δύο δειγματοληψίες, η πρώτη μετά την πάροδο των πρώτων 15 ημερών και η δεύτερη στο τέλος της πειραματικής μελέτης, δηλαδή έπειτα από συνολικά 37 ημέρες. Τα αποτελέσματα της έρευνας για τις διαστάσεις των ερυθρών αιμοσφαιρίων καθώς και της διαφορικής κατάταξης των λευκοκυττάρων των λαβρακίων παρουσιάζονται στους Πίνακες 2.7 και 2.8.

Πίνακας 2.7. Διαστάσεις των ερυθρών αιμοσφαιρίων στα λαβράκια ανάλογα με την ποσότητα διαλυμένου οξυγόνου στο νερό (Berillis et al., 2016)

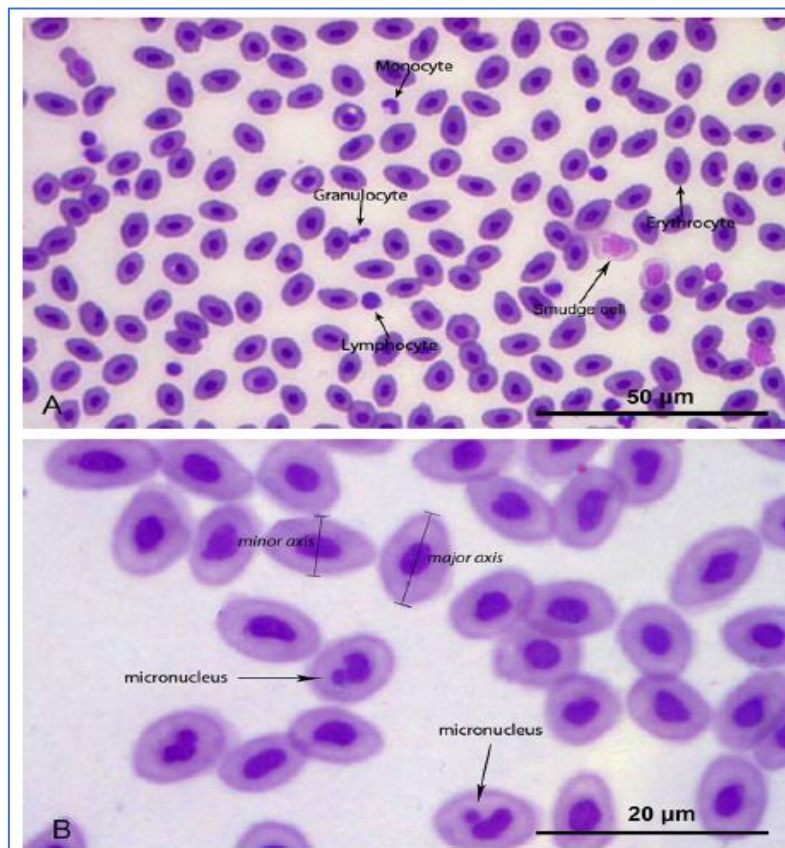
	ΔΙΑΣΤΑΣΕΙΣ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ	1 ^η ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗ ΨΙΑ	2 ^η ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗ ΨΙΑ
ΛΑΒΡΑΚΙΑ ΣΕ ΚΛΩΒΟ CONTROL	ΜΕΓΑΛΟΣ ΑΞΟΝΑΣ (μm)	11.86	10.62
	ΜΙΚΡΟΣ ΑΞΟΝΑΣ (μm)	7.96	7.26
	ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ (μm^2)	74.16	57.21
ΛΑΒΡΑΚΙΑ ΣΕ ΑΕΡΙΖΟΜΕΝΟ ΚΛΩΒΟ	ΜΕΓΑΛΟΣ ΑΞΟΝΑΣ (μm)	10.86	10.2
	ΜΙΚΡΟΣ ΑΞΟΝΑΣ (μm)	7.43	6.93
	ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ (μm^2)	63.42	55.59

Πίνακας 2.8. Διαφορική κατάταξη των λευκών αιμοσφαιρίων στο αίμα των λαβρακίων ανάλογα με την ποσότητα διαλυμένου οξυγόνου στο νερό (Berillis et al., 2016)

	ΕΙΔΟΣ ΛΕΥΚΟΚΥΤΤΑΡΩΝ	1 ^η ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗ ΨΙΑ	2 ^η ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗ ΨΙΑ
ΛΑΒΡΑΚΙΑ ΣΕ ΚΛΩΒΟ CONTROL	ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ	88	92
	ΚΟΚΚΙΟΚΥΤΤΑΡΑ	10.8	8
	ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ	1.2	0
ΛΑΒΡΑΚΙΑ ΣΕ ΑΕΡΙΖΟΜΕΝΟ ΚΛΩΒΟ	ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ	83	90.8
	ΚΟΚΚΙΟΚΥΤΤΑΡΑ	13.4	9.2

	MONOKYTTAPA	1.6	0
--	-------------	-----	---

Επιπρόσθετα, τα επιχρίσματα αίματος που μελετήθηκαν (Εικ. 2.7) εμφάνισαν φυσιολογική μορφολογία σε όλα τα λαβράκια, εκτός μίας περίπτωσης που σε ένα λαβράκι στον αεριζόμενο κλωβό εμφανίστηκαν μικροπυρηνίσκοι στα κύτταρα του αίματός του.

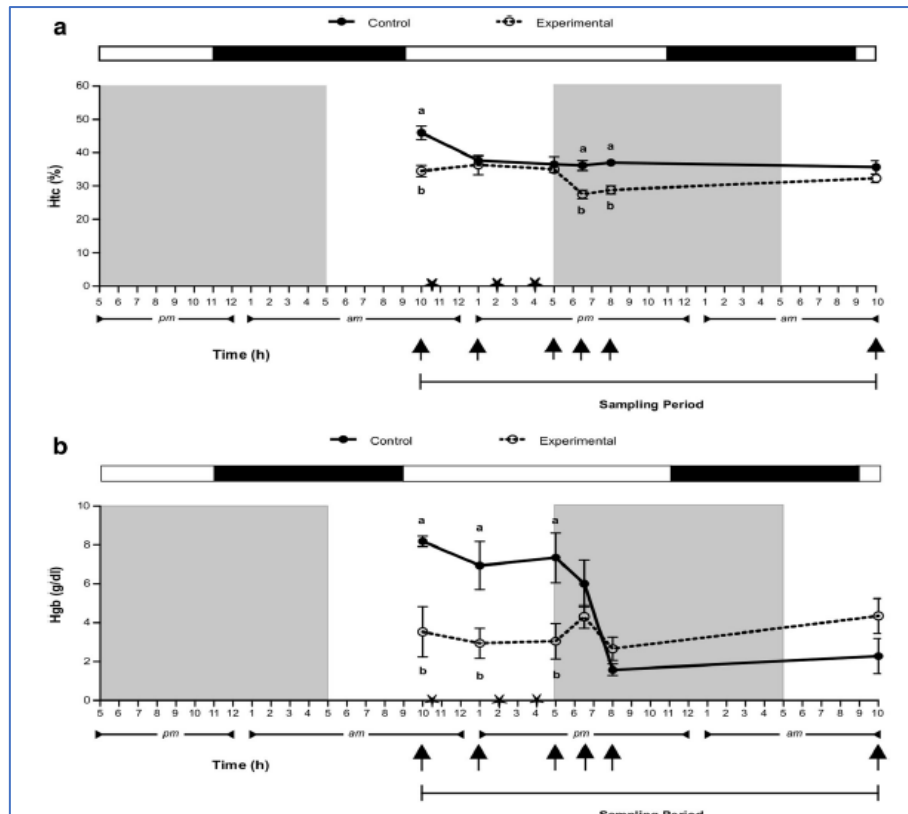


Εικόνα 2.7. Μορφολογία και διαστάσεις των κυττάρων του αίματος Α. στα λαβράκια της ομάδας control Β. Στα λαβράκια στον αεριζόμενο κλωβό (διακρίνεται ο μικροπυρηνίσκος) (Berillis et al., 2016)

Όσον αφορά στις διαστάσεις των ερυθροκυττάρων, τα αποτελέσματα των μετρήσεων των Berillis et al. έρχονται σε συμφωνία με τις δημοσιευμένες φυσιολογικές διαστάσεις των ερυθροκυττάρων των λαβρακίων (Gregory, 2013). Ωστόσο, παρατηρείται μία σαφής μείωση των διαστάσεών τους με την αύξηση του ποσοστού του διαλυμένου οξυγόνου στο νερό, που εξηγείται από το γεγονός ότι τα μικρά ερυθροκύτταρα έχουν την ικανότητα καλύτερης μεταφοράς οξυγόνου προς τα κύτταρα

και τους ιστούς σε έναν οργανισμό, καθώς η αιμοσφαιρίνη αυξάνεται με τη μείωση του όγκου των ερυθρών αιμοσφαιρίων (Lay & Baldwin, 1999). Επίσης, κατά τους Lay & Baldwin (1999), η μείωση των ερυθροκυττάρων λόγω του καλύτερου αερισμού οδηγεί σε υψηλότερο μεταβολικό ρυθμό και βελτιωμένη ερυθροποίηση. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής όσον αφορά τη διαφορική κατάταξη των λευκοκυττάρων, δεν έδειξαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο υπό μελέτη ομάδες λαβρακίων, γεγονός που δείχνει ότι δεν υπήρξαν συνθήκες υποξίας κατά την περίοδο της έρευνας, καθώς σε μία τέτοια περίπτωση ο αριθμός των λευκοκυττάρων θα εμφανιζόταν αλλοιωμένος (Berillis et al., 2016). Η μελέτη αυτή έρχεται σε συμφωνία με τη μελέτη των Araujo et al. (2014), στην οποία μελετήθηκε ο ρυθμός ανάπτυξης των λαβρακίων και των τσιπούρων σε σχέση με τα διαφορετικά ποσοστά διαλυμένου οξυγόνου στο νερό και βρέθηκε πως οι καλύτερες συνθήκες αερισμού οδηγούν σε καλύτερη ανάπτυξη των ιχθύων στις καλλιέργειες. Ωστόσο, στη μελέτη αυτή δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές σε άλλους αιματολογικούς παράγοντες στους ιχθύες, όπως η αιμοσφαιρίνη, η γλυκόζη και η κορτιζόλη, στα τρία επίπεδα διαλυμένου οξυγόνου που μελετήθηκαν (40-60%, 60-80% και 80-100%).

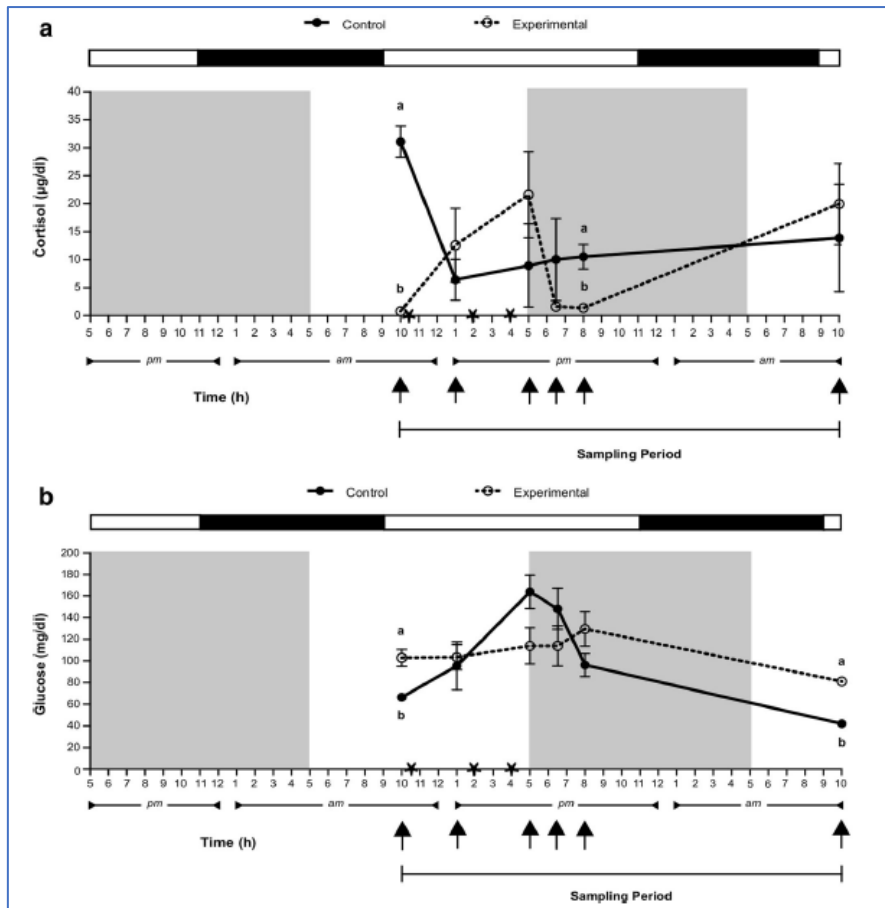
Σε μία άλλη μελέτη (Matias et al., 2017), διερευνήθηκε η επίδραση της αλλαγής θερμοκρασίας για βραχύ χρονικό διάστημα (41 ώρες) σε αιματολογικές (αιματοκρίτης και αιμοσφαιρίνη) και βιοχημικές (γλυκόζη, κορτιζόλη, τριγλυκερίδια και ολικές πρωτεΐνες) παραμέτρους στο αίμα τσιπούρων. Για το σκοπό αυτό μελέτησαν δύο ομάδες τσιπούρων, εκ των οποίων η πρώτη (control) διατηρήθηκε σε σταθερή θερμοκρασία νερού ίση με 22°C, ενώ η δεύτερη ομάδα διατηρήθηκε σε θερμοκρασία 22°C από τις 5 το πρωί έως τις 5 το απόγευμα και για το επόμενο 12ωρο η θερμοκρασία μειώθηκε κατά περίπου 8 °C. Τα αποτελέσματα, όσον αφορά στις αιματολογικές παραμέτρους της αιμοσφαιρίνης και του αιματοκρίτη, έδειξαν μειωμένα επίπεδα των τιμών αυτών στην ομάδα τσιπούρων που υπέστησαν μείωση της θερμοκρασίας του νερού σε σχέση με την ομάδα control (Εικ. 2.8).



Εικόνα 2.8. Μεταβολή των επιπέδων Hct και Hb στις 2 ομάδες τσιπούρων (Matias et al., 2017)

Η μείωση αυτή οφείλεται τόσο στο μειωμένο μεταβολικό ρυθμό των ψαριών σε χαμηλές θερμοκρασίες (Ibarz et al. 2010), όσο και στο γεγονός της αύξησης του διαλυμένου οξυγόνου σε νερό χαμηλότερης θερμοκρασίας, που όπως έχει ήδη αναφερθεί οδηγεί στην απαίτηση μικρότερου αριθμού ερυθροκυττάρων.

Τα αυξημένα επίπεδα γλυκόζης (Εικ. 2.9) που παρατηρήθηκαν στην υπό μελέτη ομάδα τσιπούρων, οφείλονται πιθανότατα στην αύξηση των επιπέδων στρες κατά την μεταβολή της θερμοκρασίας του νερού (Matias et al., 2017). Όσον αφορά στα επίπεδα κορτιζόλης (Εικ. 2.9) εμφάνισαν μεγάλες διακυμάνσεις και στις δύο ομάδες ψαριών. Ωστόσο, οι τιμές της κορτιζόλης εμφανίζονται υψηλότερες κατά τη διάρκεια της ημέρας, στο διάστημα δηλαδή κατά το οποίο οι τσιπούρες λάμβαναν την τροφή τους. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, τα επίπεδα κορτιζόλης στο αίμα των τσιπούρων σχετίζεται με τη λήψη τροφής και όχι με τη θερμοκρασία.



Εικόνα 2.9. Μεταβολή των επιπέδων κορτιζόλης και γλυκόζης στις 2 ομάδες τσιπούρων (Matias et al., 2017)

Η επίδραση της θερμοκρασίας σε αιματολογικές και βιοχημικές παραμέτρους στο αίμα τσιπούρων και λαβρακίων μελετήθηκε και από τους Fazio et al. (2018). Για το σκοπό της μελέτης τους ανέλυσαν το αίμα των ιχθύων το χειμώνα, σε θερμοκρασία περίπου 13°C και το φθινόπωρο σε θερμοκρασία περίπου 23°C και τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 2.9.

Πίνακας 2.9. Αιματολογικές και βιοχημικές παράμετροι στην τσιπούρα και το λαβράκι σε υψηλές και χαμηλές θερμοκρασίες (Fazio et al., 2018)

Parameters	<i>S. aurata</i>			<i>D. labrax</i>		
	Warm	Cold	Percent change	Warm	Cold	Percent change
Glucose (mg/dL)	109.30 ± 12.16*	244.50 ± 12.96	124%	217.60 ± 25.74*	181.90 ± 30.85	-16.40%
Lactate (mmol/L)	9.27 ± 0.92*	3.46 ± 0.57	-62.64%	17.98 ± 2.29*	11.02 ± 1.44	-38.71%
Triglycerides (g/dL)	211.00 ± 35.28*	333.70 ± 32.52	58.15%	318.40 ± 21.56*	565.70 ± 75.13	77.67%
Cholesterol (g/dL)	231.50 ± 24.14*	251.00 ± 15.57	8.42%	222.20 ± 26.66	209.70 ± 22.51	-5.63%
Total Protein (g/dL)	4.33 ± 0.49*	3.42 ± 0.38	-21.1%	3.73 ± 0.29*	4.08 ± 0.79	9.38%
RBC ($\times 10^{12}/L$)	3.48 ± 0.51*	2.90 ± 0.31	-16.65%	3.02 ± 0.66*	4.01 ± 0.60	32.92%
Hgb (g/dL)	9.62 ± 0.74*	10.26 ± 0.67	6.68%	6.67 ± 0.87*	10.60 ± 1.10	58.92%
Hct (%)	42.58 ± 5.12*	46.62 ± 4.27	9.48%	32.00 ± 3.48*	48.38 ± 4.81	51.18%
MCV (fL)	124.50 ± 20.22*	161.90 ± 16.14	30.04%	109.40 ± 18.83*	122.20 ± 14.66	11.70%
MCH (pg)	28.26 ± 4.77*	35.65 ± 3.03	26.15%	23.28 ± 6.60*	26.82 ± 3.62	-15.20%
MCHC (g/dL)	22.91 ± 3.22	22.14 ± 2.02	-3.36%	21.07 ± 3.41	21.96 ± 1.53	4.20%

Όπως παρατηρείται στον ανωτέρω πίνακα, οι σημαντικότερες μεταβολές διαπιστώθηκαν στα επίπεδα της γλυκόζης, των τριγλυκεριδίων, του γαλακτικού οξέος, του αριθμού ερυθροκυττάρων, του αιματοκρίτη και της αιμοσφαιρίνης, καθώς και των δεικτών MCH και MCV των ερυθροκυττάρων, καταδεικνύοντας το γεγονός ότι οι θερμοκρασιακές μεταβολές μπορούν να επιδράσουν στο αιματολογικό και βιοχημικό προφίλ των ιχθύων.

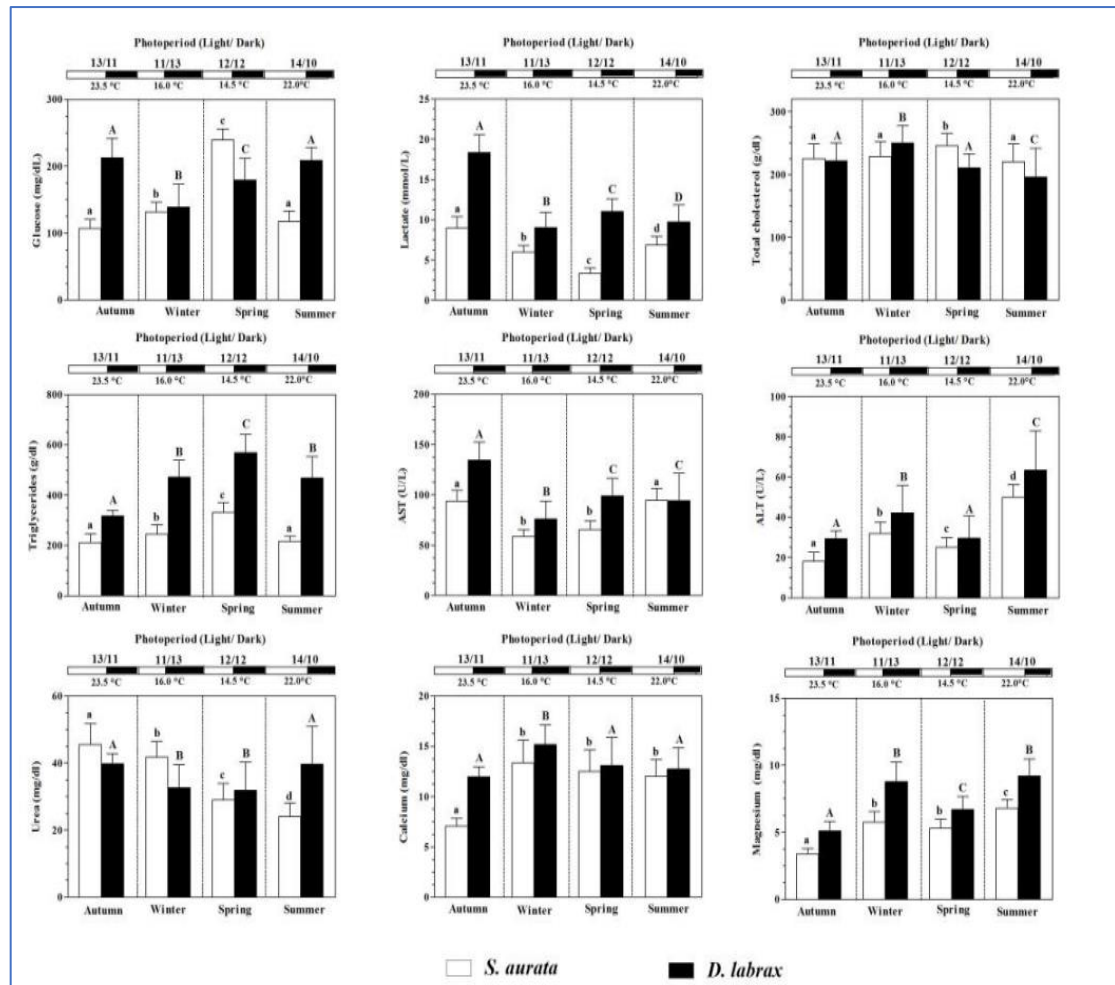
Συγκεκριμένα, όσον αφορά στις τσιπούρες, ο αριθμός ερυθροκυττάρων τους εμφανίζεται αυξημένος στις υψηλότερες θερμοκρασίες, γεγονός που συνάδει με την μειωμένη διαλυτότητα οξυγόνου στις θερμοκρασίες αυτές. Ωστόσο, η αύξηση αυτή του RBC συνοδεύεται από μείωση στα επίπεδα αιμοσφαιρίνης και αιματοκρίτη, καθώς και στους δείκτες MCV και MCH στις υψηλότερες θερμοκρασίες. Στα λαβράκια, αντίθετα, είναι χαρακτηριστική η αύξηση του RBC σε συνδυασμό με την αντίστοιχη αύξηση στις

τιμές των Hb και Ht, γεγονός που, κατά τους συγγραφείς δείχνει πως το αιματολογικό προφίλ στα λαβράκια επηρεάζεται πιθανότατα περισσότερο από τη φωτοπερίοδο και λιγότερο από τις θερμοκρασία του υδάτινου περιβάλλοντος.

Οι βιοχημικές παράμετροι στην τσιπούρα παρουσιάζουν επίσης μεταβολές σε σχέση με τη θερμοκρασία. Συγκεκριμένα, η γλυκόζη σημειώνει μεγάλη αύξηση σε χαμηλές θερμοκρασίες σε συμφωνία με τη μελέτη των Matias et al. (2017), πιθανώς λόγω έντονου στρες στις θερμοκρασίες αυτές, ενώ στα λαβράκια τα επίπεδα της γλυκόζης μειώθηκαν στις αντίστοιχες θερμοκρασίες. Το γαλακτικό οξύ εμφανίζει ιδιαίτερη αύξηση στις υψηλές θερμοκρασίες και στα δύο είδη ιχθύων γεγονός που οφείλεται στην ενεργοποίηση του αναερόβιου μεταβολισμού τους λόγω μειωμένης διαλυτότητας του οξυγόνου στο νερό στις θερμοκρασίες αυτές (Omlin & Weber, 2010). Επίσης, τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων εμφανίζονται αυξημένα κατά τους χειμερινούς μήνες και στα δύο είδη ιχθύων, γεγονός που οφείλεται στον πιο αργό ρυθμό μεταβολισμού κατά τους μήνες αυτούς (Fazio et al., 2018).

Στη μελέτη των Fazio et al. (2020), ερευνήθηκε η επίπτωση των περιβαλλοντικών μεταβολών λόγω εποχικότητας, σε βιοχημικές παραμέτρους στο αίμα τσιπουρών και λαβρακίων ιχθυοκαλλιέργειας στην Ιταλία και τα αποτελέσματα έδειξαν πως υπάρχουν σημαντικές μεταβολές στις τιμές των βιοχημικών δεικτών που εξαρτώνται από την εποχή του χρόνου, δηλαδή από τη θερμοκρασία περιβάλλοντος και τα επίπεδα ηλιοφάνειας.

Συγκεκριμένα, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 2.10, τα επίπεδα γλυκόζης στην τσιπούρα εμφανίζονται ιδιαίτερα αυξημένα κατά τη διάρκεια της άνοιξης, σε σχέση με τους καλοκαιρινούς και φθινοπωρινούς μήνες. Αντίθετα, στο λαβράκι τα επίπεδα γλυκόζης εμφανίζονται αυξημένα τους καλοκαιρινούς και φθινοπωρινούς μήνες. Τα επίπεδα χοληστερόλης εμφανίζουν μία πτώση τους καλοκαιρινούς μήνες και στα δύο εκτρεφόμενα είδη, ενώ τα τριγλυκερίδια εμφανίζονται μειωμένα κατά τη διάρκεια του φθινοπώρου. Όσον αφορά σε άλλες βιοχημικές παραμέτρους όπως είναι η ουρία, το γαλακτικό οξύ και η οξαλοξική τρανσαμινάση (AST), παρουσιάζεται αύξηση των επιπέδων τους το φθινόπωρο και στα δύο είδη, ενώ τα επίπεδα του μαγνησίου, το ασβεστίου και της πυροσταφυλικής τρανσαμινάσης (ALT) εμφανίζονται μειωμένα κατά τους φθινοπωρινούς μήνες.



Εικόνα 2.10. Μεταβολές σε βιοχημικές παραμέτρους στο αίμα τσιπουρών και λαβρακίων ανάλογα με την εποχή του έτους (Fazio et al., 2020)

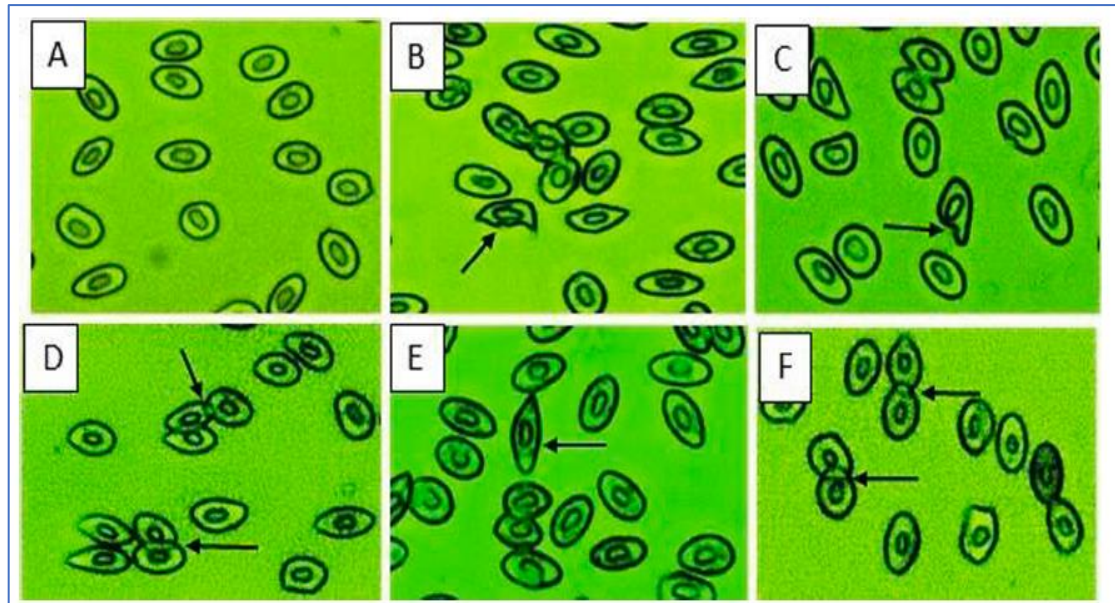
Ο Lotfy (2021) πραγματοποίησε μία μελέτη σχετικά με την επίδραση του νερού από διαφορετικές πηγές καθώς και της αλατότητάς του στις μεταβολές αιματολογικών και βιοχημικών παραμέτρων της τσιπούρας. Μελετήθηκαν, λοιπόν, τρεις διαφορετικές πηγές νερού: θαλασσινό νερό με αλατότητα 36-37ppt, νερό από υπόγεια ύδατα με αλατότητα 36-38ppt και νερό από λίμνη με αλατότητα 10-18ppt. Όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα που απεικονίζονται στον Πίνακα 2.10, τα επίπεδα των ερυθροκυττάρων, αιμοσφαιρίνης, αιματοκρίτη, λευκοκυττάρων καθώς και λιπιδίων και ολικών πρωτεϊνών αυξάνονται στις περιπτώσεις διαμονής των τσιπυρών σε μη θαλασσινό νερό, ενώ τα επίπεδα γλυκόζης μειώνονται σημαντικά, γεγονός το οποίο κατά τους συγγραφείς είναι δυσμενές για την ευζωία των ιχθύων. Παράλληλα, οι τιμές RBC και WBC για τις τσιπούρες που διατηρήθηκαν σε δεξαμενές θαλασσινού νερού είναι παρόμοιες με τις τιμές αναφοράς άλλων μελετών που προαναφέρθηκαν (Fazio et

al, 2013, Fazio et al, 2015), ενώ τα επίπεδα γλυκόζης για την ομάδα ιχθύων είναι παρόμοια με τις τιμές αναφοράς που προκύπτουν από άλλες μελέτες (Roncarati et al., 2006). Με βάση τα ανωτέρω, συμπεραίνεται πως η καλλιέργεια τσιπούρας σε θαλασσινό νερό υπερέχει των καλλιεργειών σε ύδατα από άλλες πηγές.

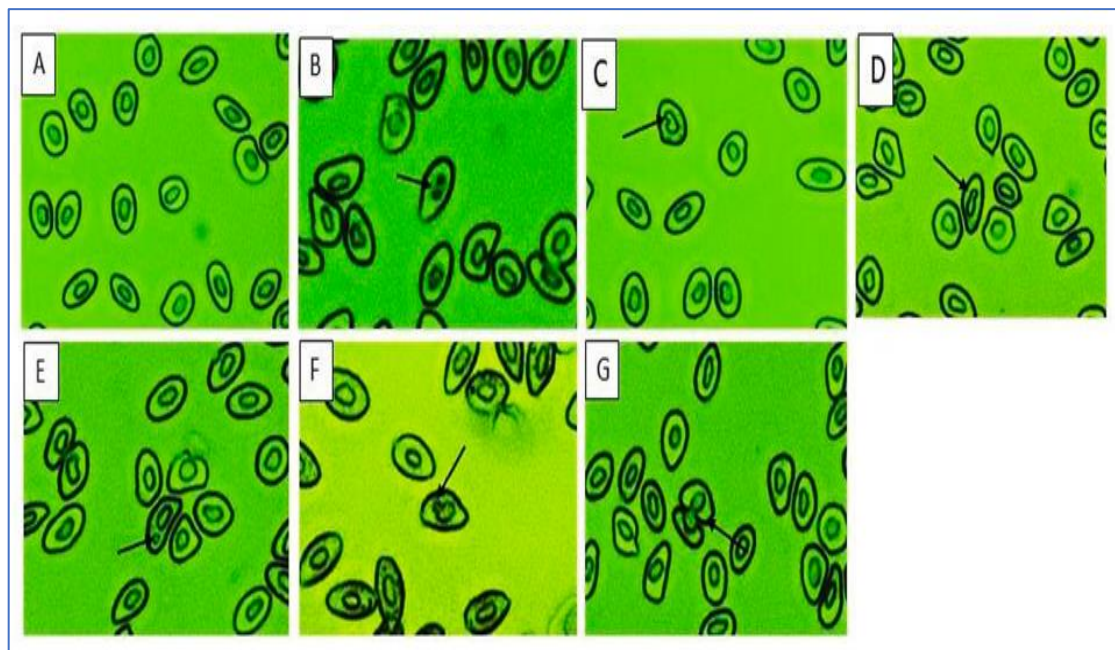
Πίνακας 2.10. Παράμετροι στο αίμα τσιπούρων ανάλογα με το νερό της καλλιέργειας εκτροφής (T1: θαλασσινό νερό, T2: νερό από υπόγεια ύδατα, T3: νερό από λίμνη) (Lotfy, 2021)

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ		
	<i>T1</i>	<i>T2</i>	<i>T3</i>
RBC (10^6 / μ L)	2.46	3.6	4.7
WBC (10^3 / μ L)	47.49	55.38	61.46
Hct %	22	23	25
Hb (g/dL)	5.2	6.9	7.3
Ολικές πρωτεΐνες (mg/dL)	3.22	4.04	5.16
Χοληστερόλη (mg/dL)	246	250	255
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	275	293	286
Γλυκόζη (mg/dL)	77	39	45

Τέλος, οι Jakiul Islam et al. (2021) σε μελέτη τους σε λαβράκια, διερεύννησαν τις αιματολογικές διαταραχές που μπορεί να επέλθουν μετά από έκθεση σε νερό πολύ χαμηλής θερμοκρασίας και διαφορετικών επιπέδων αλατότητας. Οι δοκιμές πραγματοποιήθηκαν σε 4 επίπεδα αλατότητας (30, 12, 6 και 3 PSU) διατηρώντας αρχικά τη θερμοκρασία του νερού στους 22°C, ενώ στη συνέχεια η θερμοκρασία του νερού μειώθηκε ραγδαία στους 8°C, όπου διατηρήθηκε επί 20 ημέρες, ενώ οι δειγματοληψίες έλαβαν χώρα τις μέρες 1, 10 και 20 (ημέρα 1 θεωρείται η πρώτη ημέρα επιβολής ψύχους). Οι παρατηρήσεις στο επίχρισμα του περιφερειακού αίματος με χρώση Giemsa, έδειξαν πως υπήρξαν ανωμαλίες στο σχήμα των ερυθροκυττάρων, τόσο όσον αφορά σε ολόκληρο το κύτταρο (Εικ. 2.11) όσο και στον πυρήνα του κυττάρου (Εικ. 2.12) κατά τη διάρκεια της έκθεσης των ιχθύων σε ψύχος.

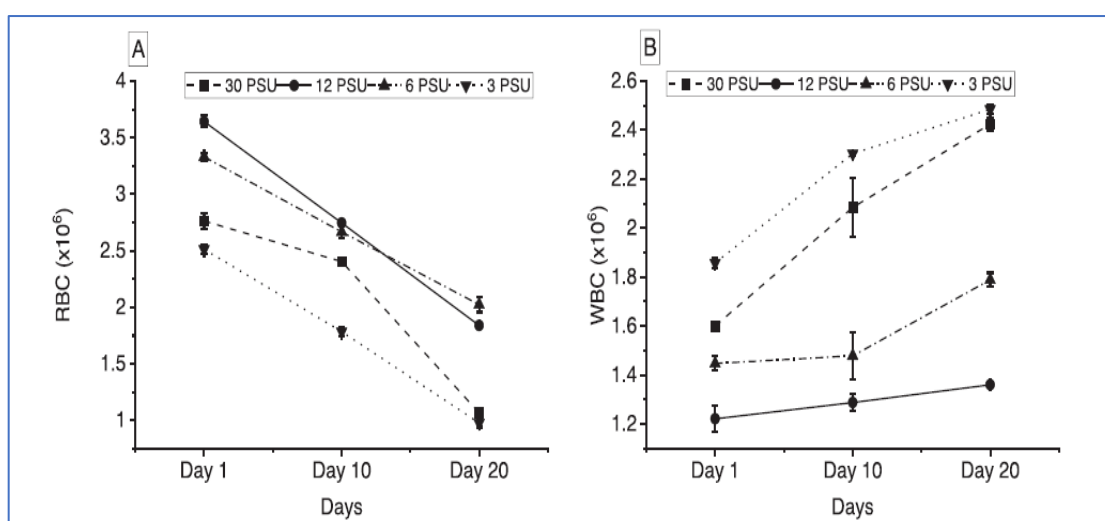


Εικόνα 2.11. Ανωμαλίες στη μορφολογία των ερυθροκυττάρων σε λαβράκια που εκτέθηκαν σε ψύχος (8°C). Α. Φυσιολογικό ερυθροκύτταρο Β. Εχινοκύτταρα Γ. Δακρυοκύτταρα Δ. Συντηγμένα ερυθροκύτταρα Ε. Επιμήκη ερυθροκύτταρα ΣΤ. Δίδυμα ερυθροκύτταρα (Jakiul Islam et al., 2021)



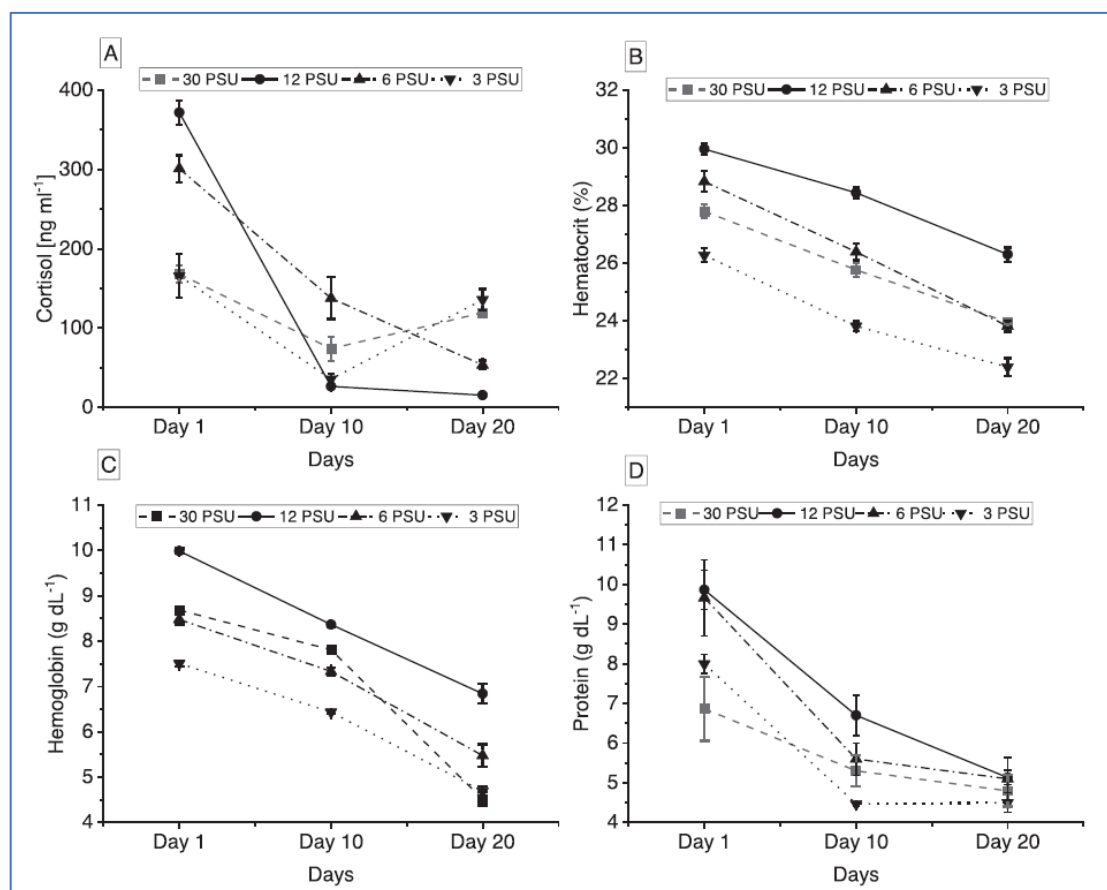
Εικόνα 2.12. Ανωμαλίες στον πυρήνα των ερυθροκυττάρων σε λαβράκια που εκτέθηκαν σε ψύχος (8°C). Α. Φυσιολογικό ερυθροκύτταρο Β. Διπύρηνα κύτταρα Γ. Πυρήνες Notch Δ. Μικροπυρηνίσκοι Ε. Αποπτωτικά κύτταρα ΣΤ. Πυρηνικά εκβλαστήματα Ζ. Πυρηνοπλασμική γέφυρα (Jakiul Islam et al., 2021)

Οι ανωμαλίες που εμφανίζονται στις παραπάνω εικόνες παρατηρήθηκαν σε μεγαλύτερο βαθμό στις ακραίες συνθήκες αλατότητας (3 και 30PSU) και ήταν εντονότερες κατά την εικοστή μέρα ης έκθεσης των λαβρακίων στο ψύχος. Όσον αφορά στον αριθμό των αιμοκυττάρων, τα ερυθροκύτταρα εμφανίζουν μειωμένο αριθμό στις συνθήκες ψύχους και το φαινόμενο αυτό εντείνεται στις ακραίες συνθήκες αλατότητας. Από την άλλη, ο αριθμός των λευκοκυττάρων στα λαβράκια εμφανίζει ανοδική τάση με την πάροδο των ημερών στις συνθήκες ψύχους και ιδιαίτερα στις συνθήκες ακραίων επιπέδων αλατότητας του νερού (Εικ. 2.13).



Εικόνα 2.13. Μεταβολές στον αριθμό ερυθροκυττάρων και λευκοκυττάρων στα λαβράκια σε συνθήκες ψύχους σε 4 διαφορετικά επίπεδα αλατότητας του νερού (Jakiul Islam et al., 2021)

Τα επίπεδα κορτιζόλης εμφανίζονται υψηλότερα στα ενδιάμεσα επίπεδα αλατότητας κατά την πρώτη μέρα επιβολής ψύχους, ωστόσο μετά από την πάροδο των 20 ημερών εμφανίζονται υψηλότερα στις συνθήκες ακραίας αλατότητας. Συνολικά όμως, διακρίνεται μία πτωτική τάση των επιπέδων κορτιζόλης στις συνθήκες ψύχους. Η ίδια πτωτική τάση εμφανίζεται και στα επίπεδα ολικών πρωτεϊνών, όπως και στα επίπεδα αιματοκρίτη και αιμοσφαιρίνης. Το φαινόμενο αυτό είναι εντονότερο στις συνθήκες ακραίας αλατότητας, ενώ στην περίπτωση των επιπέδων των ολικών πρωτεϊνών, αυτά εμφανίζονται σε πολύ χαμηλά παρόμοια επίπεδα για όλες τις τιμές αλατότητας κατά την 20 ημέρα από την επιβολή του ψύχους (Εικ. 2.14).



Εικόνα 2.14. Μεταβολές στα επίπεδα κορτιζόλης, αιμοσφαιρίνης, αιματοκρίτη και ολικών πρωτεϊνών στο αίμα των λαβρακίων σε συνθήκες ψύχους σε 4 διαφορετικά επίπεδα αλατότητας του νερού (Jakiul Islam et al., 2021)

2.3 Μελέτες που αφορούν στην επίδραση του στρες στις αιματολογικές αναλύσεις τσιπούρας – λαβρακίου

Οι διάφορες πρακτικές που εφαρμόζονται στις εντατικές ιχθυοκαλλιέργειες, που περιλαμβάνουν τον χειρισμό των ψαριών, τις μετακινήσεις τους, αλλά και άλλες διαδικασίες όπως είναι ο εμβολιασμός έναντι ασθενειών, μπορεί να οδηγήσει σε μεταβολές στους αιματολογικούς, βιοχημικούς και ορμονολογικούς δείκτες των εκτρεφόμενων ιχθύων. Οι μεταβολές αυτές αντικατοπτρίζουν την αλλοίωση της ευημερίας των ιχθύων αυτών, η οποία είναι απαραίτητη για τη σωστή λειτουργία και παραγωγικότητα μίας ιχθυοκαλλιεργητικής μονάδας.

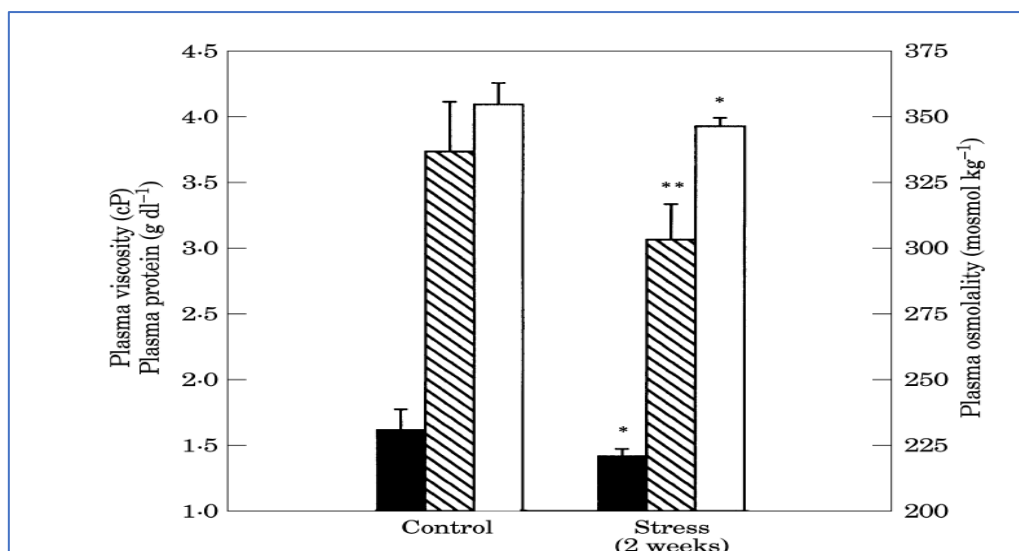
Η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας δείχνει μία σαφή σύνδεση μεταξύ του στρες στους ιχθύες που εκτρέφονται σε εντατικές υδατοκαλλιέργειες και στις μεταβολές των αιματολογικών παραμέτρων τους. Οι Pagees et al. (1995), μελέτησαν την επίδραση του

στρες σε αιματολογικούς δείκτες της τσιπούρας και η πειραματική διαδικασία περιλάμβανε το διαχωρισμό των υπό μελέτη ιχθύων σε δύο ομάδες και τη διατήρηση τους σε δεξαμενές για ένα μήνα. Η πρώτη ομάδα υποβλήθηκε καθημερινά σε στρεσογόνους παράγοντες, όπως είναι για παράδειγμα το κυνήγι με δίχτυ επί 8 λεπτά, ώστε να προσομοιωθούν οι πρακτικές και οι συνθήκες που επικρατούν στις ιχθυοκαλλιέργειες ενώ η άλλη ομάδα δεν υποβλήθηκε σε κάποια διαδικασία. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν πως οι ιχθύες που υποβλήθηκαν σε συνθήκες στρες εμφάνισαν μείωση του αριθμού των ερυθροκυττάρων του αίματος σε σημαντικό βαθμό και κατά συνέπεια ελαττωμένο ιξώδες αίματος, καθώς επίσης και μείωση της αιμοσφαιρίνης και του αιματοκρίτη, που οδηγεί σε μειωμένη μεταφορά οξυγόνου στους ιστούς. Παρ' όλα αυτά δεν παρατηρήθηκε αλλαγή στη μορφολογία και το μέγεθος των ερυθροκυττάρων.

Πίνακας 2.11. Μεταβολές σε αιματολογικούς δείκτες στην τσιπούρα έπειτα από υποβολή σε στρες επί 2 εβδομάδες (Pagees et al., 1995)

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ	CONTROL	STRESS
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ Hgb (g/dl)	7.49	5.98
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ (HCT) %	32.1	5.98
ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ (RBC) (10 ⁶ /ml)	2.806	2.173
ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ (mg/ml)	6.2	47.6

Όσον αφορά σε βιοχημικές και ορμονολογικές μεταβολές, οι συγγραφείς αναφέρουν αύξηση των επιπέδων της κορτιζόλης στο αίμα των τσιπούρων που υπεβλήθησαν σε στρεσογόνους παράγοντες καθώς επίσης μείωση των επιπέδων ολικών πρωτεϊνών, πιθανότατα λόγω της αυξημένης ανάγκης των ιχθύων για παροχή ενέργειας μέσω του καταβολισμού των πρωτεϊνών (Εικ. 2.15).

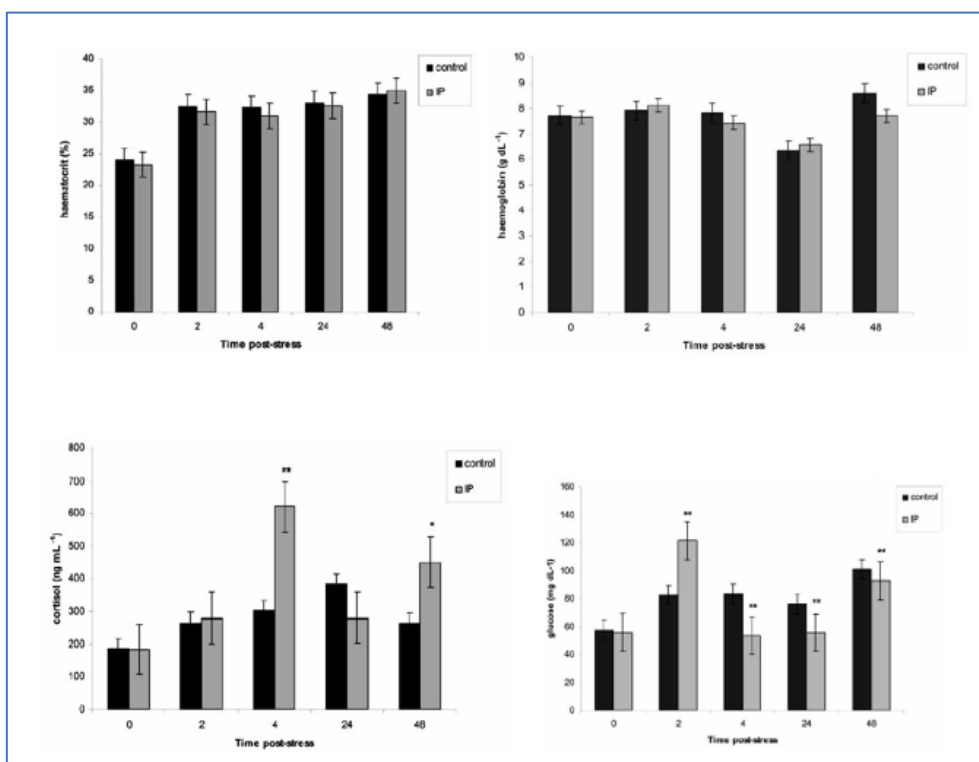


Εικόνα 2.15. Ολικές πρωτεΐνες (λευκή μπάρα), ιξώδες πλάσματος (μαύρη μπάρα) και ωσμωτικότητα πλάσματος (διαγράμμιση) στην ομάδα control και στην ομάδα των τσιπούρων που υπεβλήθησαν σε συνθήκες στρες (Pagees et al., 1995)

Η επίδραση του οξέος στρες στην αιματολογία και τους βιοχημικούς και ορμονολογικούς παράγοντες στο αίμα των λαβρακίων, μελετήθηκε από τους Maricchiolo et al. (2008). Στην έρευνά τους, προκλήθηκε στρες σε 40 λαβράκια μέσω ενδοπεριτοναϊκής ένεσης, παρόμοια με τις ενέσεις που πραγματοποιούνται στα ψάρια των εντατικών ιχθυοκαλλιεργειών κατά τον εμβολιασμό τους έναντι παθογόνων μικροοργανισμών και ιώσεων. Στη συνέχεια μετρήθηκαν τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης, του αιματοκρίτη, της γλυκόζης και της κορτιζόλης στα λαβράκια αυτά και συγκρίθηκαν με τις αντίστοιχες τιμές των ιχθύων που δεν έλαβαν ενέσεις (control).

Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν πως δεν υπήρξαν ιδιαίτερες μεταβολές στους αιματολογικούς δείκτες (αιματοκρίτης, αιμοσφαιρίνη), ενώ αντίθετα σημειώθηκαν σημαντικές μεταβολές στα επίπεδα της κορτιζόλης και της γλυκόζης στο αίμα των στρεσαρισμένων λαβρακίων, σε μετρήσεις που έλαβαν χώρα 2 και 4 ώρες έπειτα από την ενδοπεριτοναϊκή ένεση. Συγκεκριμένα, δύο ώρες μετά την επίδραση του στρεσογόνου παράγοντα, τα επίπεδα κορτιζόλης σημείωσαν σημαντική αύξηση και 4 ώρες αργότερα έφθασαν στα μέγιστα επίπεδα της τάξης των 620.45ng/ml, ενώ οι τιμές στην ομάδα control κυμαίνονταν από 184.13- 381.82ng/ml. Έπειτα από την πάροδο 48 ωρών, τα επίπεδα κορτιζόλης σημείωσαν πτώση, παραμένοντας όμως υψηλότερα από τα αντίστοιχα επίπεδα της ομάδας control. Όσον αφορά στη γλυκόζη,

τα επίπεδά της στο αίμα των στρεσαρισμένων λαβρακίων σημείωσε σημαντική αύξηση 2 ώρες έπειτα την επιβολή του στρεσογόνου παράγοντα, αγγίζοντας τα 121.4mg/dl, ενώ οι αντίστοιχες τιμές στην ομάδα control κυμαίνονταν σε 52.39 - 101.06mg/dl. Όμως, στις 4 ώρες έπειτα από την επιβολή του στρεσογόνου, τα επίπεδα γλυκόζης σημείωσαν ραγδαία πτώση φθάνοντας τιμές περίπου 60mg/dl, ενώ παρέμειναν σε χαμηλότερα επίπεδα συγκρινόμενα με την ομάδα control και μετά το πέρας το 48 ωρών.



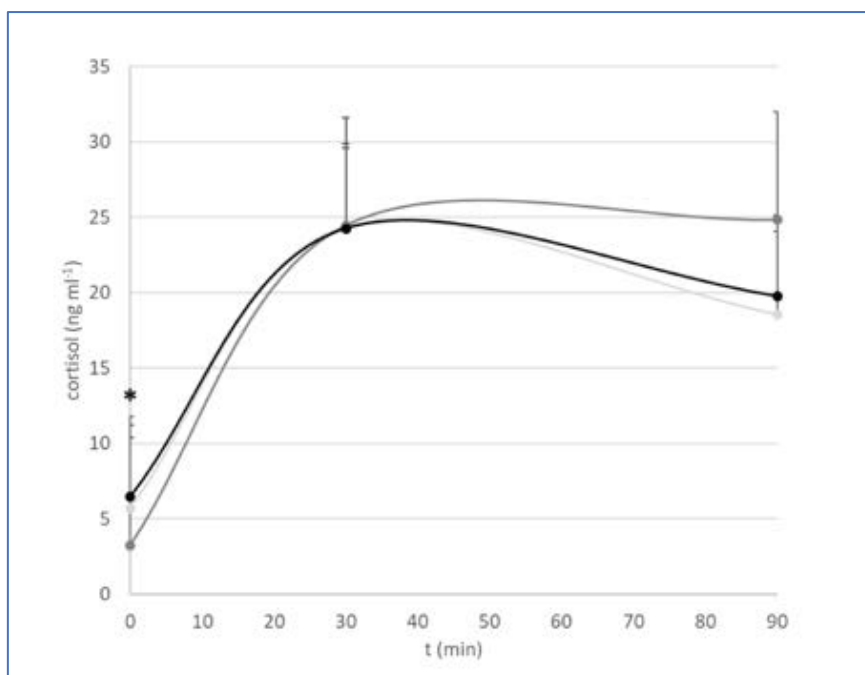
Εικόνα 2.16. Επίπεδα αιματοκρίτη (πάνω αριστερά), αιμοσφαιρίνης (πάνω δεξιά), κορτιζόλης (κάτω δεξιά) και γλυκόζης (κάτω δεξιά) στα λαβράκια που υπεβλήθησαν σε οξύ στρες (γκρι μπάρα) και στην ομάδα control (μαύρη μπάρα) ((Maricchiolo et al., 2008))

Σε μία άλλη έρευνα, μελετήθηκε η επίδραση της κίνησης του νερού σε αιματολογικούς δείκτες και στα επίπεδα κορτιζόλης σε τσιπούρες, με στόχο να βρεθούν οι ιδανικές συνθήκες ταχύτητας της ροής του νερού για την ευημερία και την μείωση του στρες σε εντατικά εκτρεφόμενους ιχθύες (Palstra et al., 2020). Για το σκοπό αυτό, οι συγγραφείς χρησιμοποίησαν 3 διαφορετικές ταχύτητες ροής του νερού, την ελάχιστη δυνατή ταχύτητα, ταχύτητα ίση με 1BL/s (όπου BL το μήκος του σώματος των τσιπυρών) και ταχύτητα ίση με 2BL/s. Στη συνέχεια, οι ερευνητές μελέτησαν τα επίπεδα κορτιζόλης στα ψάρια για τις 3 κατηγορίες ταχύτητας ροής νερού (Εικ. 2.13),

ενώ ταυτόχρονα εξέθεσαν τις τσιπούρες σε στρεσογόνο παράγοντα, όπως είναι το κυνήγι με δίχτυ. Επίσης, μετρήθηκαν αιματολογικές παράμετροι στις τσιπούρες για τις τρεις κατηγορίες ταχύτητες νερού και συγκεκριμένα ο αιματοκρίτης, η γλυκόζη, το γαλακτικό οξύ και η χοληστερίνη (Πίν 2.12). Το συμπέρασμα των συγγραφέων από τα συνολικά αποτελέσματα της μελέτης είναι πως μία ταχύτητα ροής νερού της τάξης του 1BL/s, είναι η ιδανικότερη τόσο για την ευημερία και σωστή ανάπτυξη των ιχθύων όσο και για τη μείωση του στρες που υφίστανται στις ιχθυοκαλλιέργειες.

Πίνακας 2.12. Αιματολογικές παράμετροι σε τσιπούρες, έπειτα από διατήρησή τους επί 8 μήνες σε συνθήκες ελάχιστης ροής του νερού, σε ταχύτητα 1BL και σε ταχύτητα νερού 2BL (Palstra et al., 2020)

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ	ΕΛΑΧΙΣΤΗ ΡΟΗ	1BL/s	2BL/s
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ (HCT) %	38.5	40.1	36.7
ΓΛΥΚΟΖΗ (mmol/l)	3.9	5.0	3.9
ΓΑΛΑΚΤΙΚΟ ΟΞΥ (mmol/l)	4.0	4.8	3.4
ΟΛΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ (mmol/l)	3.2	2.9	2.6
ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ (mmol/l)	7.2	7.1	7.1



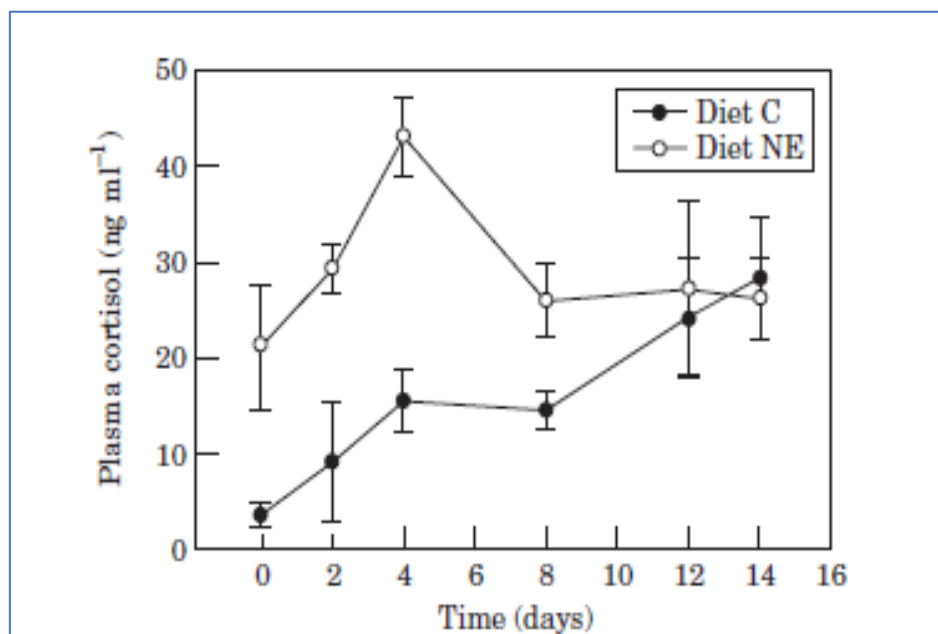
Εικόνα 2.17. Επίπεδα κορτιζόλης στο αίμα τσιπούρων μετά από δοκιμασία στρες σε διαφορετικές ομάδες ψαριών (σκούρο γκρι: 1BL/s, ανοιχτό γκρι: ελάχιστη ροή, μαύρο: 2BL/s) (Palstra et al., 2020)

2.4 Μελέτες που αφορούν στην επίδραση της διατροφής στις αιματολογικές αναλύσεις τσιπούρας – λαβρακίου

Η σχέση μεταξύ διατροφής - είτε εάν αυτή αφορά σε πλήρη νηστεία είτε σε πρόσθετους διατροφικούς και βιταμινούχους παράγοντες- και αιματολογικών παραμέτρων σε εντατικά εκτρεφόμενους ιχθύες έχει επίσης μελετηθεί από ερευνητές, καθώς είναι πολύ σημαντικό να βρεθεί η κατάλληλη διατροφική αγωγή για την ευημερία των ψαριών και τη μείωση των επιπέδων του στρες που υφίσταται ο οργανισμός τους εξαιτίας των συνθηκών που επικρατούν στις καλλιέργειες αυτές.

Οι Montero et al. (2001) μελέτησαν την επίδραση που έχει η προσθήκη βιταμίνης E στη διατροφή 840 εντατικά εκτρεφόμενων τσιπυρών στην Ισπανία σε συνδυασμό με την πυκνότητα της ιχθυοκαλλιέργειας (χαμηλή και υψηλή πυκνότητα) στους αιματολογικούς δείκτες των ιχθύων και στα επίπεδα κορτιζόλης στο αίμα τους. Βρέθηκε από τους συγγραφείς πως η πρόσληψη βιταμίνης E είναι πιθανόν να οδηγεί σε μείωση των επιπέδων κορτιζόλης στο αίμα των τσιπούρων (Εικ. 2.18), γεγονός πολύ σημαντικό ειδικά στις ιχθυοκαλλιέργειες με υψηλή πυκνότητα. Παρ' όλα αυτά

απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για να αποδειχθεί η συμβολή της βιταμίνης E στην καλύτερη διαχείριση των στρεσογόνων παραγόντων από τους ιχθύες.



Εικόνα 2.18. Επίπεδα κορτιζόλης στο αίμα των τσιπούρων ανάλογα με την προσθήκη (DIET C) ή μη (DIET NE) βιταμίνης E στη διατροφή τους

Όσον αφορά στις αιματολογικές παραμέτρους, η συγκεκριμένη έρευνα έδειξε πως οι τσιπούρες που λάμβαναν διατροφή πτωχή σε βιταμίνη E, ειδικά στην περίπτωση ιχθυοκαλλιέργειών με υψηλή πυκνότητα, είχαν σημαντικά υψηλότερο αριθμό ερυθροκυττάρων και ταυτόχρονα ιδιαίτερα μειωμένο όγκο ερυθρών αιμοσφαιρίων, πιθανότατα λόγω της αυξημένης ανάγκης για παροχή οξυγόνου στις συνθήκες αυτές.

Επίσης, όπως φαίνεται και στον παρακάτω Πίνακα (2.13), οι αιματολογικές παράμετροι του αιματοκρίτη, της αιμοσφαιρίνης και του αριθμού των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι ανεβασμένες στις τσιπούρες που καλλιεργήθηκαν σε υψηλής πυκνότητας καλλιέργεια σε σχέση με αυτές στις χαμηλής πυκνότητας ιχθυοκαλλιέργειες, ανεξάρτητα από την προσθήκη της βιταμίνης E στη διατροφή τους.

Πίνακας 2.13. Αιματολογικές παράμετροι σε τσιπούρες έπειτα από συγκεκριμένη διατροφή επί 15 εβδομάδες (διατροφή C: περιέχει βιταμίνη E, διατροφή NE: δεν περιέχει βιταμίνη E, LD: χαμηλή πυκνότητα ιχθυοκαλλιέργειας, HD: υψηλή πυκνότητα ιχθυοκαλλιέργειας) (Montero et al., 2001)

	Αιματοκρίτης (Ht%)	Αιμοσφαιρίνη Hb (g/dl)	Αριθμός ερυθροκυττάρων RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Μέση συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης MCHC (g/dl)	Μέση περιεκτικότητα αιμοσφαιρίνης MCH (pg)	Μέσος όγκος ερυθρών MCV (nm^3)
C+LD	37.21	9.32	2.82	24.75	33.10	135.05
C+HD	43.87	10.76	3.36	24.73	32.54	134.65
NE+LD	36.20	8.51	2.72	23.64	32.36	142.37
NE+HD	42.73	12.54	4.35	29.44	29.17	100.97

Οι Caruso et al (2011) μελέτησαν την επίδραση επάνω στους αιματολογικούς και βιοχημικούς παράγοντες της σύντομης νηστείας σε λαβράκια. Η νηστεία διήρκησε 31 ημέρες και τα αποτελέσματα δεν κατέδειξαν ιδιαίτερα σημαντικές μεταβολές στους αιματολογικούς δείκτες. Συγκεκριμένα, ο αιματοκρίτης στα λαβράκια υπό νηστεία κυμάνθηκε σε τιμές από 32-40%, ενώ στα λαβράκια που λάμβαναν διατροφή οι αντίστοιχες τιμές βρέθηκαν από 31- 41%. Τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα των λαβρακίων υπό νηστεία κυμάνθηκαν από 113-127mg/dl, ενώ στα λαβράκια που λάμβαναν τροφή από 115-167mg/dl. Οι ερευνητές πραγματοποίησαν επίσης μετρήσεις στα επίπεδα κορτιζόλης, όπου οι τιμές που βρέθηκαν κυμαίνονταν από 116-139ng/ml στα λαβράκια που λάμβαναν τροφή και 110-189ng/ml στα λαβράκια υπό νηστεία, καταδεικνύοντας μία πιθανή μικρή αύξηση στα επίπεδα κορτιζόλης λόγω της νηστείας, όχι όμως ιδιαίτερης κλινικής σημασίας. Οι συγγραφείς καταλήγουν πως απαιτούνται περαιτέρω έρευνες για τη μελέτη της επίδρασης της νηστείας στους αιματολογικούς δείκτες των ιχθύων, καθώς το διάστημα νηστείας που επιβλήθηκε στα λαβράκια ήταν σχετικά μικρό ώστε να προκληθούν σημαντικές μεταβολές στην αιματολογία τους.

Η επίδραση της νηστείας στους αιματολογικούς παράγοντες των λαβρακίων, μελετήθηκε και από τους Peres et al. (2014). Στη συγκεκριμένη έρευνα αναλύθηκαν βιοχημικές παράμετροι στο αίμα λαβρακίων, όπως είναι η γλυκόζη, η ολική χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, ο φώσφορος, οι ολικές πρωτεΐνες, η γαλακτική αφυδρογονάση (LDH) και η κινάση κρεατίνης (CPK) έπειτα από την εφαρμογή τριών

διαφορετικών διατροφικών πρωτοκόλλων. Η πρώτη ομάδα λαβρακίων (Ομάδα Α) λάμβανε κανονικά τροφή επί 14 ημέρες, η δεύτερη ομάδα (ομάδα Β) έλαβε τροφή επί 7 ημέρες και καθόλου τροφή για τις επόμενες 7, ενώ η τρίτη ομάδα (Ομάδα C) παρέμεινε υπό νηστεία στο σύνολο των 14 ημερών. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν πως οι τιμές της γλυκόζης και της χοληστερόλης σημείωσαν χαρακτηριστική μείωση έπειτα από 2 εβδομάδες νηστείας, ενώ τα τριγλυκερίδια, οι πρωτεΐνες και ο φώσφορος εμφάνισαν μειωμένες τιμές και στην ομάδα που παρέμεινε σε νηστεία επί 1 εβδομάδα. Επίσης, χαρακτηριστική μείωση εμφάνισαν και τα επίπεδα της γαλακτικής αφυδρογονάσης τόσο στα λαβράκια υπό νηστεία για δύο εβδομάδες, όσο και στα λαβράκια υπό νηστεία για μία εβδομάδα. Στα συμπεράσματά τους, οι συγγραφείς καταλήγουν πως η μέτρηση συγκεκριμένων βιοχημικών παραμέτρων όπως είναι οι ολικές πρωτεΐνες, τα τριγλυκερίδια και ο φώσφορος θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως ένα χρήσιμο διαγνωστικό εργαλείο για την παρακολούθηση των διατροφικών πρακτικών στις εντατικές ιχθυοκαλλιέργειες καθώς αντανακλούν την επάρκεια των ιχθύων στη λήψη τροφής.

Πίνακας 2.14. Βιοχημικές παράμετροι σε λαβράκια υπό διαφορετικά διατροφικά σχήματα (Peres et al., 2014)

ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ (ΜΕΣΕΣ ΤΙΜΕΣ)	ΟΜΑΔΑ Α	ΟΜΑΔΑ Β	ΟΜΑΔΑ C
ΓΛΥΚΟΖΗ (mg/dl)	129.7	123.4	94.6
ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ (mg/dl)	272.4	233.4	214.4
ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ (mg/dl)	405.5	241.4	189.5
ΟΛΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ (g/dl)	4.9	4.2	3.6

ΦΩΣΦΟΡΟΣ (mg/dl)	8.4	7.0	6.3
LDH (U l-1)	126.6	57.3	65.2
CPK (U l-1)	689.3	430.3	645.3

Σε μία άλλη μελέτη, οι Abdelmalek et al.(2015) ερεύνησαν την επίδραση στους αιματολογικούς παράγοντες που έχει η προσθήκη ολιγοσακχαριτών από καλαμπόκι (XOS) στη διατροφή λαβρακίων. Τα αποτελέσματα έδειξαν αύξηση τόσο στα ερυθρά όσο και στα λευκά κύτταρα στο αίμα των λαβρακίων, όπως επίσης και συνοδό αύξηση της αιμοσφαιρίνης και των επιπέδων ολικών πρωτεϊνών, έπειτα από διάστημα 12 εβδομάδων που λάμβαναν τη διατροφή αυτή (Πίν. 2.15). Οι συγγραφείς καταλήγουν πως αυτή η αύξηση στους αιματολογικούς δείκτες καταδεικνύει τη συμβολή της συγκεκριμένης διατροφής στην ανοσοδιέγερση των λαβρακίων.

Πίνακας 2.15. Μεταβολές σε αιματολογικές παραμέτρους στο λαβράκι έπειτα από διατροφή με XOS (Abdelmalek et al., 2015)

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	CONTROL	XOS 5g/kg	XOS 10g/kg
RBC ($10^6/\text{mm}^3$)	3.89	4.42	4.35
WBC ($10^3/\text{mm}^3$)	13.23	15.02	14.30
Hb (g/dl)	13.38	14.31	14.66
Ολικές πρωτεΐνες	2.26	2.57	2.25

Σε μία άλλη μελέτη (Ballester-Lozano et al., 2015), ερευνήθηκαν οι μεταβολές σε αιματολογικές, βιοχημικές και ορμονολογικές παραμέτρους στο αίμα τσιπουρών ανάλογα με την έλλειψη συγκεκριμένων βασικών συστατικών στη διατροφή τους.

Συγκεκριμένα μελετήθηκαν ελλείψεις που αφορούν σε 6 κατηγορίες θρεπτικών συστατικών: θειούχα αμινοξέα (SAA), μακράς αλυσίδας πολυακόρεστα λιπαρά οξέα (LC-PUFA), φωσφολιπίδια (PL), φώσφορος (P), μέταλλα (MIN) και βιταμίνες (VIT).

Για το σκοπό αυτό, οι συγγραφείς παρασκεύασαν διατροφικά σχήματα, το κάθε ένα από τα οποία είχε έλλειψη σε ένα από τα παραπάνω συστατικά και εν συνεχεία το κάθε διατροφικό σχήμα δόθηκε σε συγκεκριμένη ομάδα τσιπουρών για 11 εβδομάδες, ενώ υπήρχε και η ομάδα control, η οποία τρεφόταν με όλα τα παραπάνω θρεπτικά συστατικά. Οι συγγραφείς αναφέρουν στα ευρήματά τους πως οι τσιπούρες που δεν έλαβαν LC-PUFA στη διατροφή τους εμφάνισαν αναιμία, χαμηλά επίπεδα χοληστερόλης και ολικών πρωτεϊνών καθώς και σημαντικά χαμηλές τιμές στα επίπεδα του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα (IGF-1), μιας ορμόνης που τα επίπεδά της αντανakλούν την δυνατότητα ανάπτυξης των ιχθύων στις καλλιέργειες. Οι τσιπούρες που δεν έλαβαν SAA εμφάνισαν κυρίως χαμηλά επίπεδα πρωτεϊνών και μειωμένες τιμές του IGF-1, ενώ οι τσιπούρες που δεν έλαβαν φωσφολιπιδικά στη διατροφή τους εμφάνισαν επίσης κυρίως υποπρωτεϊναιμία και σχετικά χαμηλή τιμή στο IGF-1. Οι τσιπούρες που έλαβαν φώσφορο εμφάνισαν – εκτός από σχετικά χαμηλή IGF-1 – ιδιαίτερα μειωμένες τιμές P στο αίμα τους, όπως ήταν αναμενόμενο, αλλά και υπερχοληστεριναιμία. Οι τσιπούρες που έλαβαν μέταλλα στη διατροφή τους εμφάνισαν κατά κύριο λόγο μία μείωση στο IGF-1, ενώ αυτές που δεν έλαβαν βιταμίνες εμφάνισαν χαρακτηριστική μείωση στα επίπεδα χοληστερόλης και ολικών πρωτεϊνών.

Συμπερασματικά, η μελέτη αυτή καταδεικνύει τις μεταβολές που μπορεί να απέλθουν στους αιματολογικούς παράγοντες των ιχθύων λόγω διατροφικών ελλείψεων και κυρίως στη μείωση των επιπέδων του IGF-1 που παρατηρήθηκε σε όλες τις ομάδες ψαριών που συμμετείχαν στην έρευνα πλην της ομάδας control.

Πίνακας 2.16. Παράμετροι στο αίμα τσιπουρών ανάλογα με την έλλειψη συγκεκριμένων παραγόντων στη διατροφή τους (Ballester-Lozano et al., 2015)

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΣΤΟ ΑΙΜΑ	CONTROL	SAA	LC- PUFA	PL	P	MIN	VIT
Hb (g/dl)	7.16	6.62	5.90	7.09	7.79	7.19	8.13
Ht (%)	32.8	34.1	27.4	30.5	34.9	36.2	32.8
RBC × 10 ⁶ /ml	2.66	2.53	2.07	2.31	2.53	2.8	2.79
Γλυκόζη (mg/dl)	56.1	58.3	56.0	52.3	57.5	57.3	50.6
Χοληστερόλη ολική (mg/dl)	152.2	130.5	65.62	113.6	192.5	139.9	90.7

Ολικές πρωτεΐνες (g/l)	33.8	28.4	24.1	26.3	38.1	35.3	26.1
Φώσφορος (mg/dl)	14.7	13.1	14.01	13.7	7.9	12.9	14.8
Χλώριο (mg/dl)	448	475	472	464	457	451	451
IGF-I (ng/ml)	96.7	78.7	45.1	69.1	53.1	66.6	64.6

Οι Wassef et al. (2019), μελέτησαν την επίδραση στους αιματολογικούς δείκτες των λαβρακίων σε ιχθυοκαλλιέργειες που μπορεί να αποφέρει η μείωση της ποσότητας τροφής που βασίζεται σε ψάρια και η αντικατάστασή της από τις φυτικές ύλες, όπως είναι η σόγια. Για το σκοπό αυτό, 420 λαβράκια χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες η κάθε μία από τις οποίες έλαβε διατροφή περιεκτικότητα σε ψάρια ίση με 20, 25 και 30% (FM20, FM25 και FM30 αντίστοιχα), ενώ υπήρχε και η ομάδα control οποία έλαβε τροφή αποκλειστικά από ψάρια για χρονικό διάστημα ίσο με 13 εβδομάδες.

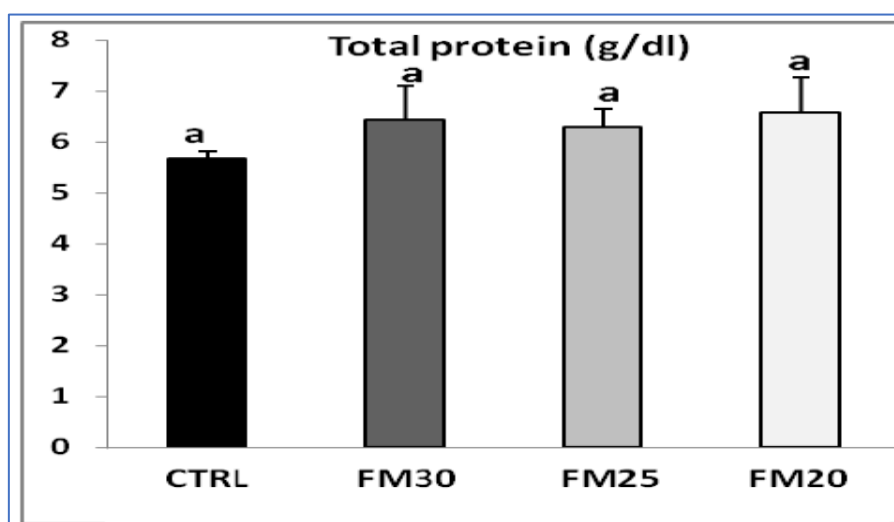
Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν μεταβολές στις αιματολογικές παραμέτρους των ψαριών που έλαβαν τα υπό μελέτη διατροφικά σχήματα, σε σχέση με τα λαβράκια της ομάδας control (Πίν. 2.17). Συγκεκριμένα, τις σημαντικότερες μεταβολές εμφάνισαν τα λαβράκια που έλαβαν τη μικρότερη συγκέντρωση ψαριών στη διατροφή τους (FM20), καθώς παρουσίασαν σημαντική μείωση του αριθμού των ερυθρών αιμοσφαιρίων, της αιμοσφαιρίνης και του αιματοκρίτη και ιδιαίτερη μείωση στον αριθμό των λευκοκυττάρων του αίματός τους, σε σχέση με τα λαβράκια της ομάδας control και των ομάδων FM25 και FM30. Το γεγονός αυτό, σύμφωνα με τους συγγραφείς, καταδεικνύει την πιθανή στρεσογόνο κατάσταση στην οποία βρέθηκαν τα λαβράκια με τη μεγαλύτερη μείωση ψαριού στη διατροφή τους.

Πίνακας 2.17. Αιματολογικοί παράγοντες στα λαβράκια που έλαβαν διαφοροποιημένη διατροφή επί 13 εβδομάδες (Wassef et al., 2019)

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	CONTROL	FM30	FM25	FM20
RBC (10 ⁶ /L)	4.69	3.80	4.60	3.20
Hb (g/dl)	12.77	11.43	13.00	9.73

Ht%	41.67	36.00	46.33	32.67
MCHC (mg/dl)	30.80	31.93	28.27	30.17
MCH (pg)	27.27	30.23	28.27	30.17
MCV (FL)	88.87	94.83	100.57	101.60
WBC (10 ³ /μL)	6.03	7.09	5.69	3.51
Λεμφοκύτταρα %	31.33	41.33	31.67	42.33
Μονοκύτταρα %	3.67	4.67	5.33	5.67
Ηωσινόφιλα %	0.67	1.00	1.00	1.33

Όσον αφορά στα επίπεδα των ολικών πρωτεϊνών, η μελέτη των Wassef et al., δεν κατέγραψε σημαντικές μεταβολές στις τιμές αυτές ανάμεσα στις 4 υπό μελέτη ομάδες λαβρακίων, όπως φαίνεται και στο διάγραμμα της Εικόνας 2.19:



Εικόνα 2.19. Επίπεδα ολικών πρωτεϊνών στα λαβράκια της μελέτης (Wassef et al., 2019)

Οι Machado et al. (2019), μελέτησαν επίσης την επίδραση της διατροφής στους αιματολογικούς παράγοντες στα λαβράκια καθώς και στην ανοσοαπόκρισή τους σε συνθήκες οξέος στρες. Για το σκοπό αυτό δόθηκαν 4 διαφορετικά - ως προς την πηγή

των λιπιδίων - διατροφικά σχήματα σε λαβράκια επί 73 ημέρες, ενώ στη συνέχεια τους επιβλήθηκαν στρεσογόνες συνθήκες πριν τη λήψη αίματος. (Σε ένα ποσοστό των ιχθύων δεν επιβλήθηκε στρεσογόνος παράγοντας ώστε να αποτελεί την ομάδα control). Τα 4 διατροφικά σχήματα ήταν τα εξής: ιχθυέλαια (FO), φυτικά έλαια (VO), 0% υδατάνθρακες (CH-) και 20% υδατάνθρακες (CH+) και τα αποτελέσματα των αιματολογικών αναλύσεων φαίνονται στον παρακάτω Πίνακα 2.18:

Πίνακας 2.18. Αιματολογικοί παράγοντες σε λαβράκια υπό διαφορετικά διατροφικά σχήματα και υπό την επήρεια ή όχι οξέος στρες

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ	ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΣΧΗΜΑΤΑ							
	FO				VO			
	CH-		CH+		CH-		CH+	
	C	S	C	S	C	S	C	S
RBC ($10^6/\mu\text{L}$)	2.92	2.58	2.83	2.98	2.96	2.83	2.58	3.16
Hb (g/dl)	7.49	7.13	8.19	7.25	7.36	7.65	7.07	7.41
Ht %	31.1	29.8	31.3	30.5	28.3	31.1	28	31
MCHC (g/100ml)	24.1	23.9	26.3	23.7	25.9	24.6	25.3	23.9
MCH (pg/cell)	25.7	27.9	29.1	24.4	25	27.1	27.6	23.6
MCV (μm^3)	106	116	111	102	96	110	110	99
WBC ($10^4/\mu\text{L}$)	5.21	5.46	4.37	5.23	4.88	4.69	4.75	5.65
Λεμφοκύτταρα ($10^4/\mu\text{L}$)	2.03	2.38	1.34	2.26	1.99	2.02	1.95	2.52
Μονοκύτταρα ($10^4/\mu\text{L}$)	0.36	0.43	0.2	0.43	0.24	0.4	0.26	0.28
Ουδετερόφιλα ($10^4/\mu\text{L}$)	0.06	0.27	0.04	0.33	0.08	0.21	0.07	0.16
Θρομβοκύτταρα ($10^4/\mu\text{L}$)	2.76	2.38	2.11	2.2	2.58	2.07	2.46	2.69
ΚΟΡΤΙΖΟΛΗ (ng/ml)	57	163	80	145	66	138	89	158

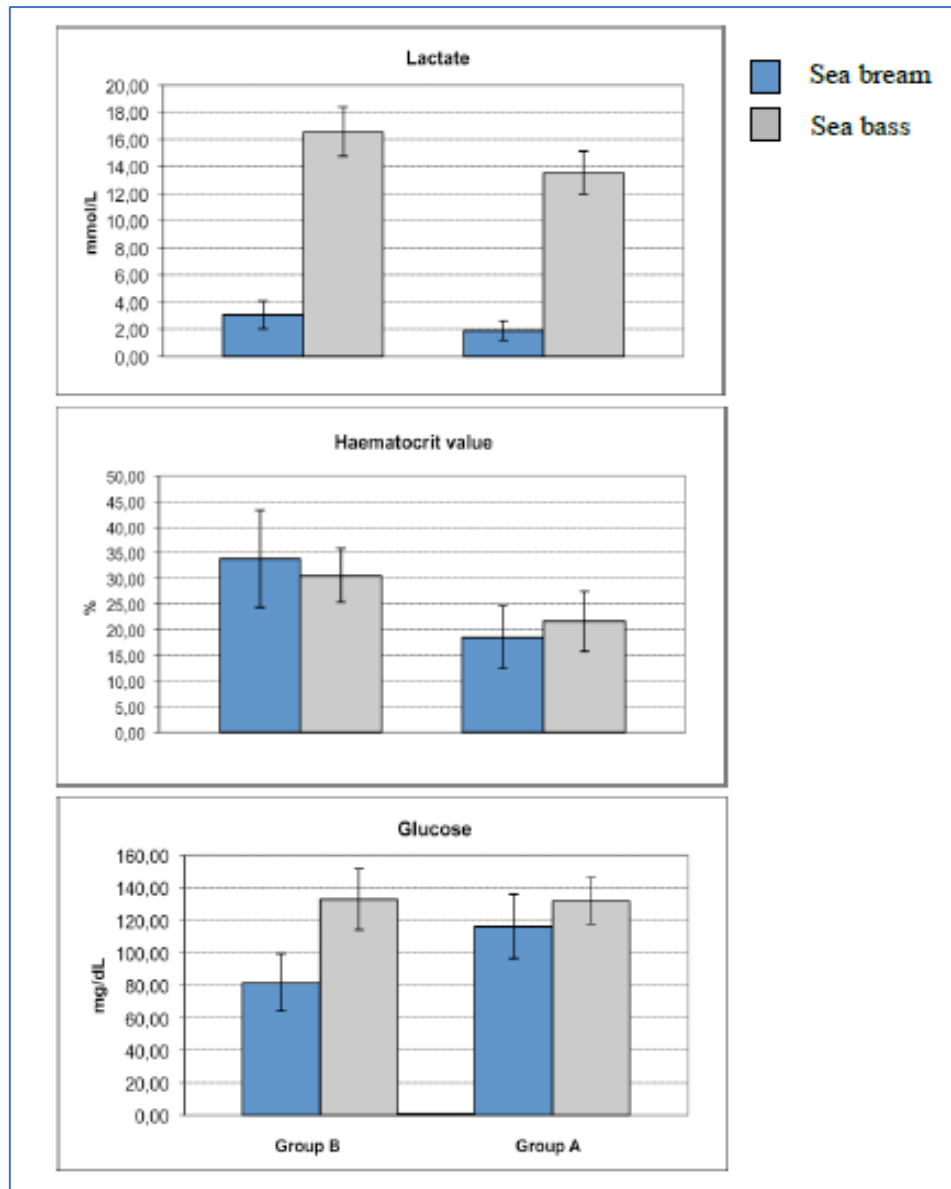
C: Control, S: Stressed

Όπως διακρίνεται στα αποτελέσματα της μελέτης αυτής, το διατροφικό σχήμα που περιλάμβανε φυτικά έλαια αντί για ιχθυέλαια οδήγησε σε μείωση του αιματοκρίτη των λαβρακίων, ιδιαίτερα στην ομάδα control, ενώ υπήρξε σημαντική μείωση των ουδετερόφιλων στα λαβράκια που βρέθηκαν υπό την επίδραση οξέος στρες και είχαν

τραφεί με φυτικά έλαια. Επίσης, τα επίπεδα κορτιζόλης στο αίμα των λαβρακίων εμφανίζονται σημαντικά αυξημένα στα ψάρια υπό την επήρεια οξέος στρες, χωρίς να διαδραματίζει ρόλο η διατροφή που είχαν λάβει.

2.5 Μελέτες που αφορούν στην επίδραση διαφόρων παραγόντων των εντατικών ιχθυοκαλλιέργειών στις αιματολογικές αναλύσεις τσιπούρας – λαβρακίου

Οι Buscaino et al. (2010) μελέτησαν την πιθανή επίδραση του θορύβου που προκαλείται υποθαλάσσια από πλοία και σκάφη στις αιματολογικές και βιοχημικές αναλύσεις σε τσιπούρες και λαβράκια, καθώς ο θόρυβος μπορεί να αυξήσει την κινητικότητα των ιχθύων μέσα στους θαλάσσιους κλωβούς. Για το σκοπό αυτό τοποθέτησαν τους ιχθύες σε κλωβούς σε ένα φυσικό λιμάνι και αφού τους υπέβαλλαν σε θορύβους χαμηλών συχνοτήτων, ανέλυσαν τα επίπεδα αιματοκρίτη, γλυκόζης, γαλακτικού οξέος, χοληστερόλης, τριγλυκεριδίων και ολικών πρωτεϊνών στο αίμα τους, συγκρίνοντας τις τιμές αυτές με τις αντίστοιχες τιμές που εμφανίζουν οι ιχθύες χωρίς την επιβολή θορύβου. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η επιβολή θορύβου αύξησε την κινητικότητα των ιχθύων, οδηγώντας σε μεταβολές των επιπέδων των αιματολογικών και βιοχημικών παραμέτρων, ειδικότερα όσον αφορά στα επίπεδα αιματοκρίτη, γλυκόζης και γαλακτικού οξέος (Εικ. 2.20):

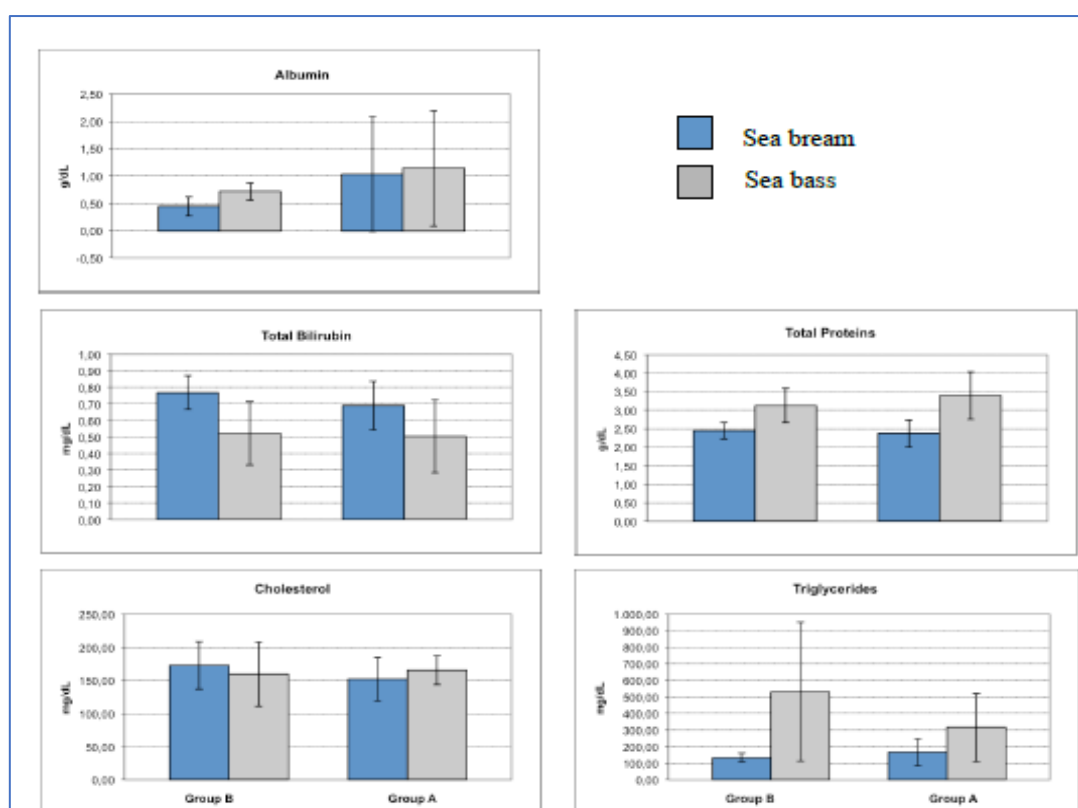


Εικόνα 2.20. Μεταβολές στα επίπεδα γαλακτικού οξέος, γλυκόζης και αιματοκρίτη σε τσιπούρες και λαβράκια (μπλε: τσιπούρα, γκρι: λαβράκι) ανάμεσα στις 2 ομάδες ιχθύων (group B: υπό θόρυβο, group A: χωρίς θόρυβο) (Buscaino et al., 2010)

Όπως διακρίνεται στην παραπάνω εικόνα, τα επίπεδα γλυκόζης σημείωσαν σημαντική πτώση στις τσιπούρες που ετέθησαν σε θόρυβο, κατά περίπου 34mg/dl, ενώ τα επίπεδα γαλακτικού οξέος σημείωσαν ιδιαίτερη αύξηση στην ομάδα αυτή των τσιπύρων. Επίσης, οι τιμές του αιματοκρίτη αυξήθηκαν κατά περίπου 15% στην ομάδα των τσιπύρων που εξετάστηκαν μετά την επιβολή θορύβου.

Στα λαβράκια, η έκθεση σε θόρυβο οδήγησε σε ιδιαίτερη αύξηση των επιπέδων του γαλακτικού οξέος και του αιματοκρίτη (9%), ενώ δεν προκλήθηκε σημαντική μεταβολή στα επίπεδα γλυκόζης.

Όσον αφορά στα επίπεδα άλλων βιοχημικών παραγόντων, όπως είναι τα τριγλυκερίδια, η χοληστερόλη, οι ολικές πρωτεΐνες, η αλβουμίνη και η ολική χολερυθρίνη, οι συγγραφείς αναφέρουν πως δεν σημειώθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές μεταξύ των δύο ομάδων ιχθύων, τόσο στις τσιπούρες όσο και στα λαβράκια (Εικ. 2.21).



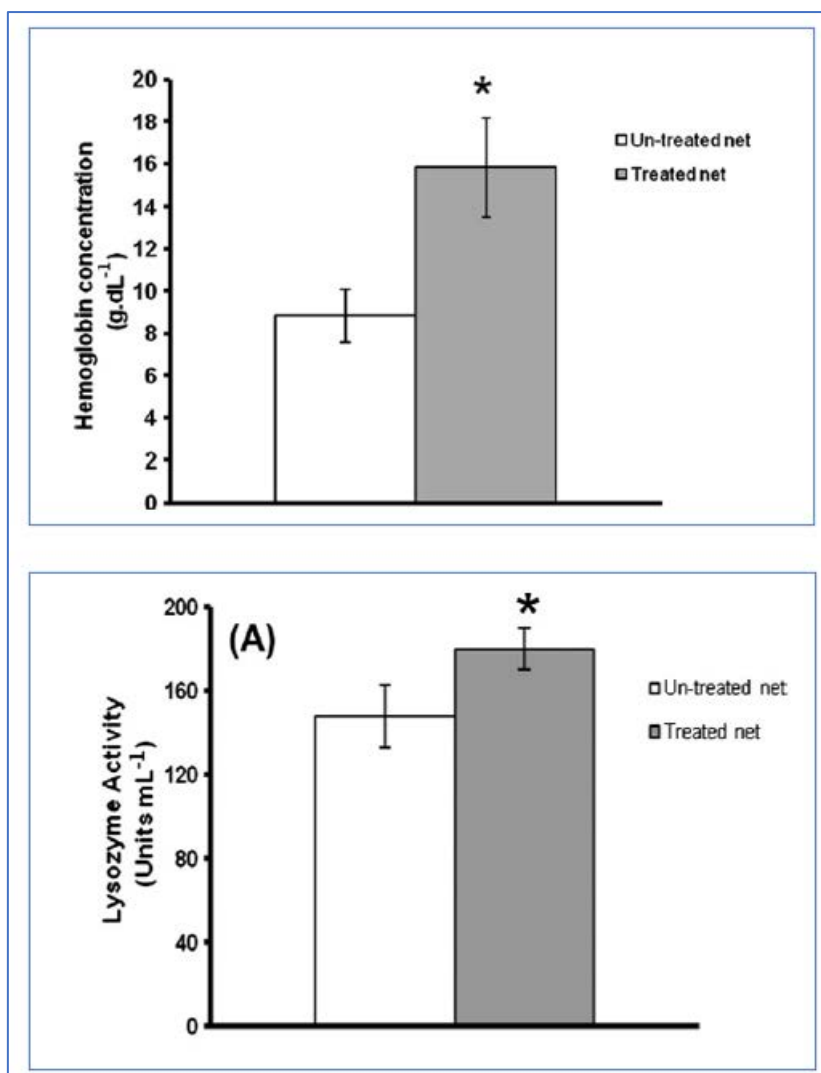
Εικόνα 2.21. Μεταβολές στα επίπεδα αλβουμίνης, ολικής χολερυθρίνης, ολικών πρωτεϊνών, χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων σε τσιπούρες και λαβράκια (μπλε: τσιπούρα, γκρι: λαβράκι) ανάμεσα στις 2 ομάδες ιχθύων (group B: υπό θόρυβο, group A: χωρίς θόρυβο) (Buscaino et al., 2010)

Τα αποτελέσματα της μελέτης των Buscaino et al. (2010), δείχνουν πως η επιβολή θορύβου από ανθρωπογενείς πηγές, που είναι δυνατόν να υπάρξει στις τοποθεσίες των ιχθυοκαλλιεργειών, είναι δυνατόν να επηρεάσει αιματολογικούς δείκτες, όπως τον αιματοκρίτη, αλλά και βιοχημικούς δείκτες όπως το γαλακτικό οξύ

και τη γλυκόζη, ως αποτέλεσμα της αυξημένης κινητικότητας των ιχθύων στην οποία οδηγεί ο θόρυβος χαμηλών συχνοτήτων.

Σε μία άλλη μελέτη (Cotou et al., 2012) μελετήθηκε η επίδραση του χαλκού που περιέχουν τα δίχτυα που χρησιμοποιούνται σε ιχθυοκαλλιέργειες, στο ανοσοποιητικό σύστημα των ιχθύων και συγκεκριμένα στα λαβράκια, σε *in vitro* πείραμα, καθώς είναι δυνατόν, ποσότητα από τον χαλκό αυτό να διαλυθεί στο νερό της ιχθυοκαλλιέργειας. Μελετήθηκε, επίσης, το κατά πόσον ο χαλκός που περιέχεται στα δίχτυα μπορεί να έχει επίδραση στην ανάπτυξη οξειδωτικού στρες στους ιχθύες αυτούς. Στα αποτελέσματά τους, οι συγγραφείς αναφέρουν πως δεν υπήρξε συσχέτιση μεταξύ χαλκού και ανάπτυξης οξειδωτικού στρες στους ιχθύες, ωστόσο βρέθηκε πως επιδρά στο άμεσο ανοσοποιητικό τους σύστημα με αποτέλεσμα την ευπάθεια των λαβρακίων σε ασθένειες και άρα τα επεξεργασμένα με χαλκό δίχτυα είναι δυνατόν να αποτελούν παράγοντα κινδύνου για τα λαβράκια των ιχθυοκαλλιεργειών.

Συγκεκριμένα, η μελέτη αναφέρει πως βρέθηκαν ιδιαίτερα αυξημένα επίπεδα δραστηριότητας λυσοζύμης, δηλαδή βακτηριολυτικής ικανότητας, καθώς και αυξημένη αιμοσφαιρίνη στα λαβράκια λόγω αυξημένων συγκεντρώσεων χαλκού στο νερό, γεγονός που καταδεικνύει πως οι ιχθύες βρίσκονται σε συνθήκες στρες (Εικ. 2.22). Η αυξημένη αιμοσφαιρίνη στα λαβράκια λόγω του διαλυμένου χαλκού στο νερό, είναι πιθανόν να οφείλεται στην αύξηση παραγωγής αιμοσφαιρίνης από το αιμοποιητικά όργανα των ιχθύων, ούτως ώστε να μπορέσουν να αναπληρώσουν την οξειδωμένη μορφή αιμοσφαιρίνης που δημιουργήθηκε από την έκθεση των ερυθροκυττάρων στο χαλκό, ο οποίος έχει την ικανότητα να διαπερνά τα ερυθρά κύτταρα (Cotou et al., 2012).



Εικόνα 2.22. Μεταβολές στα επίπεδα αιμοσφαιρίνης καθώς και στη δραστικότητα λυσοζύμης στο αίμα των λαβρακίων μετά από έκθεση σε χαλκό από δίχτυα ιχθυοκαλλιέργειας (Cotou et al., 2012)

Μελέτες έχουν επίσης πραγματοποιηθεί για την επίδραση που μπορεί να έχουν διάφοροι χημικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται στις ιχθυοκαλλιέργειες είτε ως φάρμακα είτε ως απολυμαντικά. Οι Tort et al. (2002), μελέτησαν την επίδραση αναισθητικών ουσιών, τόσο φυτικών όπως το γαρυφαλέλαιο όσο και χημικών όπως η φαινοξαιθανόλη, σε αιματολογικές παραμέτρους στις τσιπούρες. Τα αποτελέσματα της έρευνά τους (Πίν. 2.19) δείχνουν πως η χρήση του γαρυφαλέλαιου ως αναισθητικού είναι πιο ασφαλής για χρήση στις ιχθυοκαλλιέργειες, καθώς δεν σημειώθηκαν σημαντικές μεταβολές στα επίπεδα των αιματολογικών παραμέτρων των τσιπουρών, σε αντίθεση με τη χρήση φαινοξαιθανόλης όπου παρατηρήθηκε ιδιαίτερη μείωση στα επίπεδα των ερυθρών αιμοσφαιρίων και του αιματοκρίτη στις τσιπούρες.

Πίνακας 2.19. Αιματολογικοί δείκτες στις τσιπούρες μετά από χρήση αναισθητικών και χωρίς αναισθησία (Tort et al., 2002)

	Clove oil 0.2 mL L ⁻¹	Clove oil 0.1 mL L ⁻¹	Clove oil 0.05 mL L ⁻¹	Phenoxyethanol 0.5 mL L ⁻¹	Without anaesthesia
Sea bream					
Haematocrit (%)	25.32 ± 1.36	24.48 ± 1.14	18.74 ± 2.76	16.96 ± 1.16*	21.34 ± 1.42
Haemoglobin (mg dL ⁻¹)	6.44 ± 0.92	6.68 ± 1.18	5.59 ± 0.72	5.57 ± 0.50	4.55 ± 0.42
RBCC (× 10 ⁶ cells μL ⁻¹)	2.13 ± 0.38	2.47 ± 0.19	2.43 ± 0.41	1.76 ± 0.31*	2.23 ± 0.11
MCV	128.4 ± 17.2	140.3 ± 15.3	128.9 ± 8.6	139.5 ± 20.8	132.2 ± 13.9
MCH	31.2 ± 4.12	33.53 ± 3.93	32.12 ± 5.75	34.03 ± 5.38	32.59 ± 3.04
MCHC	24.89 ± 6.65	27.25 ± 6.34	26.68 ± 4.37	33.24 ± 2.77*	23.49 ± 1.54

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂) χρησιμοποιείται συχνά στις ιχθυοκαλλιέργειες ως απολυμαντικό. Οι Roque et al. (2010) πραγματοποίησαν μία μελέτη σε λαβράκια με σκοπό τη συσχέτιση της έκθεσης στο H₂O₂ με πιθανές μεταβολές στις αιματολογικές και βιοχημικές παραμέτρους των ιχθύων. Οι παράγοντες που επιλέχθηκαν από τους συγγραφείς για να αναλυθούν αντικατοπτρίζουν τα επίπεδα στρες των λαβρακίων μετά την έκθεση στο H₂O₂ και είναι ο αιματοκρίτης, η αιμοσφαιρίνη, οι ολικές πρωτεΐνες, η αλβουμίνη, το ασβέστιο, το νάτριο, το χλώριο, ο φώσφορος, η γλυκόζη και το γαλακτικό οξύ, καθώς και τα επίπεδα κορτιζόλης. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε 3 ομάδες λαβρακίων, όπου η πρώτη ομάδα εκτέθηκε σε 50ppm H₂O₂ επί μία ώρα και η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε άμεσα, η δεύτερη ομάδα εκτέθηκε στο H₂O₂ όπως και η πρώτη αλλά η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε μετά από χρονικό διάστημα 24 ωρών και η τρίτη ομάδα που ήταν η ομάδα control και δεν εκτέθηκε στο υπεροξείδιο του υδρογόνου. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής (πίνακας 2.20) δείχνουν σημαντικές μεταβολές στους δείκτες που αναλύθηκαν μετά την έκθεση των λαβρακίων στο H₂O₂.

Πίνακας 2.20. Μεταβολές σε αιματολογικούς και βιοχημικούς παράγοντες σε λαβράκια μετά από έκθεση στο απολυμαντικό H₂O₂ (Roque et al., 2010)

Parameters	C	E	R24
Plasma cortisol (ng/mL)	33.10 ± 5.30	44.88 ± 9.73*	55.33 ± 6.30*
Mean ± SD			
Plasma lactate (mg/dL)	7.50 ± 2.88	10.38 ± 2.09*	9.01 ± 2.69
Mean ± SD			
Plasma glucose (mg/dL)	120.74 ± 75.94	185.28 ± 23.08*	92.87 ± 32.94*
Mean ± SD			
Plasma Ca (mg/dL)	15.35 ± 8.60	21.73 ± 6.32*	14.86 ± 4.29
Mean ± SD			
Plasma P (mg/dL)	9.42 ± 6.21	12.58 ± 6.23	10.80 ± 4.13
Mean ± SD			
Plasma Na (mmol/L)	157.12 ± 13.79	170.90 ± 14.43*	111.31 ± 6.40*
Mean ± SD			
Plasma Mg (mg/dL)	4.54 ± 1.45	6.98 ± 3.46*	5.71 ± 1.05
Mean ± SD			
Plasma K (mmol/L)	0.84 ± 0.34	0.80 ± 0.23	2.49 ± 0.99*
Mean ± SD			
Plasma Cl (mEq/L)	144.48 ± 51.56	171.55 ± 38.80	185.55 ± 46.89*
Mean ± SD			
Hematocrit (%)	30.48 ± 4.43	32.67 ± 4.56*	28.93 ± 5.45
Mean ± SD			
Hemoglobin (g/dL)	4.81 ± 1.45	6.32 ± 2.00*	5.87 ± 1.10*
Mean ± SD			
Albumin (g/dL)	0.74 ± 0.38	1.93 ± 0.45*	1.08 ± 0.58
Mean ± SD			
Total plasma protein (mg/mL)	6.43 ± 0.55	6.73 ± 0.59	7.39 ± 1.06*
Mean ± SD			

Συγκεκριμένα, τα επίπεδα γλυκόζης, γαλακτικού οξέος, αιμοσφαιρίνης και κορτιζόλης εμφανίζονται σημαντικά αυξημένα αμέσως μετά την έκθεση στο υπεροξείδιο του υδρογόνου. Το γεγονός αυτό καταδεικνύει την άμεση αντίδραση των ιχθύων στο χημικό παράγοντα που φαίνεται πως τους προκαλεί φαινόμενα οξέος στρες και απαιτούνται τουλάχιστον 24 ώρες ανάνηψης μετά την έκθεση, προτού οι τιμές των δεικτών αυτών επανέλθουν στα φυσιολογικά επίπεδα. Οι τιμές του αιματοκρίτη εμφανίζονται, επίσης, αυξημένες αμέσως μετά την έκθεση στο H₂O₂, γεγονός που δείχνει την αύξηση της μεταβολικής ζήτησης των οργάνων στα λαβράκια λόγω του οξέος στρες και συνεπακόλουθα την αναγκαιότητα για μεγαλύτερη παροχή οξυγόνου προς τα όργανα αυτά. Επιπρόσθετα, οι μεταβολές που παρατηρούνται στα επίπεδα των ιόντων (Na, Cl, Mg, Ca) είναι πιθανό να οφείλονται σε διαταραχές στο σύστημα ανταλλαγής αερίων στον οργανισμό των λαβρακίων έπειτα από την έκθεση στο H₂O₂.

Η παρατηρούμενη αύξηση στα επίπεδα αλβουμίνης μετά την έκθεση, αλλά και της συγκέντρωσης των ολικών πρωτεϊνών μετά την πάροδο των 24 ωρών από την έκθεση, είναι πιθανό να οφείλεται τόσο σε διαταραχές εξαιτίας του στρες όσο και στην παρατηρούμενη αιμοσυγκέντρωση λόγω της αύξησης της αιμοσφαιρίνης και του αιματοκρίτη (Roque et al., 2010).

Στη μελέτη των Yildiz και Altunay (2010), ερευνήθηκε η επίπτωση της προληπτικής χημειοπροφύλαξης σε τσιπούρες και λαβράκια σε βιοχημικούς και ορμονολογικούς δείκτες, όπως είναι η γλυκόζη, η κορτιζόλη, η CRP, διάφοροι ηλεκτρολύτες, καθώς και η δραστηριότητα της λυσοζύμης. Για το σκοπό αυτό, 120 τσιπούρες και 120 λαβράκια από ιχθυοκαλλιέργεια στην Τουρκία, εκτέθηκαν σε 40ppm TMP-SMX (trimethoprim – sulfamethoxazol), ως χημειοπροφύλαξη και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ανάλυση του αίματός τους. Τα αποτελέσματα (πίνακες 2.21 και 2.22) έδειξαν σημαντική αύξηση στα επίπεδα κορτιζόλης και γλυκόζης και στα δύο είδη ιχθύων, που υποδηλώνουν την πρόκληση στρες στους ιχθύες μετά τη λήψη του φαρμάκου, ενώ τα επίπεδα αιματοκρίτη δεν εμφάνισαν ιδιαίτερες μεταβολές σε κανένα από τα 2 είδη ιχθύων που μελετήθηκαν. Παρατηρήθηκαν, επίσης, διακυμάνσεις στα επίπεδα ηλεκτρολυτών στο αίμα των τσιπούρων και των λαβρακίων, καθώς και αύξηση του CRP. Όσον αφορά στις τιμές δραστηριότητας λυσοζύμης, που είναι δείκτης ανοσολογικής απόκρισης, στις μεν τσιπούρες δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές στις τιμές αυτές μετά τη λήψη του φαρμάκου, ενώ αντίθετα στο λαβράκι σημειώθηκε αύξηση στις τιμές της. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, οι μεταβολές στα επίπεδα των υπό μελέτη δεικτών έπαιτα από τη λήψη του χημειοπροφυλακτικού παράγοντα, οφείλονται τόσο στην πρόκληση οξέος στρες, όσο και στην προσπάθεια του οργανισμού των ιχθύων να επανέλθουν στα φυσιολογικά επίπεδα ομοιόστασης.

Πίνακας 2.21. Μεταβολές στα επίπεδα αιματολογικών και βιοχημικών παραμέτρων στην τσιπούρα μετά την έκθεση σε TMP_SMX (Yildiz & Altunay, 2010)

Stress/innate immune response parameter	Control (C)	Control R 24	Control R 48	TMP-SMX exposure	TMP-SMX R 24	TMP-SMX R 48
Plasma cortisol (ng/ml)	12.66 ± 0.77 ^{a*}	11.91 ± 0.45 ^a	11.08 ± 0.78 ^a	54.86 ± 0.28 ^d	27.19 ± 0.45 ^c	18.42 ± 0.64 ^b
Plasma glucose (mg/dl)	83.86 ± 7.74 ^a	78.80 ± 2.64 ^a	72.82 ± 2.74 ^a	141.40 ± 4.34 ^c	130.22 ± 4.94 ^c	102.70 ± 10.51 ^b
Plasma Ca (mg/dl)	11.82 ± 0.35 ^a	11.12 ± 0.37 ^a	11.35 ± 0.55 ^a	12.53 ± 0.36 ^b	12.54 ± 0.73 ^b	13.51 ± 0.82 ^c
Plasma P (mg/dl)	8.57 ± 0.67 ^c	8.20 ± 0.88 ^c	7.91 ± 0.22 ^b	8.45 ± 0.15 ^c	8.97 ± 0.89 ^c	6.19 ± 0.68 ^a
Plasma Na (mmol/l)	186.4 ± 3.57 ^a	188.4 ± 2.41 ^{ab}	186.8 ± 2.86 ^a	183.8 ± 1.64 ^a	187.4 ± 4.28 ^{ab}	207.0 ± 4.06 ^c
Plasma Mg (mg/dl)	3.15 ± 0.26	3.10 ± 0.24	3.17 ± 0.15	3.12 ± 0.06	3.40 ± 0.15	3.17 ± 0.04
Plasma K (mmol/l)	2.75 ± 0.15 ^a	2.95 ± 0.18 ^{bc}	2.83 ± 0.27 ^{bc}	2.75 ± 0.09 ^a	3.26 ± 0.25 ^c	3.17 ± 0.43 ^c
Plasma Cl (mmol/l)	158.6 ± 4.22 ^{ab}	162.2 ± 4.66 ^{ab}	160.4 ± 1.67 ^{ab}	154.4 ± 1.14 ^a	168.2 ± 4.44 ^b	186.2 ± 8.16 ^c
Hematocrit (%)	29.23 ± 3.95	30.79 ± 4.28	31.86 ± 3.08	32.63 ± 4.49	31.59 ± 2.47	31.70 ± 1.61
Plasma lysozyme (U/ml)	310 ± 0.7	300 ± 0.9	320 ± 0.8	290 ± 0.8	290 ± 0.7	300 ± 0.6
CRP (µg/ml)	67.0 ± 0.08 ^b	66.0 ± 0.11 ^b	68.0 ± 0.13 ^b	52.0 ± 0.80 ^a	54.0 ± 0.14 ^a	51.0 ± 0.70 ^a
Cp (mg/l)	5.94 ± 0.13	5.89 ± 0.99	5.81 ± 0.11	6.10 ± 0.15	6.05 ± 0.92	5.72 ± .035

Πίνακας 2.22. Μεταβολές στα επίπεδα αιματολογικών και βιοχημικών παραμέτρων στο λαβράκι μετά την έκθεση σε TMP_SMX (Yildiz & Altunay, 2010)

Stress/innate immune response parameter	Control (C)	Control R 24	Control R 48	TMP-SMX exposure	TMP-SMX R 24	TMP-SMX R 48
Plasma cortisol (ng/ml)	13.07 ± 1.68 ^{b*}	9.72 ± 0.17 ^a	10.42 ± 0.51 ^a	128.07 ± 7.79 ^d	19.85 ± 3.71 ^c	18.48 ± 1.33 ^c
Plasma glucose (mg/dl)	75.02 ± 9.06 ^{ab}	74.46 ± 5.86 ^{ab}	67.66 ± 1.98 ^a	213.7 ± 18.99 ^e	137.8 ± 26.62 ^d	98.48 ± 3.16 ^b
Plasma Ca (mg/dl)	11.39 ± 1.10 ^a	11.20 ± 0.76 ^a	11.08 ± 0.64 ^a	13.07 ± 0.50 ^b	11.57 ± 1.23 ^a	12.57 ± 0.39 ^{ab}
Plasma P (mg/dl)	4.36 ± 0.71 ^a	4.36 ± 0.52 ^a	4.42 ± 0.46 ^a	10.30 ± 1.33 ^c	7.91 ± 0.40 ^b	7.10 ± 0.32 ^b
Plasma Na (mmol/l)	216.4 ± 0.38 ^c	217.0 ± 4.42 ^c	216.1 ± 2.95 ^c	194.4 ± 2.41 ^b	179.0 ± 6.16 ^a	174.0 ± 7.10 ^a
Plasma Mg (mg/dl)	3.36 ± 0.27	3.26 ± 0.09	3.17 ± 0.10	3.45 ± 0.20	3.16 ± 0.09	3.36 ± 0.42
Plasma K (mmol/l)	4.45 ± 0.21 ^b	4.18 ± 0.34 ^b	4.47 ± 0.21 ^b	2.81 ± 0.71 ^a	2.85 ± 0.52 ^a	2.46 ± 0.70 ^a
Plasma Cl (mmol/l)	179.8 ± 4.14 ^b	179.0 ± 3.39 ^b	178.8 ± 2.28 ^b	151.4 ± 5.41 ^a	152.0 ± 17.0 ^a	177.2 ± 7.72 ^b
Hematocrit (%)	30.78 ± 4.41	31.07 ± 3.01	30.07 ± 2.74	29.40 ± 2.07	28.91 ± 3.19	28.24 ± 3.86
Plasma lysozyme (U/ml)	340 ± 0.7	350 ± 0.8	330 ± 0.10	370 ± 0.9	400 ± 0.11	400 ± 0.7
CRP (µg/ml)	44.0 ± 0.16	48.0 ± 0.13	48.0 ± 0.8	54.0 ± 0.5	49.0 ± 0.2	58.0 ± 0.8
Cp (mg/l)	5.42 ± 0.05 ^b	5.57 ± 0.19 ^b	5.46 ± 0.09 ^b	4.26 ± 0.06 ^a	4.31 ± 0.05 ^a	4.14 ± 0.67 ^a

Τέλος, έχει βρεθεί πως συχνά οι συγκεντρώσεις αμμωνίας στο νερό των εντατικών ιχθυοκαλλιεργειών κυμαίνονται σε ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα, καθώς η αμμωνία είναι ένα προϊόν που αποβάλλεται από τον οργανισμό των ιχθύων και άρα η συγκέντρωσή της αυξάνεται με τον πυκνότητα μίας ιχθυοκαλλιέργειας (Huntingford et al., 2006). Η αμμωνία οξειδώνεται στο νερό προς νιτρικά ιόντα (NO_3^-) τα οποία διαλύονται στο νερό (Cheng και Chen, 2002). Οι Vectesi et al. (2012), μελέτησαν την επίδραση των νιτρικών (σε δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις) σε αιματολογικές παραμέτρους στα λαβράκια και τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής δίνονται στον πίνακα 2.23. Παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων της αιμοσφαιρίνης καθώς και μικρή αύξηση του αριθμού ερυθροκυττάρων στα λαβράκια που εκτέθηκαν σε νιτρικά. Η μείωση των τιμών MCV και MCH που παρατηρήθηκε, σε συνδυασμό με την αύξηση του MCHC, καταδεικνύει τη συρρίκνωση των ερυθροκυττάρων στα λαβράκια που εκτέθηκαν σε 100ppm νιτρικών. Όσον αφορά στα λευκοκύτταρα, σημειώθηκε σημαντική πτώση του αριθμού τους στα λαβράκια που εκτέθηκαν σε νιτρικά, με πιο σημαντική τη μείωση του αριθμού των λεμφοκυττάρων ειδικά στις υψηλότερες συγκεντρώσεις νιτρικών, γεγονός που σημαίνει πως η έκθεση σε υψηλά επίπεδα νιτρικών είναι δυνατόν να επιφέρει μείωση της ανοσολογικής απόκρισης των ιχθύων.

Πίνακας 2.23. Μεταβολές στα επίπεδα αιματολογικών παραγόντων στο λαβράκι μετά από έκθεση σε 2 διαφορετικές συγκεντρώσεις νιτρικών (Vectesi et al., 2010)

Factor	Control	100 ppm	700 ppm
RBC $\times 10^6$	3.45 $\pm$ 0.51	3.66 $\pm$ 0.60	3.62 $\pm$ 0,50
WBC $\times 10^4$	12.97 $\pm$ 1.64	10.48 $\pm$ 4.16	10.64 $\pm$ 2.71
Lymphocytes%	75.56 $\pm$ 11.2	73.38 $\pm$ 7.53	68.92 $\pm$ 17.57
Thrombocytes%	12.40 $\pm$ 9.65	17.88 $\pm$ 9.26	16.92 $\pm$ 12.7
Granulocytes%	10.36 $\pm$ 8.26	7.42 $\pm$ 3.36	12.05 $\pm$ 5.54
Monocytes%	1.66 $\pm$ 1.21	1.28 $\pm$ 0.70	2.10 $\pm$ 1
Hct %	32.66 $\pm$ 4.56	29.81 $\pm$ 4.81	32.83 $\pm$ 3.83
Hb (mg/ml blood)	116.27 $\pm$ 27.7	124.16 $\pm$ 15.5	120.17 $\pm$ 10.7
MCV (fl/cell)	94.60	79.32	88.87
MCH (pg/cell)	36.45	32.76	34.54
MCHC (g/100ml)	38.53	41.30	38.87

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙΙ : ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΤΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗΣ

Η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας σχετικά με την ανάλυση των αιματολογικών, βιοχημικών και ορμονολογικών παραμέτρων σε δύο βασικά είδη της εντατικής ιχθυοκαλλιέργειας, την τσιπούρα και το λαβράκι, κατέδειξε τόσο διαφορές στις τιμές των παραμέτρων αυτών ανάμεσα στις μελέτες – καθώς δεν υπάρχουν συγκεκριμένες τιμές αναφοράς για όλες τις παραμέτρους – όσο και διαφορές στις παραμέτρους στους ίδιους τους ιχθύες ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες που διαβιούν, τα διαφορετικά είδη και ποσότητες τροφής καθώς και χημικούς και φαρμακευτικούς παράγοντες που τυχόν τους επιβάλλονται.

Όσον αφορά στη μορφολογία των κυττάρων του περιφερειακού αίματος, οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί αναφέρουν πως το περιφερικό αίμα της τσιπούρας και του λαβρακίου αποτελείται από ώριμα και άωρα εμπύρηννα ερυθροκύτταρα καθώς και λευκοκύτταρα, όπου η πλειοψηφία των τελευταίων αποτελείται από λεμφοκύτταρα, ενώ στα λαβράκια τα ηωσινόφιλα υπάρχουν πιο σπάνια σε σχέση με την τσιπούρα. Ωστόσο, σημαντικές μεταβολές της φυσιολογικής μορφολογίας των ερυθροκυττάρων έχει βρεθεί σε λαβράκια που εκτέθηκαν σε συνθήκες ψύχους και ακραίων επιπέδων αλατότητας, καθώς επίσης και σε αυξημένες συγκεντρώσεις νιτρικών στο νερό της ιχθυοκαλλιέργειας. Ο φυσιολογικός αριθμός ερυθροκυττάρων κυμαίνεται από 2.7-3.2 ($10^6/\mu\text{L}$) στις τσιπούρες και από 2.8-3.6 ($10^6/\mu\text{L}$) στα λαβράκια, όμως διάφορες βιολογικές και περιβαλλοντικές παράμετροι μεταβάλλουν τον αριθμό αυτό. Η θερμοκρασία του νερού φαίνεται πως διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στις μεταβολές του αριθμού ερυθρών αιμοσφαιρίων και συγκεκριμένα διαπιστώνεται μείωση του αριθμού τους με την πτώση της θερμοκρασίας, καθώς αυξάνεται η διαλυτότητα του οξυγόνου στις συνθήκες αυτές, με αποτέλεσμα τη μειωμένη ανάγκη για μεταφορά οξυγόνου στους ιστούς των ιχθύων. Παρόμοια πτώση παρουσιάζουν και οι τιμές του αιματοκρίτη σε τσιπούρες και λαβράκια που διαβιούν σε πιο ψυχρά υδάτινα περιβάλλοντα, δηλαδή κατά τη διάρκεια του χειμώνα. Αλλαγές στο φυσιολογικό αριθμό των ερυθροκυττάρων παρατηρούνται επίσης με τις μεταβολές στην αλατότητα του νερού αλλά και σε συνάρτηση με το είδος τροφής που λαμβάνουν οι ιχθύες, καθώς και από τα βιομετρικά χαρακτηριστικά του κάθε ψαριού. Το αυξημένο στρες στις

τσιπούρες και τα λαβράκια των ιχθυοκαλλιεργειών φαίνεται επίσης πως οδηγεί σε μείωση του αριθμού των ερυθροκυττάρων και σε ελαττωμένο ιξώδες αίματος.

Ο αριθμός των λευκοκυττάρων στους ιχθύες αντανακλά την κατάσταση του ανοσοποιητικού τους συστήματος. Οι τιμές αναφοράς που προκύπτουν από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση κυμαίνονται 32-66 ($10^3/\mu\text{L}$) για τις τσιπούρες και 20-39 ($10^3/\mu\text{L}$) για τα λαβράκια, ωστόσο φαίνεται πως οι τιμές αυτές εμφανίζονται μειωμένες κατά τους χειμερινούς μήνες με τη μείωση της θερμοκρασίας του νερού, που καταδεικνύει τη μειωμένη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος των ιχθύων κατά τη διάρκεια του χειμώνα, γεγονός που υποστηρίζεται και από τα μειωμένα επίπεδα δραστηριότητας λυσοζύμης το χειμώνα. Ο αριθμός των λευκοκυττάρων φαίνεται πως επηρεάζεται επίσης και από την αλατότητα των υδάτων, αλλά και τη διατροφή των ιχθύων.

Όσον αφορά στα επίπεδα αιματοκρίτη και αιμοσφαιρίνης στις τσιπούρες και στα λαβράκια, παρατηρείται η εξάρτηση τους από τη θερμοκρασία και συγκεκριμένα υπάρχει αυξητική τάση κατά τη διάρκεια των θερινών μηνών που καταδεικνύει τη αυξημένη ερυθροποίηση λόγω της μείωσης του διαλυμένου οξυγόνου στο θερμότερο νερό. Μείωση των επιπέδων αιματοκρίτη και αιμοσφαιρίνης παρατηρείται επίσης σε συνθήκες οξέος στρες καθώς και σε συνθήκες ακραίας αλατότητας – πολύ μικρής ή πολύ μεγάλης – ενώ οι τιμές τους στην τσιπούρα και το λαβράκι εξαρτώνται επίσης από το μέγεθος των ιχθύων καθώς και από το είδος και την ποσότητα τροφής που λαμβάνουν.

Από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση, προκύπτει επίσης το γεγονός ότι οι βιοχημικές και ορμονολογικές παράμετροι στις τσιπούρες και τα λαβράκια εξαρτώνται από τις εποχιακές και περιβαλλοντικές μεταβολές, καθώς και από πλήθος άλλων παραγόντων όπως είναι η διατροφή, η λήψη συγκεκριμένων φαρμάκων, η έκθεση σε χημικούς και φαρμακευτικούς παράγοντες, η έκθεση σε στρεσογόνους παράγοντες που υπάρχουν στις ιχθυοκαλλιέργειες, ακόμα και η έκθεση σε ανθρωπογενείς θορύβους. Ιδιαίτερα όμως, η θερμοκρασία του νερού ανάλογα με την εποχή, όπως και η φωτοπερίοδος, επηρεάζουν τους βιοχημικούς δείκτες προκαλώντας σημαντικές μεταβολές στις τιμές τους. Η μείωση της θερμοκρασίας το χειμώνα επιφέρει αύξηση των επιπέδων γλυκόζης και κορτιζόλης, οι τιμές των οποίων είναι ενδεικτικές της πρόκλησης στρες στους ιχθύες λόγω της μειωμένης θερμοκρασίας των υδάτων. Η μειωμένη θερμοκρασία οδηγεί επίσης και σε αυξημένες τιμές της χοληστερόλης και

των τριγλυκεριδίων, πιθανώς λόγω του μειωμένου ρυθμού του μεταβολισμού κατά τη διάρκεια του χειμώνα.

Τα επίπεδα αλατότητας του νερού επίσης επηρεάζουν τους βιοχημικούς δείκτες στο αίμα των τσιπουρών και των λαβρακίων, ιδιαίτερα όταν τα επίπεδα αυτά διαφέρουν σημαντικά από τη συνήθη αλατότητα του θαλασσινού νερού. Παρατηρείται, λοιπόν, αύξηση των επιπέδων χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων καθώς και κορτιζόλης, ενώ σε πολύ χαμηλά επίπεδα αλατότητας παρατηρείται σημαντική μείωση των επιπέδων της γλυκόζης στο αίμα των συγκεκριμένων ιχθύων.

Το στρες που προκαλείται στα ψάρια από τις διάφορες πρακτικές της εντατικής ιχθυοκαλλιέργειας, διαδραματίζει επίσης σημαντικό ρόλο στις μεταβολές των τιμών των βιοχημικών και ορμονολογικών παραμέτρων στις τσιπούρες και τα λαβράκια. Συγκεκριμένα, το οξύ στρες φαίνεται πως αυξάνει σημαντικά τα επίπεδα κορτιζόλης, γλυκόζης και γαλακτικού οξέος στο αίμα των ιχθύων.

Τέλος, όπως προκύπτει από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση, οι βιοχημικές και ορμονολογικές παράμετροι στις τσιπούρες και τα λαβράκια επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από την διατροφή τους, την πυκνότητα της ιχθυοκαλλιέργειας, τους φαρμακευτικούς παράγοντες που τους χορηγούνται σε αυτές, καθώς και από χημικούς παράγοντες, όπως τα νιτρικά ή ο χαλκός, που βρίσκονται διαλυμένοι στο νερό σε αυξημένες συγκεντρώσεις εξαιτίας των διαφόρων πρακτικών που εφαρμόζονται στην εντατική ιχθυοκαλλιέργεια.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ IV : ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η υγεία και η ευημερία των ιχθύων, όπως είναι η τσιπούρα και το λαβράκι, στις εντατικές ιχθυοκαλλιέργειες, μπορεί να ελεγχθεί μέσω των αιματολογικών αναλύσεων. Οι διακυμάνσεις σε αιματολογικές, βιοχημικές και ορμονολογικές παραμέτρους του αίματος των ιχθύων εξαρτώνται άμεσα από βιολογικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες και δύναται να καταδείξουν προβλήματα στην υγεία των ιχθύων που προκύπτουν μέσα από την εφαρμογή διαφόρων πρακτικών της ιχθυοκαλλιέργειας, προτού τα συμπτώματα γίνουν εμφανή στα ψάρια. Επιπρόσθετα, οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στον τομέα αυτό και αναφέρθηκαν στα πλαίσια της παρούσας βιβλιογραφικής ανασκόπησης, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εργαλείο για την εφαρμογή βελτιστοποιημένων πρακτικών στις εντατικές ιχθυοκαλλιέργειες με στόχο τη βελτίωση της υγείας των ιχθύων και επακόλουθα την αύξηση της απόδοσης μίας ιχθυοκαλλιέργειας. Συμπερασματικά, με βάση τη μελέτη της διεθνούς βιβλιογραφίας, προτείνεται η εφαρμογή των ακόλουθων μέτρων και πρακτικών στις εντατικές ιχθυοκαλλιέργειες τσιπούρας και λαβρακιού:

- Εφαρμογή της πρακτικής της αιματοληψίας με όσο το δυνατόν περισσότερες παραμέτρους του αίματος προς ανάλυση, τακτικά αλλά όχι συχνά, προς αποφυγή πρόκλησης υπέρμετρου στρες.
- Προσπάθεια για μείωση πρακτικών που αποδεδειγμένα μέσω των αιματολογικών αναλύσεων (αύξηση κορτιζόλης και γλυκόζης) προκαλούν στρες στους ιχθύες, όπως είναι οι ακραίες μεταβολές στη θερμοκρασία των υδάτων, ο υπερβολικός συνωστισμός των ιχθύων στους κλωβούς, το κυνήγι με δίχτυ και οι συχνές μεταφορές και αλλαγές περιβάλλοντος.
- Εύρεση των κατάλληλων και ιδανικότερων διατροφικών σχημάτων, καθώς και φαρμακευτικών αγωγών και αναισθητικών ουσιών, που έχειδειχθεί από αιματολογικές μελέτες ότι είναι ασφαλή και συντελούν στην ευημερία των ιχθύων.
- Τακτικός έλεγχος του περιβάλλοντος διαβίωσης των ιχθύων, με έλεγχο της ποιότητας του νερού (χαμηλά νιτρικά, απουσία επιβλαβών βαρέων μετάλλων), της αλατότητας και της θερμοκρασίας του, καθώς και της ποσότητας του διαλυμένου οξυγόνου.

Τέλος, είναι πολύ σημαντική η συνέχιση και η πραγματοποίηση εκτενέστερων και ευρύτερων ερευνών και μελετών ως προς την αιματολογία των εντατικά εκτρεφόμενων ιχθύων, ώστε να υπάρξει καταγραφή των φυσιολογικών τιμών των αιματολογικών και βιοχημικών παραμέτρων στις τσιπούρες και τα λαβράκια και να μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως τιμές αναφοράς για την άμεση αναγνώριση διαταραχών που μπορεί να προκύψουν στα πλαίσια της εντατικής ιχθυοκαλλιέργειας και τον έγκαιρο έλεγχό τους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ❖ Abdelmalek, B.E., Driss, D., Kallel, F., Guargouri, M., Missaoui, H., Chaabouni, S.E., Ayadi, M.A. and Bougatef, A. (2015). Effect of xylan oligosaccharides generated from corncobs on food acceptability, growth performance, haematology and immunological parameters of *Dicentrarchus labrax* fingerlings. *Fish Physiology and Biochemistry*, 41(6), pp.1587–1596. doi:10.1007/s10695-015-0110-5
- ❖ Araujo R.L., Ribeiro L., Bergheim A., Soares F. and Pousao-Ferreira P. (2014). Physiological response of seabream when submitted to different levels of oxygen dissolved. AirX FP7 project results., Proceedings of AE conference (14 October 2014, San Sebastian, Spain), San Sebastian, 2014.
- ❖ Ballester-Lozano, G.F., Benedito-Palos, L., Estensoro, I., Sitjà-Bobadilla, A., Kaushik, S. and Pérez-Sánchez, J. (2015). Comprehensive biometric, biochemical and histopathological assessment of nutrient deficiencies in gilthead sea bream fed semi-purified diets. *British Journal of Nutrition*, 114(5), pp.713–726. doi:10.1017/s0007114515002354
- ❖ Berillis, P., Mente, E., Nikouli, E., Makridis, P., Grundvig, H., Bergheim, A. and Gausen, M. (2016). Improving aeration for efficient oxygenation in sea bass sea cages. Blood, brain and gill histology. *Open Life Sciences*, 11(1), pp.270–279. doi:10.1515/biol-2016-0028
- ❖ Brosowski, J. (n.d.). *Dicentrarchus labrax* (European bass). [online] Animal Diversity Web. Available at: https://animaldiversity.org/accounts/Dicentrarchus_labrax/
- ❖ Buscaino, G., Filiciotto, F., Buffa, G., Bellante, A., Stefano, V.D., Assenza, A., Fazio, F., Caola, G. and Mazzola, S. (2010). Impact of an acoustic stimulus on the motility and blood parameters of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Marine Environmental Research*, [online] 69(3), pp.136–142. doi:10.1016/j.marenvres.2009.09.004
- ❖ Caruso, G., Denaro, M.G., Caruso, R., Mancari, F., Genovese, L. and Maricchiolo, G. (2011). Response to short term starvation of growth, haematological, biochemical and non-specific immune parameters in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*). *Marine Environmental Research*, 72(1-2), pp.46–52. doi:10.1016/j.marenvres.2011.04.005
- ❖ Cheng, S. Y. and Chen, J. C. (2002). Accumulation of nitrate in the tissues of *Penaeus monodon* following elevated ambient nitrate exposure to combined elevated nitrite and nitrate. *Aquatic Toxicology*, 61, 181-193.
- ❖ Clauss TM, Dove AD, Arnold JE (2008) Hematologic disorders of fish. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*, 11(3) p:445-462.
- ❖ Cotou, E., Henry, M., Zeri, C., Rigos, G., Torreblanca, A. and Catsiki, V.-A. (2012). Short-term exposure of the European sea bass *Dicentrarchus labrax* to copper-based antifouling treated nets: Copper bioavailability and biomarkers responses. *Chemosphere*, 89(9), pp.1091–1097. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.05.075

- ❖ Douglass JW, Jane KW (eds.) (2010): Schalm's Veterinary Hematology. John Wiley and Sons, Blackwell Publishing Ltd.
- ❖ Esteban, M. Á., Muñoz, J., & Meseguer, J. (2000). Blood cells of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Flow cytometric and microscopic studies. *The Anatomical Record*, 258(1), 80–89.
- ❖ Faggio, C. (2014). Monthly variations of haematological parameters of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax* reared in Mediterranean land off-shore tanks. *Cahiers de Biologie Marine*. 55. 437-443.
- ❖ Fazio, F., Saoca, C., Fortino, G., Piccione, G., Zumbo, A. (2020). Seasonal biochemical changes in two aquaculture species *Sparus aurata* Linnaeus, 1758 and *Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758. *Iranian Journal Of Fisheries Sciences*. Available at: <http://jifro.ir/article-1-3019-en.pdf>
- ❖ Fazio, F., Ferrantelli, V., Piccione, G., Saoca, C., Levanti, M. and Mucciardi, M. (2018). Biochemical and hematological parameters in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758) and Gilthead sea bream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758) in relation to temperature. *Veterinarski arhiv*, 88(3), pp.397–411. doi:10.24099/vet.arhiv.170406c
- ❖ Fazio, F., Ferrantelli, V., Piccione, G., Saoca, C., Levanti, M., & Mucciardi, M. (2018). Biochemical and hematological parameters in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758) and Gilthead sea bream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758) in relation to temperature. *Veterinarski Arhiv*, 88(3), 397–411. <https://doi.org/10.24099/vet.arhiv.170406c>
- ❖ Fazio, F., Filiciotto, F., Marafioti, S., Di Stefano, V., Assenza, A., Placenti, F., Buscaino, G., Piccione, G. and Mazzola, S. (2012). Automatic analysis to assess haematological parameters in farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758). *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 45(1), pp.63–73. doi:10.1080/10236244.2012.677559
- ❖ Fazio, F., Marafioti, S., Arfuso, F., Piccione, G. and Faggio, C. (2013). Comparative study of the biochemical and haematological parameters of four wild Tyrrhenian fish species. *Veterinárni Medicína*, 58(No. 11), pp.576–581. doi:10.17221/7139-vetmed
- ❖ Fazio, F., Saoca, C., Casella, S., Fortino, G. and Piccione, G. (2015). Relationship between blood parameters and biometric indices of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax* cultured in onshore tanks. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 48(4), pp.289–296. doi:10.1080/10236244.2015.1041239
- ❖ Ferguson HW (2006) *Systemic Pathology of Fish: a text and atlas of normal tissues in teleosts and their responses in disease*. Scotian Press, 2nd Edition. Dalton House, 60 Windsor Avenue, London SW19 2RR, UK.
- ❖ Fernández-Borràs J. (2007). Metabolic rate and tissue reserves in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) under thermal fluctuations and fasting and their capacity for recovery. *Can J Fish Aquat Sci* 64:1034–1042. <https://doi.org/10.1139/f07-079>
- ❖ Filiciotto, F., Fazio, F., Marafioti, S., Buscaino, G., Maccarrone, V. & Faggio, C. (2012). Assessment of haematological parameters range values using an

- automatic method in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *NATURA RERUM* - 1 (2012): 29-36.
- ❖ fish-commercial-names.ec.europa.eu. (n.d.). *Dicentrarchus labrax*. [online] Available at: https://fish-commercial-names.ec.europa.eu/fish-names/species_el?sn=14427 [Accessed 16 Oct. 2022].
 - ❖ fish-commercial-names.ec.europa.eu. (n.d.). *Sparus aurata*. [online] Available at: https://fish-commercial-names.ec.europa.eu/fish-names/species_el?sn=34269 [Accessed 14 Oct. 2022].
 - ❖ Gregory T.R. (2013). Cell size-Fish erythrocyte sizes, Animal GenomeSize. <http://www.genomesize.com/cellsizes/fish.htm>
 - ❖ Horton T, Okamura B (2003) Post-haemorrhagic anaemia in sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.), caused by blood feeding of *Ceratomyxa oestroides* (Isopoda: Cymothoidae). *J Fish Dis*, 26(7) p:401-406
 - ❖ Huntingford F. A., Adams C., Braithwaite V. A., Kadri S., Pottinger T. G., Sandøe P. and Turnbull J. F. (2006). Current issues in fish welfare. *Journal of Fish Biology*, 60, 332-372.
 - ❖ Ibarz A, Blasco J, Sala-Rabanal M, Gallardo Á, Redondo A, Jennings, S. and M.G. Pawson. 1992. The origin and recruitment of bass, *Dicentrarchus labrax*, larvae to nursery areas. *Journal of the marine biological association of the UK* 72: p.199-212.
 - ❖ Jakiul Islam, M., James Slater, M., Thiele, R. and Kunzmann, A. (2021). Influence of extreme ambient cold stress on growth, hematological, antioxidants, and immune responses in European seabass, *Dicentrarchus labrax* acclimatized at different salinities. *Ecological Indicators*, 122, p.107280. doi:10.1016/j.ecolind.2020.107280
 - ❖ Lay P.A., Baldwin J. (1999). What determines the size of teleost erythrocytes? Correlations with oxygen transport and nuclear volume, *Fish Physiol. Biochem.*, 20, 31-35.
 - ❖ López-Ruiz, A., Esteban, M.A. and Meseguer, J. (1992). Blood cells of the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.): Light and electron microscopic studies. *The Anatomical Record*, 234(2), pp.161–171. doi:10.1002/ar.1092340203
 - ❖ Lotfy, A. (2021). A comparative study on the effects of seawater and underground saltwater on water quality, growth, feed utilization, fish biomass, digestive system development, and blood health in gilthead seabream, *Sparus aurata*. *AACL Bioflux*. 14. 1609-1621.
 - ❖ Lupi, P., Vigiani, V., Mecatti, M. and Bozzi, R. (2005). First haematic results for the sea bass (*Dicentrarchus labrax*) metabolic profile assessment. *Italian Journal of Animal Science*, 4(2), pp.167–176. doi:10.4081/ijas.2005.167
 - ❖ Machado, M., Castro, C., Oliva-Teles, A. and Costas, B. (2019). Interactive effects of dietary vegetable oil and carbohydrate incorporation on the innate immune response of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles subjected to acute stress. *Aquaculture*, 498, pp.171–180. doi:10.1016/j.aquaculture.2018.08.050
 - ❖ Maricchiolo, G., Caruso, G. and Genovese, L. (2008). Haematological and Immunological Responses in Juvenile Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.) After Short-Term Acute Stress. *The Open Fish Science Journal*, 1(1), pp.28–35. doi:10.2174/1874401x00801010028

- ❖ Marques, Ana & Marçal, Raquel & Pereira, Vitória & Pereira, Patrícia & Mieiro, Cláudia & Guilherme, Sofia & Marques, Carlos & Monteiro Santos, Maria Ana & Pereira, Rui & Abreu, Maria & Gaivão, Isabel & Pacheco, Mário. (2020). Macroalgae-enriched diet protects gilthead seabream (*Sparus aurata*) against erythrocyte population instability and chromosomal damage induced by aqua-medicines. *Journal of Applied Phycology*. 32. doi: 10.1007/s10811-019-01996-2
- ❖ Masroor, Waliullah & Farcy, Emilie & Gros, Romain & Lorin-Nebel, Catherine. (2017). Effect of combined stress (salinity and temperature) in European sea bass *Dicentrarchus labrax* osmoregulatory processes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 215. doi: 10.1016/j.cbpa.2017.10.019
- ❖ Matias, A.C., Ribeiro, L., Araujo, R.L. and Pousão-Ferreira, P. (2017). Preliminary studies on haematological and plasmatic parameters in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) held under day/night temperature variations. *Fish Physiology and Biochemistry*, 44(1), pp.273–282. doi:10.1007/s10695-017-0432-6
- ❖ Michail, G., Berillis, P., Nakas, C., Henry, M. and Mente, E. (2022). Haematology reference values for *Dicentrarchus labrax* and *Sparus aurata* : A systematic review and meta-analysis. *Journal of Fish Diseases*, 45(10), pp.1549–1570. doi:10.1111/jfd.13680
- ❖ Montero, D., Tort, L., Robaina, L., Vergara, J.M. and Izquierdo, M.S. (2001). Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Fish & Shellfish Immunology*, 11(6), pp.473–490. doi:10.1006/fsim.2000.0324
- ❖ Moon, T. (2001). Glucose intolerance in teleost fish: fact or fiction? *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 129, 243–249.
- ❖ Oddsson, G.V. (2020). A Definition of Aquaculture Intensity Based on Production Functions—The Aquaculture Production Intensity Scale (APIS). *Water*, 12(3), p.765. doi:10.3390/w12030765
- ❖ oeclass.aua.gr. Παραγωγή Υδροβίων Οργανισμών Κύρια εκτροφή ιχθύων - Εκτροφή τσιπούρας και λαβρακιού Τμήμα: Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής & Υδατοκαλλιεργειών Διδάσκουσα: Καρακατσούλη Ναυσικά. (n.d.). [online] Available at: https://oeclass.aua.gr/openeclass/modules/document/file.php/OCDASA101/zp_th_36_02.pdf [Accessed 17 Oct. 2022].
- ❖ Omlin, T., Weber, J. (2010). Hypoxia stimulates lactate disposal in rainbow trout. *J. Exp. Biol.* 213, 3802–3809.
- ❖ PagEes, T., Gomez, E., Suner, O., Viscor, G. and Tort, L. (1995). Effects of daily management stress on haematology and blood rheology of the gilthead seabream. *Journal of Fish Biology*, 46(5), pp.775–786. doi:10.1111/j.1095-8649.1995.tb01601.x
- ❖ Palstra, A.P., Roque, A., Kruijt, L., Jéhanet, P., Pérez-Sánchez, J. and Dirks, R.P. (2020). Physiological Effects of Water Flow Induced Swimming Exercise

- in Seabream *Sparus aurata*. *Frontiers in Physiology*, 11. doi:10.3389/fphys.2020.610049
- ❖ Pascoli, F., Lanzano, G.S., Negrato, E., Poltronieri, C., Trocino, A., Radaelli, G. and Bertotto, D. (2011). Seasonal effects on hematological and innate immune parameters in sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Fish & Shellfish Immunology*, 31(6), pp.1081–1087. doi:10.1016/j.fsi.2011.09.014
 - ❖ Pavlidis M, Futter WC, Katharios P, Divanach P (2007) Blood cell profile of six Mediterranean mariculture fish species. *J Appl Ichthyol*, 23(1) p:70-73.
 - ❖ Pavlidis, M., Futter, W.C., Katharios, P. and Divanach, P. (2007). Blood cell profile of six Mediterranean mariculture fish species. *Journal of Applied Ichthyology*, 23(1), pp.70–73. doi:10.1111/j.1439-0426.2006.00771.x
 - ❖ Peres, H., Santos, S. and Oliva-Teles, A. (2014). Blood chemistry profile as indicator of nutritional status in European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 40(5), pp.1339–1347. doi:10.1007/s10695-014-9928-5
 - ❖ Piferrer, F., M. Blazquez, L. Navarro, and A. Gonzalez. 2005. Genetic, endocrine, and environmental components of sex determination and differentiation in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *General and comparative endocrinology* 142: p.102–10.
 - ❖ Railo E, Nikinmaa M, Soivio A (1985) Effects of sampling of blood parameters in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J Fish Biol*, 26(6) p:725-732.
 - ❖ Roncarati, A., Melotti, P., Dees, A., Mordenti, O. and Angellotti, L. (2006). Welfare status of cultured seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) and seabream (*Sparus aurata* L.) assessed by blood parameters and tissue characteristics. *Journal of Applied Ichthyology*, 22(3), pp.225–234. doi:10.1111/j.1439-0426.2006.00741.x
 - ❖ Roque, A., Yildiz, H.Y., Carazo, I. and Duncan, N. (2010). Physiological stress responses of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) to hydrogen peroxide (H₂O₂) exposure. *Aquaculture*, 304(1-4), pp.104–107. doi:10.1016/j.aquaculture.2010.03.024
 - ❖ Rowley AF, Hunt TC, Page M, Mainwaring G (1988) Fish. In: Rowley AF, Ratcliffe NA, eds. *Vertebrate blood cells*. Cambridge University Press, Cambridge, pp 19-127
 - ❖ Sola, L., Moretti, A., Crosetti, D., Karaïskou, N., Magoulas, A., Rossi, A., Rye, M., Triantafyllidis, A. and Tsigenopoulos, C., (2006). Gilthead seabream - *Sparus aurata*, Proceedings of the WP1 workshop on Genetics of domestication, breeding and enhancement of performance of fish and shellfish, Viterbo, Italy, pp. 12–17.
 - ❖ species-identification.org. (n.d.). Marine Species Identification Portal : Gilthead - *Sparus aurata*. [online] Available at: http://species-identification.org/species.php?species_group=fnam&id=1906 [Accessed 15 Oct. 2022].
 - ❖ Tandler, Amos & Koven, Bill. (2009). Salinity & temperature effects on seabream (*Sparus aurata*). Control of malformations in fish aquaculture: science and practice. Retrieved from <https://feap.info/wp-content/uploads/2018/06/finefish.pdf>

- ❖ thefishsite.com. (n.d.). Hematology and Blood Chemistry for Fish Species. [online] Available at: <https://thefishsite.com/articles/hematology-and-blood-chemistry-for-fish-species> [Accessed 15 Nov. 2020].
- ❖ Tort L, Rotllant J, Rovira L. (1998). Immunological suppression in gilthead sea bream *Sparus aurata* of the North West Mediterranean at low temperature. *Comp Biochem Physiol A* 1998;120:175e9.
- ❖ Tort, L., Puigcerver, M., Crespo, S. and Padrós, F. (2002). Cortisol and haematological response in sea bream and trout subjected to the anaesthetics clove oil and 2-phenoxyethanol. *Aquaculture Research*, 33(11), pp.907–910. doi:10.1046/j.1365-2109.2002.00741.x
- ❖ Vectesi, D. & Kotzamanis, I. & Henry, Morgane & Vatsos, Ioannis. (2012). Haematological and immunological responses of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) to a short-term exposure to increased water levels of nitrate. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 11. 430-439.
- ❖ Vera, S., Donaldson, E.M., Farrell, A.P., Hara, T.J., Hew, C.L., William Stewart Hoar, Iwama, G., Johnston, I.A., Lauder, G.V., Teruyuki Nakanishi, Perry, S.F., David John Randall, Shadwick, R.E., Sherwood, N.M., Shuttleworth, T.J., Sloman, K.A., Steffensen, J.F., Tufts, B.L. and Adalberto Luís Val (1984). Fish physiology. Vol. 10, part A : Gills : anatomy, gas transfer and acid-base regulation.
- ❖ Viadero, R.C. (2005). Factors Affecting Fish Growth and Production. *Water Encyclopedia*. [online] doi:10.1002/047147844x.sw241
- ❖ Wassef, E., Saleh, N., Al-Zayat, A., Ashry, A. (2019). European seabass (*Dicentrarchus labrax*) performance, health status, immune response and intestinal morphology after feeding a mixture of plant proteins-containing diets. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 23(4), pp.77–91. doi:10.21608/ejabf.2019.52408
- ❖ Witeska, M., Kondera, E., Ługowska, K. and Bojarski, B. (2022). Hematological methods in fish – Not only for beginners. *Aquaculture*, 547, p.737498. doi:10.1016/j.aquaculture.2021.737498
- ❖ www.compassioninfoodbusiness.com/media/7447728/gilthead-seabream-in-numbers.pdf
- ❖ www.compassioninfoodbusiness.com/media/7447727/european-seabass-in-numbers.pdf
- ❖ www.fao.org. (n.d.). FAO Fisheries & Aquaculture. [online] Available at: https://www.fao.org/fishery/en/culturedspecies/Sparus_aurata [Accessed 14 Oct. 2022].
- ❖ www.fao.org. AQUACULTURE METHODS AND PRACTICES: A SELECTED REVIEW. [online] Available at: <https://www.fao.org/3/t8598e/t8598e05.htm>
- ❖ www.fao.org/fishery/culturedspecies/Dicentrarchus_labrax
- ❖ www.fishbase.se/summary/1164
- ❖ www.gbif.org/species/165479506
- ❖ www.marinespecies.org. (n.d.). WoRMS - World Register of Marine Species - *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). [online] Available at: <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=126975>

- ❖ Yildiz, H.Y. and Altunay, S. (2010). Physiological stress and innate immune response in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) exposed to combination of trimethoprim and sulfamethoxazole (TMP-SMX). *Fish Physiology and Biochemistry*, 37(3), pp.401–409. doi:10.1007/s10695-010-9440-5
- ❖ Zanuy, S. and Carrillo, M. (1985). Annual cycles of growth, feeding rate, gross conversion efficiency and hematocrit levels of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) adapted to two different osmotic media. *Aquaculture*, 44(1), pp.11–25. doi:10.1016/0044-8486(85)90038-9
- ❖ Zarantonello, M., Bortoletti, M., Olivotto, I., Ratti, S., Poltronieri, C., Negrato, E., Caberlotto, S., Radaelli, G. and Bertotto, D. (2021). Salinity, Temperature and Ammonia Acute Stress Response in Seabream (*Sparus aurata*) Juveniles: A Multidisciplinary Study. *Animals*, 11(1), p.97. doi:10.3390/ani11010097
- ❖ Καββαδίας, Σ. (1994). «Αιματολογικές και βιοχημικές μελέτες στο λαβράκι το ευρωπαϊκό *Dicentrarchus labrax* L σε σχέση με αβιοτικές παραμέτρους του θαλασσινού νερού και το σιτηρέσιο».
- ❖ Καπαρελιώτης, Α. (1997). «Σημειώσεις φυσιολογίας ιχθύων».
- ❖ Κλαουδάτος Δ.Σ και Κλαουδάτος Σ.Δ., 2012. Καλλιέργειες φυτικών και εκτροφές υδρόβιων ζωικών οργανισμών. Εκδόσεις ΠΡΟΠΟΜΠΟΣ. 3:228-241.
- ❖ Κουφός, Σ., Βορεινάκης, Φ. (1994). «Η αιματολογία στην τσιπούρα (*Sparus aurata*) και στο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*)».
- ❖ Μπακόπουλος Β. (2017) Σημειώσεις Διδασκαλίας, Πανεπιστήμιο Μυτιλήνης, Τμήμα
- ❖ Νεοφύτου Χ. (2015). Βιολογία ιχθύων και θαλάσσιων θηλαστικών University studio press pp 225.
- ❖ Οικονομίδης Π.Σ. (1997) Ζωολογία ΙΙ, Πρωτοχορδωτά και Ιχθύες, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη.

ABSTRACT

The gilt-head bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) are two of the most common species in intensive fish farms and their health and well-being – which are directly dependent on the quality of the aquatic environment they live in as well as the practices applied in fish farms – are critical factors for their successful rearing. The blood components and parameters of gilt-head bream and sea bass – biochemical and hormonal – can be used as indicators of their good health as well as diagnostic and prognostic factors of diseases and a measure of the stress they experience by the intensive farming practices. The studies that have been carried out so far show that the normal values of the blood parameters in gilt-head bream and sea bass are disturbed by a number of environmental and biological factors, such as the size of the fish, the temperature and salinity of the water, the photoperiod, the quality of the water, as well as factors dependent on aquaculture practices, such as the degree of fish stocking, feeding regimens, and various pharmaceutical and chemical agents used. The purpose of this thesis is to review the studies that have been carried out worldwide in order to find the normal values of the hematological parameters of these two marine species, as well as their changes in relation to biological and environmental factors, with the aim of using them as valuable tools in the development and prosperity of intensive fish farms.

Keywords: *Sparus aurata*, *Dicentrarchus labrax*, Intensive Fish Farming, Blood Parameters