

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

**ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**<<Αξιολόγηση μεθόδων συλλογής και ποιοτικών χαρακτηριστικών της
βλέννας του Πνευμονοφόρου Γαστερόποδου *Cornu aspersum*
aspersum>>**

Χαρίκλεια Λύκα

Βόλος 2025

**<<Αξιολόγηση μεθόδων συλλογής και ποιοτικών χαρακτηριστικών της βλέννας
του Πνευμονοφόρου Γαστερόποδου *Cornu aspersum aspersum*>>**



Τριμελής εξεταστική επιτροπή :

1. **Μαριάνθη Χατζηιωάννου**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Επιβλέπουσα***,
2. **Δημήτριος Βαφείδης**, Καθηγητής, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Μέλος***,
3. **Δημήτριος Κλαουδάτος**, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ***Μέλος***.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα προπτυχιακή διπλωματική διατριβή παρουσιάζεται ένα πρωτόκολλο συλλογής βλέννας από το είδος σαλιγκαριού *Cornu aspersum aspersum*, το οποίο προκύπτει από μία εργαστηριακή μελέτη συλλογής βλέννας αυτού του γαστερόποδου , με στόχο την αξιολόγηση και σύγκριση μεθόδων συλλογής βλέννας καθώς και την ποιοτική αλλά και ποσοτική ανάλυση αυτής. Η συγκεκριμένη έρευνα περιλαμβάνει μία γενικότερη βιβλιογραφική επισκόπηση της σαλιγκαροτροφίας, των συστημάτων εκτροφής και της βιολογίας του υπό μελέτη είδους , καθώς παράλληλα δίνεται έμφαση στην σημασία της βλέννας και των συστατικών της στην φαρμακευτική, την βιοτεχνολογία και τα καλλυντικά.

Το πειραματικό μέρος της διατριβής αυτής, περιλαμβάνει την εφαρμογή τριών διαφορετικών μεθόδων συλλογής βλέννας από 15 σαλιγκάρια για τα οποία πραγματοποιήθηκε διαλογή βάσει των ποσοτικών χαρακτηριστικών τους. Αυτές οι μέθοδοι, είναι η φυσική κίνηση σε γυάλινη επιφάνεια και έκκριση, η μηχανική όχληση με σπάτουλα και η όχληση με βελόνα. Επιπλέον, αξιολογήθηκε και η χρήση διαλύματος αλατόνερου σε αναλογία 1:3 για την διεγερση έκκρισης , όπου ήταν εν τέλει και η μέθοδος στην οποία βασίστηκε η πειραματική έρευνα. Η συλλεγόμενη βλέννα, μετρήθηκε ως προς την ποσότητα, ενώ αξιολογήθηκε και ως προς τα χαρακτηριστικά της και την ποιότητά της με την χρήση της μεθόδου της χρωματομετρίας.

Τα αποτελέσματα, έδειξαν διακυμάνσεις στην αποτελεσματικότητα της κάθε μεθόδου, ενώ η ανάλυση της βλέννας ανέδειξε τόσο την αντιμικροβιακή όσο και την αντικαρκινική της δράση και παράλληλα διαπιστώθηκε και η δυνατότητά της να χρησιμοποιηθεί ως μέσο μεταφοράς φαρμακευτικών ουσιών.

Λέξεις-κλειδιά : *Cornu aspersum aspersum*, Σαλιγκαροτροφία, Βλέννα, Χρωματομετρία, Μέθοδοι συλλογής , Ποιότητα βλέννας, Πρωτόκολλο συλλογής.

Περιεχόμενα

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1.1 Η σαλιγκαροτροφία στην Ελλάδα (Heliculture , snail farming)	8
1.2 Συστήματα εκτροφής	9
1.2.1 Εκτροφή ανοιχτού τύπου- Εκτατική εκτροφή	9
1.2.2 Εκτροφή κλειστού τύπου - εντατική εκτροφή	12
1.2.3 Επικρατέστερο σύστημα εκτροφής στην Ελλάδα	15
1.3 Cornu aspersum aspersum	16
1.3.1 Προέλευση του ονόματος	16
1.3.2 Συστηματική κατάταξη του είδους	17
1.3.3 Περιγραφή του είδους	18
1.3.4 Βιότοπος και γεωγραφική εξάπλωση	19
1.3.5 Αναπαραγωγικό σύστημα	20
1.3.6 Πεπτικό σύστημα	22
1.3.7 Οικολογικός ρόλος	23
1.3.8 Οικονομική σημασία	24
1.4 Βλέννα και βλεννίνες του Cornu aspersum	25
1.4.1 Η βλέννα και ο ρόλος της	25
1.4.2 Η βλέννα ως αντιμικροβιακός παράγοντας	26
1.4.3 Η βλέννα ως αντι-ογκολογικός παράγοντας	27
1.4.4 Η βλέννα ως φορέας φαρμάκων	27
1.4.5 Η βλέννα στην κοσμετολογία	30
1.4.6 Οι βλεννίνες και ο ρόλος τους	31
1.4.7 Κατηγορίες βλέννας και βλεννίνων	32
1.5 Σκοπός	34
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	35
2.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	35
2.1.1 Προέλευση ζώων	35
2.1.2 Δοκιμές σε πειραματικές πτυχές συλλογής βλέννας	35
2.2 Περιγραφή πειραματικής μελέτης	36
2.3 Διαδικασία-Εκτέλεση Πειράματος	37
2.3.1 Προετοιμασία σαλιγκαριών και ψεκασμός με αλατόνερο	37
2.3.2 Συλλογή βλέννας	39
2.3.3 Ανάλυση ποσοτικών χαρακτηριστικών βλέννας	40
2.4 Χρωματόμετρο και ανάλυση	41
2.5 Παρατηρήσεις πειραματικής έρευνας	43
2.6 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων πειράματος	44
3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	46
3.1 Καταγραφή μορφομετρικών χαρακτηριστικών (μάζα σώματος-μέγεθος κελύφους, όγκος βλέννας/άτομο).	46
3.2 Ποσοτικά χαρακτηριστικά βλέννας	47
3.3 Στατιστική ανάλυση για Μάζα βλέννας/ Υγρή μάζα σαλιγκαριών (gr) και για Όγκο βλέννας/Υγρή μάζα σαλιγκαριών (ml)	49
3.3 Ανάλυση ποιότητας συλλεγόμενης βλέννας	54
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	56
5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	61
6. ABSTRACT	64
BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	65

Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία : -----	65
Ελληνόγλωσση βιβλιογραφία: -----	66

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ



Εικόνα 1.1: Garden snail (*Cornu aspersum*) on Limonum (Πηγή : <http://pdphoto.org/>).

1.1 Η σαλιγκαροτροφία στην Ελλάδα (Heliculture , snail farming)

Τις τελευταίες δεκαετίες, έχει παρατηρηθεί μέσω πολλών συνεχόμενων ερευνών, ότι έχει αυξηθεί σε σημαντικό βαθμό το ενδιαφέρον για την εκτροφή των σαλιγκαριών, καθώς συντελεί τόσο στην οικονομία , όσο και στην ανάπτυξη καινοτόμων επιχειρήσεων (Χατζιωάννου 2007). Μάλιστα, η εκτροφή σαλιγκαριών συνδέεται στενά με μία βιώσιμη και αρκετά κερδοφόρα γεωργική δραστηριότητα, καθώς αναπτύσσεται σε αρκετές ευρωπαϊκές χώρες (Charrier 1980, Bailey 1981, Ennee κ.α 1982). Βέβαια, ενώ το ενδιαφέρον για την εκτροφή σαλιγκαριών ολοένα και αυξανόταν, ειδικότερα τις δεκαετίες του '70 και του '80, τόσο το ξηροθερμικό κλίμα της Ελλάδας όσο και η έλλειψη γνώσεων των υποψήφιων παραγωγών, κατέληξε να εμποδίσει την εκτροφή σε μεγάλο βαθμό. Επιπρόσθετα, είναι πολύ σημαντικό να επισημάνουμε ότι από την Παλαιολιθική Εποχή έως και την Εποχή του χαλκού, τα μαλάκια αποτέλεσαν πολύτιμο διατροφικό παράγοντα, ενώ κατά την Προϊστορική Εποχή του Αιγαίου,

υπήρξε διατροφική προτίμηση σε ορισμένα είδη οστράκων, κυρίως θαλασσινών αλλά και στο χερσαίο γαστερόποδο *Helix*. Το γαστερόποδο *Helix*, ή κοινώς κοχλίας , αποτελεί εκλεκτό έδεσμα της Κρήτης , όχι μόνο της ιδιαίτερης γεύσης αλλά και της πρωτεΐνης που παρέχει (Χατζηιωάννου 2014). Για να γίνω πιο σαφής, το είδος *Cornu aspersum* όπως και το υποείδος *Cornu aspersum aspersum*, αποτελούν ένα από τα πιο σπουδαία και διαδεδομένα εκτρεφόμενα είδη σαλιγκαριών στην Ελλάδα και σε αρκετές ακόμη Ευρωπαϊκές χώρες (Parlapani, Neofytoy and Boziaris 2014). Επιπρόσθετα, η διάθεση των εκτρεφόμενων σαλιγκαριών απαιτεί κάλλιστη γνώση του προϊόντος σε συνδυασμό με έρευνα αγοράς, καθώς αυτό το είδος ανήκει στην κατηγορία Gourmet με περιορισμένη και εξειδικευμένη ζήτηση. Παρόλα αυτά , οι προοπτικές εκτροφής στην Ελλάδα, είναι θετικές λόγω της μείωσης φυσικών πληθυσμών, της αυξανόμενης ζήτησης, της διατροφικής τους αξίας και των κατάλληλων κλιματικών συνθηκών. (Νεοφύτου 2013). Τέλος , στην χώρα μας, τις τελευταίες δεκαετίες η κατανάλωση αλλά και η παραγωγή του σαλιγκαριού είναι πολύ σημαντική, καθώς το είδος αυτό αποτελεί ένα ιδιαίτερο τροφικό είδος, ενώ παράλληλα μέρος της παγκόσμιας σαλιγκαροτροφίας διατίθεται τόσο σε φαρμακοβιομηχανίες όσο και σε εταιρείες καλλυντικών (Χατζηιωάννου 2014).

1.2 Συστήματα εκτροφής

1.2.1 Εκτροφή ανοιχτού τύπου- Εκτατική εκτροφή

Η μέθοδος αυτήν, συμπεριλαμβάνει την εκτροφή των ατόμων σαλιγκαριών σε καταλλήλως διαμορφωμένο χώρο (πχ χωράφι) ή γενικότερα σε περιφραγμένα

αγροκτήματα, όπου υπάρχει η δυνατότητα καλλιέργειας φυτών, τα οποία θα καταναλωθούν από τα σαλιγκάρια της εκτροφής. Σύμφωνα με αυτόν τον τρόπο εκτροφής, διαμορφώνονται ξεχωριστοί χώροι για την διαδικασία της αναπαραγωγής και της πάχυνσης, εκ των οποίων οι εκτάσεις κυμαίνονται από 2 έως 5 στρέμματα, ενώ εάν πρόκειται για μεγάλες εκμεταλλεύσεις μπορεί να ξεπεράσουν και τα 20 στρέμματα. Σε αυτούς τους χώρους λοιπόν, η ανάπτυξη των σαλιγκαριών γίνεται είτε με φυτά που βρίσκονται στο εκτροφείο είτε με φύλλα που χορηγούνται νωπά. Ο ιταλικός τύπος εκτροφής ή κοινώς ανοιχτός, είναι ο πιο παλιός και ο πιο διαδεδομένος, ενώ το Γαλλικό σύστημα ή κοινώς μικτό περιλαμβάνει περιφραγμένους χώρους για την πάχυνση (Forte et al. 2016). Σύμφωνα με τα τελευταία διαθέσιμα στοιχεία που δίνει το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων στην Ελλάδα (Anonymus 2012), το 57% των εκτροφείων στην Ελλάδα από τα συνολικά 131 είναι ανοιχτού τύπου, ενώ το 43% είναι κλειστού τύπου (Apostolou K. et al. 2021).

Όσον αφορά την κατασκευή αυτών των χώρων, ειδικότερα την εξωτερική περίφραξη, μπορεί να είναι είτε απλή (συρματοπλέγμα), είτε πιο ανθεκτική (τοιχος, μπετόν, ανοξείδωτη λαμαρίνα). Συγκεκριμένα, χρησιμοποιούμε λαμαρίνα για την αποφυγή τρωκτικών, δίχτυ για την αποτροπή διαφυγής, ενώ προετοιμάζουμε το έδαφος με όργωμα (30-50cm κάτω από το έδαφος), φρεζάρισμα, απολύμανση και τέλος τοποθετούμε συστήματα άρδευσης με σωλήνες και μπεκ τεχνητής βροχής. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι το σύστημα άρδευσης που θα τοποθετηθεί από τον εκτροφέα θέλει ιδιαίτερη προσοχή, αφού από αυτό θα εξαρτηθεί η διατήρηση της εδαφικής και ατμοσφαιρικής υγρασίας, χωρίς παράλληλα όμως να δημιουργείται λάσπη στο έδαφος, διότι τα σαλιγκάρια θα παγιδευτούν σε αυτήν (Χατζηιωάννου και Στάικου 2015).

Επιπρόσθετα, σχετικά με την διατροφή, τα σαλιγκάρια θα πρέπει να τρέφονται κατά 90% με φυτά, όπως είναι η τσουκνίδα, η μολόχα, το λάχανο, το τριφύλλι και κατά 10% με αρωματικά φυτά, όπως η δάφνη, ροσμαρί τα οποία ενισχύουν την γεύση του κρέατος.. Λόγω όμως της πιθανής έλλειψης βλάστησης, απαιτείται εφεδρική καλλιέργεια ή συμπλήρωση με σύνθετη τροφή (Στραβοκέφαλος 2014).

Τα σαλιγκάρια ζευγαρώνουν την άνοιξη, γεννώντας 40-120 αυγά, τα οποία εκκολάπτονται σε 12-13 ημέρες. Έπειτα, έρχεται η πάχυνση, δηλαδή η διαδικασία κατά την οποία τα σαλιγκάρια μεγαλώνουν, ώστε να φτάσουν στο επιθυμητό μέγεθος και βάρος για πώληση η οποία διαρκεί 12-15 μήνες, αναλόγως τις συνθήκες και την διατροφή. Έπειτα, αφού ολοκληρωθεί το στάδιο της πάχυνσης, ακολουθεί η συγκομιδή των σαλιγκαριών (ηλικία 12-15 μηνών), τα οποία στεγνώνουν, συσκευάζονται και τέλος πωλούνται. Πρώτον, αυτά που πωλούνται νωπά, τοποθετούνται σε αεριζόμενα κλουβιά για 4 ημέρες για καθαρισμό και στην συνέχεια καθαρίζονται και εξωτερικά. Δεύτερον, αυτά που συλλέγονται, εφόσον φυσικά αφαιρεθούν τα νεκρά άτομα τοποθετούνται σε ξύλινα κιβώτια ή σε πλαστικά και συσκευάζονται για πώληση λιανικής ή χονδρικής (Χατζηιωάννου και Στάϊκου 2015).

Τέλος, η εκτροφή ανοιχτού τύπου, απαιτεί μικρότερο κεφάλαιο επένδυσης και κόστος παραγωγής, και για αυτόν τον λόγο προτιμάται από τους εκτροφείς. (Χατζηιωάννου 2015 Forte et al. 2016). Παρόλα αυτά, έχει πιο αργό ρυθμό ανάπτυξης, αυξάνοντας τον χρόνο μέχρι την εμπορική αξιοποίηση, ενώ επηρεάζεται περισσότερο από τις καιρικές συνθήκες και τους φυσικούς εχθρούς. Μάλιστα είναι πολύ σημαντικό να επισημανθεί, πως μέσω ερευνών έχει αποδειχθεί ότι το *Cornu aspersum* είναι ένα από τα είδη που λόγω της προσαρμοστικότητας και της ανθεκτικότητάς του, επιλέχθηκε από τα πρώτα για την ανοιχτή εκτροφή. (Χατζηιωάννου και Στάϊκου 2015).



Εικόνα 1.2 : Ανοιχτή εκτροφή σε αγρόκτημα με διχτυοκήπιο (Πηγή : <https://basilakakis.gr/>).

1.2.2 Εκτροφή κλειστού τύπου - εντατική εκτροφή

Η μέθοδος αυτήν, συμπεριλαμβάνει την εκτροφή των σαλιγκαριών σε κατάλληλο και επί το πλείστον διαμορφωμένο και καλυμμένο χώρο (πχ δικτυοκήπιο). Σε αυτούς τους χώρους, δεν είναι υποχρεωτική η ύπαρξη βλάστησης, όμως υπάρχουν κατάλληλα καταλύματα και παρουσιάζει υψηλή παραγωγή (Apostoloy K. et al.2021). Συγκεκριμένα, αναφερόμαστε κυρίως σε κλειστούς χώρους, όπου ελέγχονται όλοι οι παράγοντες που επηρεάζουν την εκτροφή (πχ θερμοκρασία, υγρασία, φωτισμός), αλλά και σε εγκαταστάσεις με δίχτυ, όπου η εκτροφή επιτυγχάνεται με διχτυοκήπια και εκεί οι συνθήκες είναι μερικώς ελεγχόμενες. Και στις δύο περιπτώσεις, η διατροφή είναι παρόμοια και περιλαμβάνει κατά κύριο λόγο την χορήγηση σύνθετων ζωοτροφών, όπως είναι πίτουρα σταριού, καλαμπόκι, σογιάλευρο, χαρουπάλευρο, μαρμαρόσκονη, φωσφορικά άλατα κ.α. Τα σαλιγκάρια, σε ένα γενικότερο πλαίσιο, έχουν μεγάλες διατροφικές ανάγκες σε ασβέστιο (Ca^{+}), το οποίο συντελεί στην ανάπτυξη του κελύφους και έτσι πρέπει να χορηγούνται τροφές πλούσιες σε αυτό.

Αναφέροντας τα στάδια αναπαραγωγής ένα προς ένα και ξεκινώντας προφανώς με τους

γεννήτορες, πρέπει να σημειωθεί ότι εκεί χορηγούνται πρωτεΐνες, ενέργεια, ασβέστιο , μέταλλα και βιταμίνες (A,D,E).Έπειτα, στα νεογνά χορηγείται τροφή με γλουτένη πιο εύπεπτη , ακόμη και γαλακτοκομικά , ζαχαρίνες και ασβέστιο σε λεπτή άλεση, Τέλος, κατά το στάδιο της πάχυνσης χορηγούνται τροφές πλούσιες σε ιχνοστοιχεία, ασβέστιο και πρόσθετα κατά των παθογόνων σε μορφή αλεύρου ή κόκκου (Χατζηιωάννου και Στάικου, 2015, Θεοδώρου 2018), ενώ τρέφονται και με νεκρή φυτική ουσία και χλωρά φυτά, όπως βλαστούς και έτσι προκαλούν ζημιές σε φυτά-εχθρούς που προσβάλλουν (Βαρδινογιάννη et.al. 2009).

Μάλιστα, όσον αφορά την προετοιμασία του εδάφους για την εκτροφή των σαλιγκαριών, περιλαμβάνει όργωμα, φρεζάρισμα, καταπολέμηση ζιζανίων , απολύμανση, μυοκτονία και βελτίωση αποστράγγισης. Συγκεκριμένα, ο σκελετός του θερμοκηπίου θα πρέπει να είναι μεταλλικός, οι λαμαρίνες που χρησιμοποιούνται στο έδαφος να εισχωρούν σε αυτό κατά 30-50cm (για προστασία από θηρευτές), το δίχτυ σκίασης να καλύπτει κατά 90-95% (για σχεδόν πλήρης προστασία από τον ήλιο και τα πουλιά), το σύστημα υδρονέφωσης από μπεκ να είναι δυνατό για την διατήρηση της υγρασία του εδάφους και τέλος τα εσωτερικά πάρκα που θα κατασκευαστούν να περιλαμβάνουν ηλεκτρικό σύστημα χαμηλής τάσης αποτροπής εξόδου των σαλιγκαριών (Χατζηιωάννου και Στάικου, 2015).

Τα διχτυοκήπια, χωρίζονται σε διάφορα διαμερίσματα και χώρους και ο κάθε χώρος είναι για μία διαφορετική λειτουργία. Συγκεκριμένα, χωρίζονται σε διαμερίσματα αναπαραγωγής και πάχυνσης και αυτά τα διαμερίσματα περιλαμβάνουν καταφύγια, τα οποία είναι ουσιαστικά ξύλινες φωλιές για τα σαλιγκάρια, καθώς και ταΐστρες για την διατροφή τους.

Τα συστήματα εκτροφής σαλιγκαριών μπορεί να συνδυαστούν. Συγκεκριμένα, τα

κλειστά και τα μικτά συστήματα προσφέρουν υψηλή παραγωγικότητα και μικρότερη εξάρτηση από εξωτερικούς παράγοντες, με ποικιλία στο κόστος επένδυσης και παραγωγής, με αυτό να εξαρτάται από την τροφή και την διαχείριση των ατόμων που εκτρέφονται (Daguzan, 1985; Dupont – Nivet et al., 2000; Hatziiioannou et al., 2014; Χατζηιωάννου και Στάικου, 2015; Apostolou et al., 2016). Σε τέτοιου είδους εκτροφές, ένας θάλαμος αναπαραγωγής 70-100τ.μ καλύπτει γόνο για έως και 5 στρέμματα. Μάλιστα, το δάπεδο είναι ανθεκτικό και περιλαμβάνει αποχέτευση για καθαρισμό, ενώ οι κήποι αδιαβροχοποιούνται. Επιπρόσθετα, το σύστημα θέρμανσης, ψύξης και υγρασίας, εξαρτάται από τα υλικά κατασκευής, τις κλιματικές συνθήκες και το κόστος. Ο εξαερισμός ελέγχεται με χρονοδιακόπτη ενώ ο φωτισμός επιτυγχάνεται με λάμπες ψυχρού φωτισμού, τοποθετημένες στην οροφή και τους τοίχους κλωβών αναπαραγωγής, με ξεχωριστούς χρονοδιακόπτες. Επίσης, στους βοηθητικούς χώρους, όπως ο προθάλαμος και ο χώρος διαχείρισης γόνου, υπάρχουν πάγκοι εργασίας, νεροχύτης με διπλή γούρνα και αποθηκευτικοί χώροι για εργαλεία και αναλώσιμα (Χατζηιωάννου και Στάικου, 2015).

Οι ταΐστρες, οι ποτίστρες και τα καταφύγια παρέχουν αφενός τροφή και αφετέρου χώρο κίνησης στα σαλιγκάρια. Τα αυγά τοποθετούνται σε δοχεία με χώμα ή ροκανίδι και μεταφέρονται στο εκκολαπτήριο. Μετά την εκκόλαψη, ο γόνος μεταφέρεται σε κλωβούς προπαχύνσης, ενώ εάν η πάχυνση γίνεται στο ίδιο κτήριο, τότε χρησιμοποιούνται ειδικοί κλωβοί ή κλωβοί αναπαραγωγής. Μάλιστα, η διάρκεια του κύκλου παραγωγής στην εκτροφή στηρίζεται στον βιολογικό κύκλο των εκτρεφόμενων ειδών και στις κλιματολογικές συνθήκες της περιοχής εκμετάλλευσης (Daguzan et al., 1985; Staikou et al., 1989; Bonnet et al., 1990; Dupont-Nivet et al., 2000; Gogas et al., 2003; Hatziiioannou et al., 2014; Ligaszewski et al., 2014; Forte et al., 2016).

Τέλος , για τους γόνους, υπάρχουν οι θάλαμοι χειμέριας νάρκης και θερινής νάρκης , βάσει των οποίων συντηρούνται τα σαλιγκάρια και εγκλιματίζονται οι γεννήτορες και είναι εξειδικευμένοι σε σταθερές συνθήκες (4 εποχές). Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί επαγγελματικό ψυγείο και κλίβανος, τοποθετώντας τα σαλιγκάρια σε αποθήκη ή προθάλαμο της μονάδας αναπαραγωγής (Χατζηιωάννου και Στάικου 2015).



Εικόνα 1.3: Εσωτερικό διχτυοκηπίου της μονάδας εκτροφής του *C. apersum* (Πηγή : Χατζηιωάννου & Στάικου 2015).

1.2.3 Επικρατέστερο σύστημα εκτροφής στην Ελλάδα

Το πιο διαδεδομένο και επικρατές σύστημα εκτροφής σαλιγκαριών στην Ελλάδα και όχι μόνο είναι το ανοιχτό-εκτατικό σύστημα εκτροφής , διότι είναι πιο οικονομικός σχεδιασμός του και τα σαλιγκάρια δραστηριοποιούνται υπό φυσιολογικές συνθήκες,, ενώ παράλληλα τα σαλιγκάρια έφταναν σε μέγεθος εμπορεύσιμο (Χατζηιωάννου και Στάικου 2015). Μάλιστα, εκτός των άλλων, δεν απαιτείται τεχνητός έλεγχος της θερμοκρασίας και υγρασίας όπως στους κλειστούς θαλάμους, ενώ η διαχείριση, η συντήρηση και η φροντίδα των σαλιγκαριών είναι πιο λιτή και δεν απαιτεί εξειδικευμένες γνώσεις από τους εκτροφείς. Βέβαια, λόγω του πολύ χαμηλού ρυθμού ανάπτυξης και της χαμηλότερης απόδοσης του , κάποιοι εκτροφείς ίσως προτιμούν το

ημιεντατικό σύστημα, το οποίο προσφέρει υψηλότερη παραγωγικότητα και γρηγορότερη ανάπτυξη με μετρίου επιπέδου κόστος (Αποστόλου, 2021 , Χατζηιωάννου και Στάικου 2015).

1.3 Cornu aspersum aspersum

1.3.1 Προέλευση του ονόματος

Το όνομα του *Cornu aspersum* τελειοποιήθηκε από τον Muller 1774, μετά από αρκετές διαφοροποιήσεις του. Για να γίνουμε πιο σαφής, αρχικά περιγράφηκε για πρώτη φορά ως *Helix aspersa* (<<κηλιδωμένο>> ή <<διάστικτο>> σαλιγκάρι). Στην συνέχεια ο Born (1778), έδωσε το όνομα *Cornu Copiae* σε ένα βαθμωτό δείγμα του είδους. Το γένος *Helix*, γενικότερα θεωρούνταν από τότε έως και σήμερα ευρέως ακατάλληλο διότι έχει αρκετές διαφορές στην δομή της αναπαραγωγικής συσκευής. Από την άλλη, ένα αξιοσημείωτο πλήθος επιστημόνων, θεωρούν ότι το *C. aspersum* δεν είναι διαθέσιμο, καθώς βάσει του Διεθνή Κώδικα Ζωολογικής ονοματολογίας (ICZN, 1999), άρθρο 1.3.2 εξαιρούνται ονομασίες που βασίζονται σε τερατολογικά δείγματα. Ωστόσο, η πρόσφατη τάση των μαλακολόγων ήταν να θεωρούν το όνομα *Cornu* ονοματολογικά διαθέσιμο (Falkner et al. 2001, Anderson 2005). Το ζήτημα αυτό επιλύθηκε το 2015 με την γνώμη 2354 της Διεθνούς Επιτροπής για την Ζωολογική ονοματολογία (ICZN, 2015), η οποία με απάντηση αίτησης του Cowie , έκρινε σύμφωνα με τα άρθρα 78.23 και 80.21 πως η διατύπωση του άρθρου 13.2 να ερμηνευτεί για να επιβεβαιώσει την ονοματολογική διαθεσιμότητα του *Cornu Born*, 1778 για ένα γένος χερσαίων σαλιγκαριών (οικογένεια Helicidae), που βασίστηκε σε ένα τερατολογικό δείγμα του *Helix aspersa* Muller, 1774. Επομένως, το σωστό όνομα για αυτό το είδος

είναι το '*Cornu aspersum*' και διατυπώθηκε από τον Muller το 1774, καθώς εμφανίστηκε σε παγκόσμια βιβλιογραφία και ως '*Cantareus aspersus*' (O.F Muller 1774).



Εικόνα 1.4: Χερσαίο σαλιγκάρι στο έδαφος (Πηγή : <https://bio.libretexts.org/>).

1.3.2 Συστηματική κατάταξη του είδους

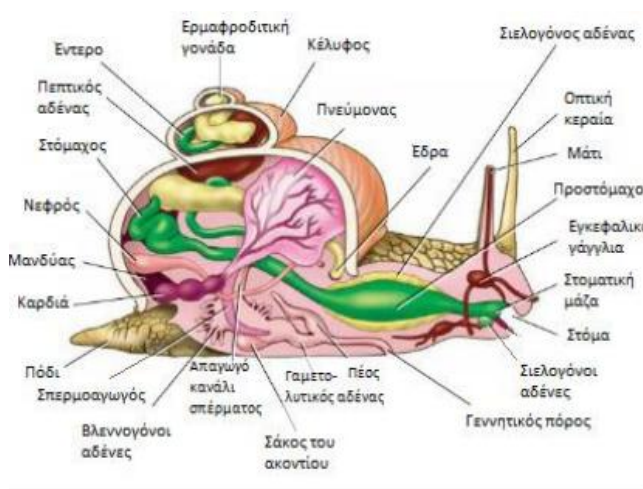
Το *Cornu aspersum* το άγριο (Muller 1774) είναι το μοναδικό είδος του γένους *Cornu* Born 1778. Η οικογένεια Helicidae Rafinesque, 1815 ομαδοποιεί 17 γένη μεγάλων σαλιγκαριών με κατά βάση σφαιρικά κελύφη , συμπεριλαμβανομένων των *Helix* , *Cerapea* , *Arianta* κ.α. Το *Cornu aspersum* είναι ένα χερσαίο μαλάκιο που ανήκει στην τάξη των γαστερόποδων, στην οικογένεια Helicidae και στη τάξη Stylommatophora. Γενικά θεωρείται ένα αρκετά χωροκατακτητικό γεωργικό παράσιτο, συμπεριλαμβανομένων και των εσπεριδοειδών και των σταφυλιών, το οποίο προέρχεται αρχικά από την Ευρώπη, αλλά τώρα συναντάται σε όλον τον κόσμο. Έχει την ικανότητα να προσαρμόζεται σε διάφορα περιβάλλοντα με την αίσθηση του κατά την διάρκεια θερμών και ξηρών περιόδων και την χειμερία νάρκη του σε ψυχρές συνθήκες.

Βασίλειο	Ζώα(Animalia)
Φύλο	Μαλάκια(Mollusca)
Κλάση	Γαστερόποδα(Gasteropoda)
Υποκλάση	Πνευμονοφόρα(Pulmonata)
Τάξη	Στυλοματοφόρα(Stylommatophora)
Οικογένεια	Ελικοειδή(Helicidae)
Γένος	Cornu(Cornu)
Είδος	<i>Cornu aspersum aspersum</i> (<i>Cornu aspersum aspersum</i>)

1.3.3 Περιγραφή του είδους

Το *Cornu aspersum* ή κοινώς σαλιγκάρι κήπου, αποτελεί ένα εκτρεφόμενο είδος και χωροκατακτητικό γεωργικό παράσιτο και είναι είδος Μεσογειακής καταγωγής (Madec et.al 2003). Το *C. aspersum* έχει αρκετά ευκρινές μέγεθος, σφαιρικό ή κωνικό κέλυφος και κλειστό ομφάλιο με λευκό χείλος, ενώ το μέσο βάρος του είναι τα 10g (Dupont-Nivet et al.2000). Το κέλυφος του συγκεκριμένου είδους είναι λεπτό , καλλίγραμμο με ρυτίδες και ραβδώσεις που υποδεικνύουν την ανάπτυξη του. Το κέλυφός του το χρησιμοποιεί ως προστασία από τα αρπακτικά. Τα ενήλικα κοχύλια αυτού του είδους, έχουν διάμετρο από 28 έως και 45mm και ύψος 25-35mm. Το χρώμα δε του κελύφους εξαρτάται από διάφορους εξωτερικούς παράγοντες όπως ο βióτοπος και η διατροφή και ποικίλλει, καθώς είναι κιτρινωπό έως ανοιχτό καφέ, με κοκκινωπές έως μαύρες σπειροειδείς ζώνες που διακόπτονται, δημιουργώντας κηλίδες ή κάποιες ραβδώσεις και το πάνω μέρος του είναι συνήθως πιο σκούρο. Το σώμα του διαχωρίζεται σε δύο τμήματα, εκ των οποίων το πρώτο συμπεριλαμβάνει το κεφάλι, το πόδι , τον εγκέφαλο,

τα αισθητήρια όργανα και το όργανο κίνησης. Το δεύτερο τμήμα , περιλαμβάνει την σπλαχνική μάζα και κατ' επέκταση το πεπτικό σύστημα , το νευρικό, το κυκλοφορικό, το αναπνευστικό και το αναπαραγωγικό σύστημα. (Χατζιωάννου και Στάικου 2015). Η σπλαχνική μάζα του σαλιγκαριού παραμένει προστατευμένη μέσα στο κέλυφος, ενώ το πόδι του μπορεί να εκτείνεται προς τα έξω όταν κινείται, τρέφεται ή ζευγαρώνει. Αντίθετα, σε περιόδους ανάπαυσης, αποσύρεται στο εσωτερικό του κελύφους για προστασία. Το κεφάλι και το πόδι είναι κίτρινο-γκρι έως πρασινόμαυρο , με μία ωχρή γραμμή κατά μήκος της πλάτης και το χρησιμοποιεί για την κίνησή του. Το μήκος του κεφαλιού και του ποδιού κυμαίνεται από 5cm έως 10cm και περιλαμβάνουν μία χρωματική ποικιλία και αυτά τα μέρη του σαλιγκαριού.



Εικόνα 1.5 : Σχέδιο οργάνωσης του χερσαίου γαστερόποδου με απεικόνιση της θέσης των διαφορετικών λειτουργικών συστημάτων (Πηγή : Χατζιωάννου & Στάικου 2015).

1.3.4 Βιότοπος και γεωγραφική εξάπλωση

Το *Cornu aspersum* το άγριο (Muller 1774), εμφανίζεται συνήθως σε κήπους, πάρκα

και γενικότερα σε χώρους γεμάτους πράσινο σε διάφορες περιοχές και ηπείρους. Αυτό το είδος, προέρχεται από την περιοχή της Μεσογείου, έχει βρεθεί όμως και σε άλλες περιοχές, κυρίως λόγω κάποιων ανθρώπινων δραστηριοτήτων, όπως είναι το εμπόριο και η κηπουρική. Αυτό αποτελεί εξήγηση για τις ομοιότητες μεταξύ των πληθυσμών που βρίσκονται εκατέρωθεν της Μεσογείου. Βέβαια, εκτός από αυτές τις ανθρώπινες δραστηριότητες, οι οποίες προφανώς καταβάλλουν σημαντικό ρόλο στην μετανάστευση και άρα εξάπλωσή του, είναι σημαντικό να αναφερθούμε στο γεγονός ότι το *C.aspersum* είναι ένα ευπροσάρμοστο είδος και είναι ικανό να ευδοκιμήσει σε πολλά ενδιαίτηματα. Συγκεκριμένα, είναι πιο εύκολο να το βρούμε σε περιοχές με μεσογειακό, εύκρατο και ακόμη υποτροπικό κλίμα. Μάλιστα, εξαπλώνεται από περιοχές της Ευρώπης έως σε περιοχές της Βόρειας Αφρικής, όπου και μέσω ερευνών έχει δειγματοληπτηθεί για βιογεωγραφική ανάλυση (Annie Guiller, Luc Madec, BMC Evolutionary biology, 2010). Τέλος, έχει αποδειχθεί ότι το *C.aspersum* που έχει εξαπλωθεί κυρίως με την βοήθεια ανθρώπινων δραστηριοτήτων, είναι ευρέως διαδεδομένο σε όλον τον κόσμο σε πάρα πολλές ζώνες με κλίμα διαφορετικό από το αρχικό μεσογειακό, ενώ η παρουσία του αναφέρεται στις αμερικανικές ηπείρους, την Αυστραλία και την Ασία (R.Cowie, CaBi Compendium, 7 August 2015).

1.3.5 Αναπαραγωγικό σύστημα

Η αναπαραγωγική διαδικασία του είδους είναι πολύπλοκη και επηρεάζεται από εξωτερικούς παράγοντες, όπως είναι και η θερμοκρασία και η διαθεσιμότητα της τροφής. Αυτά τα είδη σαλιγκαριών είναι ερμαφρόδιτα, δηλαδή διαθέτουν τόσο θηλυκά όσο και αρσενικά αναπαραγωγικά όργανα, όμως είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι

ακόμη και ερμαφρόδιτα χρειάζονται έναν σύντροφο για να επιτευχθεί ο αναπαραγωγικός κύκλος τους. Η αναπαραγωγική διαδικασία του είδους, περιλαμβάνει την ωοτοκία των αυγών σε συμπλέκτες μέσα σε διάφορες κοιλότητες, συνήθως έως και 7cm κάτω από την επιφάνεια του εδάφους. Συνήθως όμως η αναπαραγωγή γίνεται υπό συνθήκες υγρού εδάφους ή βλάστησης. Μετά το ζευγάρισμα λοιπόν, κάθε σαλιγκάρι μπορεί να γεννήσει δεκάδες αυγά, τα οποία έχουν στρογγυλοειδές σχήμα με μήκος περίπου 4.25mm και πλάτος 4mm και αυτά ομαδοποιούνται και συνδέονται με μία κολλώδη άχρωμη βλέννα (Χατζηγιάννου και Στάικου 2015). Το ζευγάρισμα αυτού του είδους, γίνεται με βολή βελών από το ένα σαλιγκάρι στο άλλο, κοινώς 'dart shooting', και είναι εκτενώς διαδεδομένο στο *C. aspersum aspersum* (Rogers and Chase 2001, Chase and Blanchard 2006, Chase and Vaga 2006, Chase and Darbison 2008). Αυτά τα αυγά εκκολάπτονται σε μικρά, ημιδιαφανή σαλιγκάρια που αναπτύσσουν σταδιακά το κελύφός τους και ωριμάζουν σε ενήλικα άτομα σε διάστημα αρκετών μηνών έως και ενός έτους, ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Συνήθως το είδος *Cornu aspersum aspersum*, γεννά περίπου 85 αυγά και τα μικρά άτομα γεννιούνται μετά από 2-4 εβδομάδες (Παρμακελής 2000.) Ο πολυμορφισμός του χρώματος του κελύφους είναι περισσότερο εμφανής στα νεαρά σαλιγκάρια. Επίσης, τα ηλικιωμένα άτομα, είναι φυσικό και επόμενο να εμφανίζουν φθαρμένα κοχύλια, εκθέτοντας το ασβεστοποιημένο στρώμα. Σε φυσικούς πληθυσμούς, ένα ανακυκλωμένο χείλος, γύρω από το άνοιγμα του κελύφους υποδηλώνει σεξουαλική ωριμότητα. Οι σαλιγκαροτρόφοι, κατηγοριοποιούν τα νεαρά με βάση την διάμετρο του κελύφους, κατηγοριοποιώντας τα σε νεαρά ιχθύδια πρώτου και δεύτερου σταδίου περισσότερο για πρακτική διαχείριση. Τέλος, αυτό το είδος ως ταυτοχρόνως ερμαφρόδιτο, δηλαδή ως ένα είδος που ανταλλάσσει ταυτόχρονα ωάριο και σπέρμα κατά το ζευγάρισμα, μπορεί να ζευγαρώσει

με οποιοδήποτε συγγενικό είδος , αυξάνοντας έτσι τις πιθανότητες αναπαραγωγής του. Ένα μόνο σαλιγκάρι , μπορεί να ζευγαρώσει έως και έξι φορές ανά αναπαραγωγική περίοδο και να συνεχίσει να αναπαράγεται την επόμενη (Χατζηιωάννου και Στάικου, 2015, Cowie R. et al. 2015).

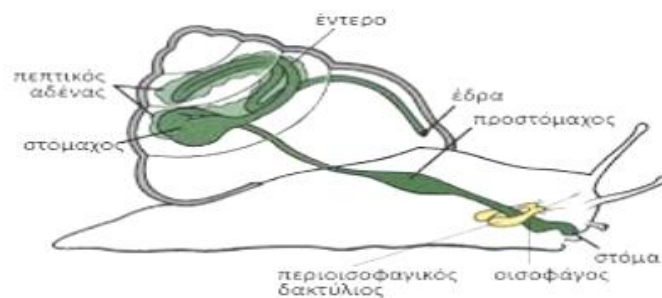


Εικόνα 1.6 : Ζευγάρι του είδους (Πηγή : <https://www.nottingham.ac.uk/>).

1.3.6 Πεπτικό σύστημα

Το πεπτικό σύστημα του είδους , είναι ανοιχτό και ιδιαίτερα προσαρμοσμένο σχεδόν σε όλες τις διατροφικές συνήθειες. Αρχικά, αποτελείται από τον πεπτικό σωλήνα, όπου υπάρχουν προσαρτημένοι σε αυτόν αδένες. Αυτός λοιπόν ο πεπτικός σωλήνας περιλαμβάνει το στόμα, την στοματική κοιλότητα που φέρει σιαγόνα και το ξύστρο (radula), το οποίο μαζί με την σιαγόνα τεμαχίζουν την τροφή. Έπειτα, μεταφέρονται ποσότητες τροφής στον οισοφάγο, που περιβάλλεται από τους σιελογόνους αδένες και μετά στο στομάχι ακολουθεί το έντερο, το οποίο καταλήγει σε έναν αδένα άμεσα συνδεδεμένο με την πέψη, το ηπατοπάγκρεας. Τέλος, το έντερο καταλήγει στην έδρα (Μυλωνάς 2000), που διασχίζει την δεξιά πλευρά της πνευμονικής κοιλότητας και τελειώνει στον πρωκτό (Λαζαρίδου-Δημητριάδου και Κάττουλας 1985). Ο ρόλος του πεπτικού συστήματος, είναι η λήψη, η μεταβίβαση , η αποθήκευση και η πέψη της τροφής που καταναλώνει ο οργανισμός και ταυτόχρονα η απορρόφηση των

απαραίτητων θρεπτικών συστατικών για τις διάφορες λειτουργίες καθώς και ο σχηματισμός απεκκριμάτων.



Εικόνα 1.7: Σχηματική απεικόνιση του πεπτικού συστήματος χερσαίου σαλιγκαριού (Πηγή : Χατζηγιάννου & Στάικου 2015).

1.3.7 Οικολογικός ρόλος

Αυτό το είδος σαλιγκαριών, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην λειτουργία του οικοσυστήματος, καθώς συμβάλει στην ανακύκλωση των θρεπτικών στοιχείων αλλά και στην υγεία του εδάφους μέσω των διατροφικών τους συνηθειών και της παραγωγής αποβλήτων. Το *C. aspersum* είναι ένα κυρίως φυτοφάγο είδος, το οποίο με την βοήθεια των οδοντικών στοματικών του μερών γνωστά ως radula, μπορεί να ξύνει και να καταναλώνει αποτελεσματικά το φυτικό υλικό. Μάλιστα, σε περιοχές που έχει εισαχθεί ως χωροκατακτητικό είδος και άρα είναι αφθονο, μπορεί να διαταράξει τα ενδημικά οικοσυστήματα και να ανταγωνιστεί την τοπική πανίδα για να προσλάβει πόρους (Barker and Watts 2002).

1.3.8 Οικονομική σημασία

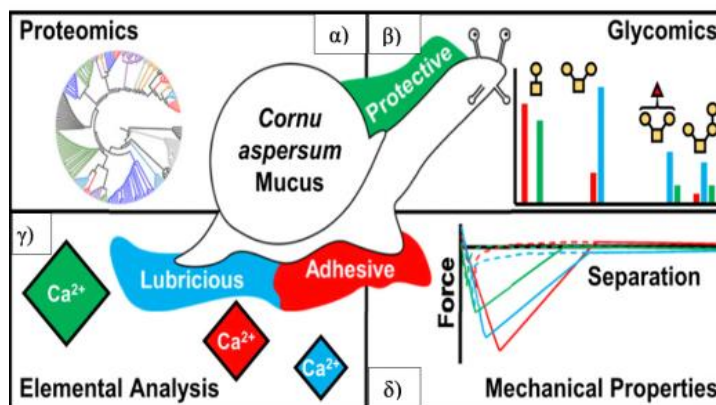
Οι συνεχόμενες κλιματικές αλλαγές του πλανήτη μας, ειδικότερα τις τελευταίες δεκαετίες, διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στο στρες που προκαλείται στο *C.aspersum* και στην ανάπτυξή του. Αυτό το στρες προφανώς διαταράσσει τόσο την γεωργία όσο και το εμπόριο. Γενικότερα, το κρέας του συγκεκριμένου είδους περιέχει μεγάλη ποσότητα σε σελήνιο, το οποίο μέσω ερευνών έχει διαπιστωθεί πως μπορεί να αυξηθεί με την κατάλληλη διατροφή των σαλιγκαριών χρησιμοποιώντας το Sel-Plex™, το οποίο είναι ένα πρόσθετο συμπυκνωμένης τροφής. Το σελήνιο συγκεκριμένα, συμβάλλει στην αντοχή σε ακραίες καιρικές συνθήκες, παράγει την ανάπτυξη, τον ρυθμό επιβίωσης αλλά και την παραγωγικότητα. Μάλιστα από οικονομική άποψη το *C.aspersum* σε σχέση με το *Helix pomatia*, έχει υψηλότερη απόδοση σφαγής, καθώς η περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες του κρέατος των σαλιγκαριών δεν επηρεάζεται τόσο από την συγκέντρωση το Sel-Plex™ (Andrian Toader-Williams, Otilia Buicu 2011). Μάλιστα, η θερμική επεξεργασία των πόρων κρέατος επιφέρει εκτεταμένες αλλαγές στην εμφάνιση και στις φυσικές ιδιότητες του. Καθώς ο ιστός του κρέατος μαγειρεύεται, για αρχή γίνεται πιο σφιχτός, αφού οι πρωτεΐνες μετουσιώνονται . Για αυτό λοιπόν το κρέας του σαλιγκαριού *C.aspersum* είναι πολυζήτητο τόσο στο εμπόριο και έχει μεγάλη οικονομική αξία, αφού το κρέας του έχει πολύ υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (Χατζηιωάννου και Στάικου, 2015).

1.4 Βλέννα και βλεννίνες του *Cornu aspersum*

1.4.1 Η βλέννα και ο ρόλος της

Τα σαλιγκάρια σε ένα γενικότερο πλαίσιο, εκκρίνουν βλέννα, η οποία συντελεί στην διευκόλυνση της μετακίνησής τους, καθώς παίζει ρόλο και στην χημική επικοινωνία μεταξύ των ατόμων (Ballard KR, Klein Att 2021). Η βλέννα είναι μία γλοιώδης υδρογέλη που καλύπτει τις βλεννογόνες επιφάνειες του σώματος, όπως είναι το έντερο, το στομάχι, τα μάτια, τους πνεύμονες και το ουρογεννητικό σύστημα. Μελέτες μάλιστα, διαπίστωσαν ότι η επαφή πρόσθιων πλοκαμιών με βλέννα συγγενών προκαλεί αύξηση του καρδιακού ρυθμού, γεγονός που υποδηλώνει αντιληπτική ανταπόκριση, καθώς η βλέννα περιέχει ανιχνεύσιμα χημικά μόρια. (Ballard K.R et.al 2021).

Η ανάλυση της βλέννας, αποκάλυψε 175 διαφορετικές πρωτεΐνες, εκ των οποίων οι 29 ήταν μοναδικές, καθώς και ακόμη 22 εκκριτικές, συμπεριλαμβανομένης μίας που μοιάζει με περλουκίνη η οποία είναι γλυκοπρωτεΐνη της μήτρας του κελύφους των υδρόβιων μαλακίων που έως τότε όμως δεν είχε αναφερθεί στην βλέννα χερσαίων σαλιγκαριών (Zhang C, Zhang R 2006). Επιπρόσθετα, εντοπίστηκαν 8 πτητικές ουσίες, όπως το προπαπινικό οξύ, το οποίο πολύ πιθανόν να λειτουργεί ως φερομόνη. Οι φερομόνες είναι ουσίες που εκκρίνονται από ένα άτομο και μπορούν να ληφθούν από άτομα ίδιου είδους, προκαλώντας μία συγκεκριμένη αντίδραση και είναι πολύ ελκυστικές ως παράγοντες καταπολέμησης γεωργικών παρασίτων (Witzgall P, Kirsch P, Cork A, 2010). Μάλιστα, η έκκριση βλέννας, δημιουργεί ένα ευνοϊκό μικροκλίμα στο εσωτερικό του κελύφους που επιτρέπει το *C. aspersum* να επιβιώσει σε αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες.



Εικόνα 1.8: Η σύνθεση της βλέννας του *Cornu aspersum* αναλύεται με τη χρήση omics-style τεχνικών, προκειμένου να κατανοηθούν οι ιδιότητές της. Υπάρχουν τρεις κύριοι τύποι βλέννας με διαφορετικές λειτουργίες: η συγκολλητική βλέννα (κόκκινο), η λιπαντική βλέννα (μπλε) και η προστατευτική βλέννα (πράσινο) (Τροποποίηση από Cerullo et. al. 2023).

1.4.2 Η βλέννα ως αντιμικροβιακός παράγοντας

Τα μαλάκια γενικά, δεν διαθέτουν από μόνα τους προσαρμοστική ανοσία και για αυτόν τον λόγο εξαρτώνται από φυσικούς φραγμούς και από έμφυτη ανοσία για την προστασία τους από παθογόνους μικροοργανισμούς (Gerdal 2017). Η έκκριση βλέννας στα σαλιγκάρια, γίνεται κυρίως κατά μήκος των ποδιών, όπου υπάρχουν μεγαλύτερες πιθανότητες επαφής με μολυσμένες επιφάνειες από διάφορους παθογόνους μικροοργανισμούς. Αρχικά, το είδος *Lissachatina Fulica* (Mumuni et.al 2020) και η βλέννα που εκκρίνει, αποτελεί ένα από τα πιο δραστικά είδη σαλιγκαριών, καθώς οι εκκρίσεις της βλέννας του υπέδειξαν έντονη αντιβακτηριδιακή δράση έναντι των βακτηρίων με θετικό Gram (πχ *Pseudomonas aeruginosa*, *E.coli*). Συγκεκριμένα, ως πειραματόζωο χρησιμοποιήθηκε ένα ποντίκι, στο οποίο εφαρμόστηκε η βλέννα μέσω επιδερμικών ταινιών σε τραύματα του (Santana et al. 2012) και αυτά τα επιθέματα

φάνηκε να βελτίωσαν την ωρίμανση του κοκκιώδους ιστού καθώς και τον ρυθμό εναπόθεσης κολλαγόνου. Σε παρόμοια μελέτη , η έκκριση βλέννας από το είδος *Helix aspersa* έδειξε μεγάλη αντιμικροβιακή δράση έναντι βακτηρίων *Pseudomonas aeruginosa* (Pitt et al. 2015), καθώς και συγκριτικά με 7 κοινά αντιβιοτικά όπως είναι η αμοξυκιλλίνη , η στρεπτομυκίνη και η χλωραμφενικόλη , οι εκκρίσεις βλέννας ήταν περισσότερο ανασταλτικές στις λοιμώξεις από τα αντιβιοτικά του εμπορίου (Etim et.al 2016).

1.4.3 Η βλέννα ως αντι-ογκολογικός παράγοντας

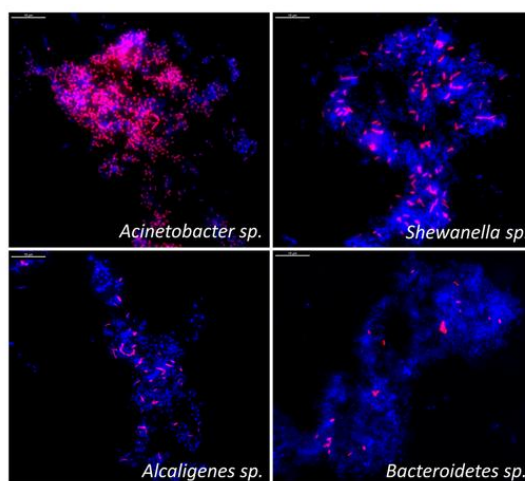
Η έκκριση βλέννας των σαλιγκαριών , έχει δείξει θεραπευτικές ιδιότητες έναντι του μελανώματος το οποίο θεωρείται ένα από τους πιο επικίνδυνους καρκίνους του δέρματος, (Elijimi, et al.2018). Συγκεκριμένα, μία μελέτη της βλέννας του *C.aspersum* ανέφερε ότι η βλέννα του σαλιγκαριού μειώνει την βιωσιμότητα και αναστείλει την μετάσταση των κυττάρων του μελανώματος, καθώς οι ουσίες που περιέχει φαίνεται να επηρεάζουν την ανάπτυξη κυττάρων μελανώματος, παρουσιάζοντας δυνητικά αντικαρκινικές ιδιότητες. Για αυτόν τον λόγο, στηριζόμενοι σε αυτήν την έρευνα, οι ειδικοί στόχευσαν στην εξέλιξη των θεραπειών και των προϊόντων που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την μείωση του καρκίνου , προκαλώντας έτσι ενδιαφέρον στην βιοϊατρική κοινότητα (Elijimi et.al 2018).

1.4.4 Η βλέννα ως φορέας φαρμάκων

Η προσαρμοστικότητα των βιοπολυμερών βλεννογόνου των σαλιγκαριών τα καθιστά μοναδικά υποσχόμενους υποψηφίους για νέα και πιο σύγχρονα συστήματα χορήγησης

φαρμάκων (Huckaby and Lai 2018- Momoh et al. 2020). Στα πλαίσια της αναπαραγωγικής διαδικασίας και κατά την διάρκεια του ζευγαρώματος, τα αρσενικά σαλιγκάρια εκτοξεύουν ένα βέλος για να παραδώσουν βλέννα, η οποία περιέχει βοηθητικές πρωτεΐνες στο θηλυκό, το οποίο με την σειρά του αυξάνει την γονιμότητα του θηλυκού σαλιγκαριού. (Lodi et al 2017). Η διαδικασία αυτή βασίζεται σε ένα πολυλειτουργικό σύστημα , με κάθε συστατικό να διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο. Συγκεκριμένα, το βέλος λειτουργεί ως βελόνα , τρυπά τον ιστό και εισάγει στην βλέννα που μεταφέρει τις βοηθητικές πρωτεΐνες για το θηλυκό άτομο. Η βλέννα των σαλιγκαριών είναι γνωστό ότι συνδυάζεται εξαιρετικά καλά με οποιοδήποτε φάρμακο που απορροφάται μέσω των βλεννογόνων μεμβρανών λόγω της ικανότητας τους να διευκολύνουν την διάχυση διαμέσου αυτών (Balabushevich et al 2019). Για παράδειγμα, η υδροχλωρική μεταμορφίνη , ένα φάρμακο για τον διαβήτη, συνδέθηκε με βλεννογόνο του γιγάντιου αφρικάνικου χερσαίου σαλιγκαριού, χρησιμοποιώντας πολυαιθυνογλυκόλη (PEG) για την αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας του φαρμάκου (Momoh et.al 2014). Ειδικότερα, η βλεννογόνος σαλιγκαριού , υπόσχεται πολλά ως πολυμερές , καθώς είναι εξαιρετικά υδρόφιλη και επίσης αλληλεπιδρά εύκολα με τις βλεννογόνες μεμβράνες του γαστρεντερικού σωλήνα, που αποτελεί μία κοινή αποθήκη απορρόφησης φαρμάκων. Η φορτωμένη με μετορμίνη μουκίνη βελτίωσε την φαρμακοκινητική και την φαρμακοδυναμική . Έπειτα, σε μία άλλη εφαρμογή, ολόκληρα άνθη του costus afer (τζίντζερ κρινάκι), σε συνδυασμό με βλέννα σαλιγκαριού έδειξαν μείωση των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα σε διαβητικά musmuculus (ελβετικά ποντίκια αλμπίνο) με δοσοεξαρτώμενο τρόπο που έδειξε ξανά το πιθανό αντιδιαβητικό δυναμικό της βλέννας σαλιγκαριού (Agu et al. 2018). Η μήτρα πολυμερούς που δεσμεύει φάρμακα και οι κρύσταλλοι βατερίτη που περιέχουν βλέννα

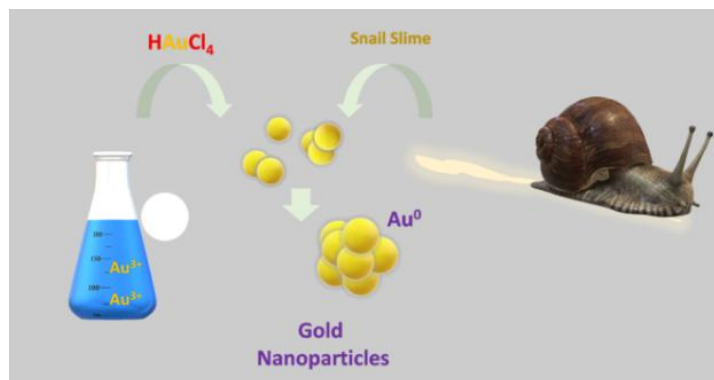
έχουν χρησιμοποιηθεί ως φορείς χορήγησης φαρμάκων για την αποτελεσματική φόρτωση και ελεγχόμενη απελευθέρωση μικρών αντικαρκινικών φαρμάκων και θεραπευτικών με βάση τις πρωτεΐνες (Balabushevich et al.2019). Επιπλέον , οι βλεννίνες έχουν συνδυαστεί με φωτοευαισθητοποιητές (Balabushevich et al. 2019) προκειμένου να ενισχυθεί η στόχευση και να βελτιστοποιηθεί ο έλεγχος της χορήγησης σε καρκινικά κύτταρα (Dutta et al. 2019). Συνοπτικά, οι αυτοσυναρμολογούμενες πολυστρωματικές κάψουλες βλεννίνης και τα μικροσωματίδια που την περιέχουν παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον για μελλοντικές μελέτες μηχανισμών ελεγχόμενης απελευθέρωσης φαρμάκων , ιδίως για την αντιμετώπιση των προβλημάτων και των προκλήσεων της βιοσυμβατότητας, της βιοαποικοδομιτικότητας και της βλεννοκόλλησης (Balabushevich et al. 2019).



Εικόνα 1.9 : Βακτηριακές κοινότητες που βρέθηκαν στην βλέννα από υβριδισμό φθορισμού in situ (Πηγή <https://onlinelibrary.wiley.com/>).

1.4.5 Η βλέννα στην κοσμετολογία

Οι εκκρίσεις των σαλιγκαριών, από την αρχαιότητα με ιστορικές αναφορές που χρονολογούνται από τον Ιπποκράτη μέχρι και σήμερα, χρησιμοποιούνται σε δερματολογικές εφαρμογές. Συγκεκριμένα, ο Ιπποκράτης είχε αναφέρει πως τα θρυμματισμένα σαλιγκάρια διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στις θεραπείες του δέρματος στις φλεγμονές, ενώ παράλληλα στο σήμερα στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, τα καλλυντικά με βάση την βλέννα των σαλιγκαριών διατίθενται στο εμπόριο ως αποτελεσματικές θεραπείες για την ακμή, την μελάγχρωση, τις ουλές και τις ρυτίδες (Ekin, 2018). Αυτήν βέβαια η άποψη, υποστηρίζεται και από την πιστοποιημένη από το συμβούλιο δερματολόγο, Jodi LoGerfo, η οποία βασίζεται στο γεγονός ότι το κολλαγόνο που παράγει η βλέννα είναι γεμάτο με αντιοξειδωτικά. Μάλιστα, σύμφωνα με τις πιο πρόσφατες εκτιμήσεις για την παγκόσμια αγορά, οι τιμές κυμαίνονται από 43.7 εκατομμύρια έως και 1.2 δισεκατομμύρια δολάρια με προοδευτικές τάσεις. Τα είδη τα οποία διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο, είναι το *Achatina fulica* και το *Cornu aspersum*, των οποίων η βλέννα συναντάται τόσο σε κορεάτικα όσο και σε ιαπωνικά καλλυντικά και προϊόντα περιποίησης, λόγω των αναπλαστικών και των αντιμικροβιακών ιδιοτήτων της (Wargala et al. 2023). Συνεπώς, η συστηματική χρήση της βλέννας σε προϊόντα περιποίησης επιβεβαιώνει με κάθε τρόπο την λειτουργικότητά της και την σπουδαιότητά της ως πολύτιμο φυσικό συστατικό στην κοσμητολογία.



Εικόνα 1.10: Τα νανοσωματίδια χρυσού είναι μικρές μάζες ατόμων χρυσού (Au). Για την παραγωγή νανοσωματιδίων, τα άτομα χρυσού που παρασύρονται στο νερό συνδυάζονται με γλίτσα σαλιγκαριού. Η γλίτσα μετατρέπει τα άτομα χρυσού από μια μορφή που διαλύεται στο νερό (Au^{3+}) σε μια μορφή που δεν διαλύεται (Au^0). Τα μη διαλυμένα άτομα χρυσού συσσωρεύονται τώρα σε νανοσωματίδια.

1.4.6 Οι βλεννίνες και ο ρόλος τους

Οι βλεννίνες είναι μία οικογένεια πρωτεϊνών με υψηλή γλυκοζυλίωση που εκκρίνονται από τα ζώα για προσκόλληση διασυνδέοντας άλλα πολυμερή στην πηκτή, ενυδάτωση, λίπανση και άλλες λειτουργίες (Dhanisa et al. 2018). Τα σαλιγκάρια, παράγουν πρωτεΐνες βλεννογόνου για ένα ευρύ φάσμα βιολογικών λειτουργιών, συμπεριλαμβανομένης της μικροβιακής προστασίας, της προσκόλλησης και της λίπανσης. Μάλιστα, οι βλεννίνες έχουν χαρακτηριστεί ως καινοτόμες πηγές στην βιολογία, την χημεία, την βιοτεχνολογία ακόμη και την βιοϊατρική. Η βλέννα του *C.aspersum* έχει διάφορες χρήσεις. Κάποιες από αυτές, είναι η περιποίηση του δέρματος, η χορήγηση φαρμάκων για επούλωση πληγών, η μηχανική των ιστών και η παραγωγή συνθετικών υλικών. Η βλέννα αυτού του είδους, περιλαμβάνει 3 διαφορετικούς τύπους βλεννωδών ουσιών, κάθε μία με διαφορετικές ιδιότητες και λειτουργίες. Επιπροσθέτως, οι πρωτεΐνες στις εκκρίσεις βλέννας του *C.aspersum* είναι πλούσιες σε κατάλοιπα σερίνης/θρεονίνης και περιέχουν γλυκάνες όπως είναι η N-

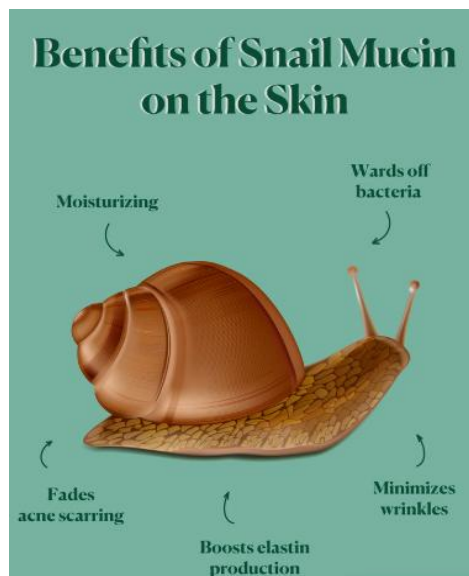
ακετυλογαλακτοζαμίνη (GARNacI), γαλακτόζη (Gal) και φουκόζη (Fuc). Τέλος, τα ίχνη της βλέννας περιέχουν πτητικά και πρωτεϊνικά συστατικά. Συγκεκριμένα, οι φερομόνες που επηρεάζουν την συμπεριφορά του είδους, έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως στην διαχείριση των γεωργικών παρασίτων παγκοσμίως , ιδίως στον έλεγχο των εντόμων για την διακοπή του ζευγαρώματος και τα δολώματα. Η ελκυστικότητα αυτών των ουσιών στηρίζεται στην απαίτηση χαμηλού όγκου , στην εξειδίκευση των ειδών καθώς και στην προφανή ασφάλεια για άλλα άγρια ζώα.

1.4.7 Κατηγορίες βλέννας και βλεννίνων

Η βλέννα των σαλιγκαριών, μπορεί να χαρακτηριστεί και ως κόλλα αραιής πηκτής μορφής. Αυτήν, περιέχει ειδικές πρωτεΐνες που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην προσκόλληση, όπως έχει προαναφερθεί. Μάλιστα, τα μέταλλα διαδραματίζουν εξίσου σημαντικό ρόλο στην δράση αυτών των συγκολλητικών ουσιών. Η προσθήκη σιδήρου (Fe) ή χαλκού (Cu) στην διαλυμένη κόλλα , προκαλεί τις πρωτεΐνες να καθιζάνουν γρήγορα , αν και ο ψευδάργυρος (Zn), δεν έχει καμία απολύτως επίδραση. Μάλιστα, η αφαίρεση δε του Fe και των υπόλοιπων μετάλλων μετάπτωσης με χημικό παράγοντα κατά την διάρκεια της κόλλας, προκαλεί εξασπλάσια αύξηση της διαλυτότητας της κόλλας. Πολύ σημαντικές, είναι οι βιολογικές κόλλες γιατί έχουν χρήσιμες ιδιότητες που διαφέρουν σημαντικά από εκείνες των τεχνητών συγκολλητικών ουσιών (Smith and Callow 2016). Οι περισσότερες κιάλας βιολογικές κόλλες γαστερόποδων μαλακίων είναι υδρόφιλες, καθώς αποτελούνται από 95% νερό. Αντιθέτως, οι τεχνητές κόλλες σπάνια λειτουργούν παρουσία νερού. Αυτό συμβαίνει , διότι η υψηλή διηλεκτρική σταθερά του νερού , εξασθενεί τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις (Waite et.al 2005) και γιατί τα μόρια νερού λόγω της ποικιλότητας τους, αναπροσανατολίζονται γύρω από

φορτία, εξουδετερώνοντας και καλύπτοντάς τα αποτελεσματικά.

Οι βλεννίνες χαρακτηρίζονται από δύο μέρη της δομής τους, τον πρωτεϊνικό πυρήνα και την διακλάδωση των γλυκανών τους. Ο πρωτεϊνικός πυρήνας είναι μία πρωτεϊνική αλληλουχία μεταβλητού μήκους ανάλογα με το γονίδιο της βλεννίνης που έχει τροποποιηθεί περαιτέρω με διακλαδώσεις της γλυκοζυλίωσης. Οι βλεννίνες, διαχωρίζονται σε δύο διαφορετικούς τύπους. Πρώτον έχουμε τις εκκρινόμενες βλεννίνες και δεύτερον έχουμε τις μεμβρανώδεις. Για να γίνουμε πιο σαφής, οι εκκρινόμενες βλεννίνες είναι είτε βιοπολυμερή που σχηματίζουν γέλη είτε βιοπολυμερή που δεν σχηματίζουν γέλη. Τα εκκρινόμενα βέβαια βιοπολυμερή, σχηματίζουν βλεννώδεις μεμβράνες μικροσκοπικής κλίμακας. Στον άνθρωπο, οι βλεννογόνες μεμβράνες αντιπροσωπεύουν το 99% της επιφάνειας του σώματος. (Sompayarak 2012, Cerullo 2020). Μάλιστα, είναι πολύ σημαντικό να επισημάνουμε πως κάθε είδος σαλιγκαριού εκκρίνει πολλαπλούς διαφορετικούς λειτουργικούς βλεννογόνους. Από την μία έχουμε την έκκριση βλέννας από το πόδι, κατά την οποία πραγματοποιείται προσκόλληση και λίπανση, καθώς επιτρέπεται στο σαλιγκάρι να προσκολλάται ή να περπατάει σε οποιαδήποτε επιφάνεια, ακόμη και εάν αυτό είναι ανάποδα. Από την άλλη, έχουμε την έκκριση βλέννας από το πίσω μέρος κατά την οποία πραγματοποιείται μικροβιακή άμυνα και ενυδάτωση ιστών.



Εικόνα 1.11 : Snail mucin: The superhero of skin care (The Klog | Skin Care Tips & K-Beauty Reviews).

1.5 Σκοπός

Ο σκοπός της παρούσας πειραματικής διατριβής είναι ο σχεδιασμός ενός πρωτοκόλλου συλλογής βλέννας από 15 διαφορετικά σαλιγκάρια του είδους *Cornu aspersum aspersum* και η ποιοτική και ποσοτική αξιολόγηση του συλλεγόμενου προϊόντος. Επιπρόσθετα, θα γίνει αναφορά τόσο στην σημασία του συγκεκριμένου είδους όσο και στην σπουδαιότητα της βλέννης που παράγεται από αυτό, αφενός στον άνθρωπο και αφετέρου στο περιβάλλον.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1.1 Προέλευση ζώων

Για την πραγματοποίηση της πειραματικής έρευνας που έγινε στην παρούσα προπτυχιακή διατριβή, συλλέχθηκαν στις αρχές της Άνοιξης , 15 άτομα σαλιγκαριών του είδους *Cornu aspersum aspersum* ή ελεύθερο άγριο *Cornu* ή κοινώς Garden Snail από εκτροφείο με έδρα τα Χανιά Κρήτης. Αφού λοιπόν έγινε η συλλογή, ακολούθησε καλό πλύσιμο των ζώων και έπειτα η τοποθέτησή τους σε κλωβό, ο οποίος περιελάμβανε ορنيθοτροφή εμπλουτισμένη με ανθρακικό ασβέστιο σε αναλογία 2:1, καθώς και νερό. Αφήσαμε τα ζώα μας στον κλωβό για έναν μήνα ο οποίος καθορίστηκε και προσαρμοστικός , καθαρίζοντας τα μία φορά ανά δύο εβδομάδες και ανανεώνοντας την τροφή τους και το νερό τους.

2.1.2 Δοκιμές σε πειραματικές πτυχές συλλογής βλέννας

A. Μέθοδος- μάρτυρας

Αυτή η μέθοδος, αποτελεί τον πιο απλό τρόπο συλλογής βλέννας, καθώς δεν υπάρχει καθόλου καταπόνηση των ζώων. Κατά την διάρκεια αυτής της μεθόδου, τα σαλιγκάρια τα αφήσαμε πάνω σε μία γυάλινη λεία και καθαρή επιφάνεια να κινηθούν με άνεση και να εκκρίνουν βλέννα.

B. Μέθοδος όχλησης με ξύλινη σπάτουλα

Αυτή η μέθοδος, αποτελεί μέρος έμπνευσης από μία μελέτη των Newar and Ghatan

που έγινε το 2015 και κατά την οποία χρησιμοποίησαν μία σπάτουλα για την συλλογή βλέννας με πειραματόζωο το είδος *Macrochlamis indica*. Με βάση λοιπόν αυτή, χρησιμοποιήσαμε μία ξύλινη σπάτουλα ή το γνωστό σε όλους γλωσσοπίεστρο με την οποία πραγματοποιήσαμε όχληση των σαλιγκαριών στους αδένες των επιδερμικών κυττάρων στον μυώδη πόδα για συνεχόμενα 25 λεπτά, δημιουργώντας έτσι μυϊκές συσπάσεις και έπειτα έκκριση ποσότητας βλέννας.

Γ. Μέθοδος όχλησης με βελόνα

Αυτή η μέθοδος στηρίζεται στην βιβλιογραφία του Bommain το 2013. Με βάση αυτήν, τοποθετήσαμε αρχικά τα σαλιγκάρια μας σε μία λεία επιφάνεια τζαμιού και χρησιμοποιήσαμε μία βελόνα την οποία αρχικά αποστειρώσαμε και ξεκινήσαμε την όχληση των σαλιγκαριών στους αδένες των επιδερμικών κυττάρων στον μυώδη πόδα. Αυτή η διαδικασία διήρκησε 15 λεπτά και η όχληση έγινε 3 φορές ανά 5 λεπτά.

2.2 Περιγραφή πειραματικής μελέτης

Η πειραματική έρευνα που πραγματοποιήσαμε με σκοπό την συλλογή βλέννας των 15 ατόμων σαλιγκαριών του είδους *C. aspersum*, έλαβε χώρα στο Εργαστήριο Εκτροφής Των Γαστερόποδων του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Το πείραμα που εκτελέσαμε, συμπεριλαμβάνει την συλλογή ποιότητας βλέννας από 15 σαλιγκάρια του είδους *Cornu aspersum aspersum*, τα οποία διαχωρίσαμε σε 3 ομάδες των 5 ατόμων αντίστοιχα, καθώς και τον ποσοτικό προσδιορισμό της συλλεγόμενης βλέννας. Η πειραματική έρευνα, διεξήχθη στις 01-06-2023 και ώρα 11-12π.μ και διήρκησε 45 λεπτά. Η συλλογή της βλέννας πραγματοποιήθηκε με χημική όχληση με

την χρήση αλατόνερου , ψεκάζοντας τα σαλιγκάρια με αυτό. Ο ψεκασμός διήρκησε 30 λεπτά , υπό θερμοκρασία ίση με 25 και κάτω από συνθήκες φωτός ημέρας και εργαστηρίου.

2.3 Διαδικασία-Εκτέλεση Πειράματος

2.3.1 Προετοιμασία σαλιγκαριών και ψεκασμός με αλατόνερο

Αρχικά, εφόσον έγινε η συλλογή των 15 ατόμων του είδους *C. aspersum* το άγριο ή κοινώς σαλιγκάρι κήπου, πριν ξεκινήσουμε το πείραμα καθαρίσαμε σχολαστικά τόσο τον πάγκο εργασίας όσο και τον εξοπλισμό που χρησιμοποιήσαμε. Για την πειραματική μας έρευνα, χρειαστήκαμε 15 σαλιγκάρια όμοιου βάρους και παρόμοιας διαμέτρου, τα οποία και αφήσαμε σε ασιτία για 2 εικοσιτετράωρα. Αφού λοιπόν συλλέξαμε τα σαλιγκάρια , ζυγίσαμε το νωπό τους βάρος με ζυγό ακριβείας και μετρήσαμε την διάμετρο του κελύφους με την βοήθεια αναλογικού μικρόμετρου. Έπειτα, κωδικοποιήσαμε τα σαλιγκάρια-δείγματα και τα ταξινομήσαμε σε 3 ομάδες των 5 ατόμων. Μετέπειτα, αναμίξαμε αλατόνερο σε αναλογία 1:3 (σε 100 ml νερού προσθέσαμε 3gr αλάτι) σε ένα ποτήρι ζέσεως με την χρήση αναδευτήρα (Trapella et al. 2018, Mencucci et al. 2021). Το μίγμα με το αλατόνερο που φτιάξαμε , το τοποθετήσαμε σε 3 μπουκάλια ψεκασμού για τις 3 ομάδες αντίστοιχα. Τις ομάδες σαλιγκαριών τις τοποθετήσαμε σε 3 σουρωτήρια αντίστοιχα, αφού πρώτα τα ξεπλύνουμε με καθαρό νερό για να αποβάλλουμε τυχόν ακαθαρσίες και τα σουρωτήρια τα τοποθετήσαμε σε μία μεγάλη λεκάνη. Έτσι, ξεκινήσαμε τον ψεκασμό τους με το μίγμα αλατόνερου 3% (*HelixComplexsnailmucosexhibitspro-survival, proliferative and pro-*

migration effects on mammalian fibroblasts).



Εικόνα 2.1: Μέτρηση νωπού βάρους με ζυγό ακριβείας.



Εικόνα 2.2: Μέτρηση διαμέτρου με παχύμετρο.

Για τον ψεκασμό, παρείχαμε στα σαλιγκάρια της κάθε ομάδας , 200 δόσεις των 0,5 ml αλατόνερου, χωρίζοντας του ψεκασμούς σε 10 επαναλήψεις διάρκειας 3 λεπτών αντιστοίχως. Οι ψεκασμοί πραγματοποιήθηκαν με τον εξής τρόπο :

1ος ψεκασμός: 20 πατήματα σε 10sec

-Αναμονή 170sec

2ος ψεκασμός: 20 πατήματα σε 10 sec

-Αναμονή 170 sec



Εικόνα 2.3: Ομάδες σαλιγκαριών *Cornu apersum* κατανεμημένες στα σουρωτήρια.

2.3.2 Συλλογή βλέννας

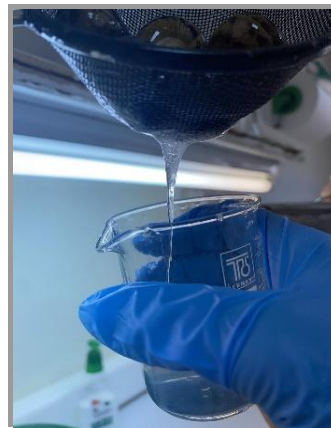
Αρχικά , όπως προαναφέρθηκε, έχουμε 3 ομάδες σαλιγκαριών των 5 ατόμων η καθεμία, τις οποίες τις τοποθετούμε σε 3 διαφορετικά σουρωτήρια αντίστοιχα. Έτσι, πραγματοποιείται ο 1ος ψεκασμός με 20 συνεχόμενα ψεκάσματα, διάρκειας 10 δευτερολέπτων. Στην συνέχεια, ακολουθεί νωθρότητα για 3 λεπτά, κατά την οποία συλλέγεται η βλέννα, την οποία και στραγγίζουμε με το σουρωτήρι μέσα στην ογκομετρική φιάλη που διαθέτουμε. Γίνεται επανάληψη της προαναφερθείσας διαδικασίας ακόμη 10 φορές. Μετά από αυτό, τα σαλιγκάρια παραμένουν στο σουρωτήρι έως και το 45ο τελευταίο λεπτό του πειράματος. Στο τέλος του πειράματος, έχουμε συλλέξει την συνολική ποσότητα της βλέννας των σαλιγκαριών σε 3 ογκομετρικές φιάλες στις οποίες περιέχεται η βλέννα ανά μονάδα ατόμων. Τέλος, τοποθετούμε 15ml από την ποσότητα της βλέννας που συλλέχθηκε από την κάθε ομάδα σε 3 γυάλινα τρυβλία για την ανάλυσή τους σε χρωματόμετρο.



Εικόνα 2.4 : Ψεκάσμος των σαλιγκαριών.



Εικόνα 2.5: Συλλογή βλέννας σε ογκομετρική φιάλη.



Εικόνα 2.6: Παρατήρηση βλέννας ως μορφή τζελ.

2.3.3 Ανάλυση ποσοτικών χαρακτηριστικών βλέννας

Όπως προαναφέρθηκε, έχουμε 3 ογκομετρικές φιάλες , όπου εκεί συλλέχθηκε η ποσότητα-όγκος της βλέννας που συλλέξαμε μετά το τέλος της διαδικασίας του ψεκάσμου. Στην καθεμία από τις ογκομετρικές φιάλες , σημειώθηκε ο κωδικός των 3 ομάδων. Αρχικά, κάθε ογκομετρική φιάλη ζυγίστηκε πρώτα άδεια και έπειτα με το προϊόν της βλέννας σε ζυγό ακριβείας και έτσι έγινε αφαίρεση από τον τελικό υπολογισμό. Αφού λοιπόν συλλέχθηκαν τα παραπάνω δεδομένα, με την βοήθεια του τύπου $\rho = m/V$, όπου m η μάζα της βλέννας και όπου V ο όγκος της βλέννας, προσδιορίστηκε η πυκνότητα της βλέννας για την κάθε φιάλη.



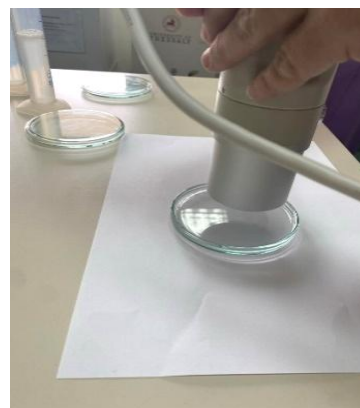
Εικόνα 2.7: Συλλεγόμενη βλέννα σε γυάλινο τρυβλίο.

2.4 Χρωματόμετρο και ανάλυση

Αφού ολοκληρώσαμε τις παραπάνω μετρήσεις, περάσαμε στο χρωματόμετρο για την αξιολόγηση του χρώματος και επομένως την ποιότητα της εξεταζόμενης βλέννας. Αυτό επιτεύχθηκε , χρησιμοποιώντας 3 γυάλινα τρυβλία για κάθε ομάδα ξεχωριστά, στα οποία τοποθετήσαμε 15ml της συλλεγόμενης βλέννας αντιστοίχως. Έπειτα, αυτά τα γυάλινα τρυβλία , τα βάλαμε στο χρωματόμετρο CHROMA METER CR-410 για την ανάλυσή της. Η παραπάνω διαδικασία, πραγματοποιήθηκε εντός του Εργαστηρίου Εφαρμοσμένης Ζωολογίας του Τμήματος ΓΙΥΠ κάτω από συνθήκες σκοτεινού περιβάλλοντος.



Εικόνα 2.8 : Συσκευή Χρωματόμετρου



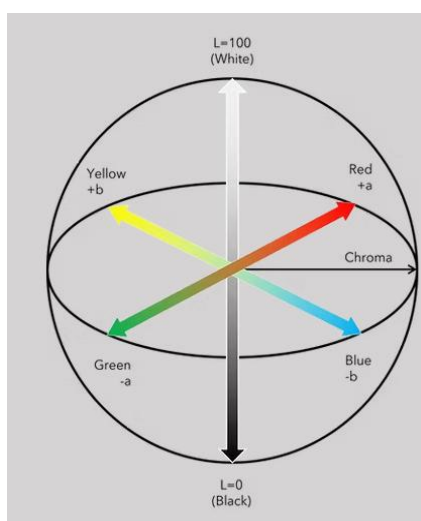
Εικόνα 2.9: Ανάλυση της βλέννας με χρωματόμετρο

Το χρωματόμετρο (CIELAB), για την ακρίβεια, είναι ένα 3-D χρωματικό μοντέλο, το οποίο στηρίζεται σε 3 διαφορετικές παραμέτρους. Αυτές είναι :

-Παράμετρος L^* , η οποία μετράει την φωτεινότητα του δείγματος και το εύρος τιμών της είναι $L^*(0 - 100)$. Συγκεκριμένα, όταν η παράμετρος L^* είναι μηδενική τότε το χρώμα του δείγματος που αναλύουμε είναι απόλυτα μαύρο, ενώ όταν είναι ίση με το 100, τότε το χρώμα του δείγματος είναι απόλυτα λευκό.

-Παράμετρος a^* , η οποία δεν μετράει φωτεινότητα, αλλά μας υποδεικνύει την απόχρωση του δείγματος από πράσινο έως κόκκινο, άρα ουσιαστικά την ερυθρότητα. Συγκεκριμένα όταν αυτή ξεπερνάει το 0, τότε η απόχρωση του δείγματος που αναλύουμε τείνει προς το κόκκινο, ενώ όταν δεν ξεπερνάει το 0, τότε η απόχρωση του δείγματος τείνει προς το πράσινο

-Παράμετρος b^* , η οποία δεν μετράει φωτεινότητα, αλλά μας υποδεικνύει την απόχρωση του δείγματος από μπλε έως κίτρινο. Συγκεκριμένα όταν αυτή ξεπερνάει το 0, τότε η απόχρωση του δείγματος που αναλύουμε τείνει προς το κίτρινο, ενώ όταν δεν ξεπερνάει το 0, τότε η απόχρωση του δείγματος τείνει προς το μπλε (CIE 2015, Κουγιαγκά 2022).



2.5 Παρατηρήσεις πειραματικής έρευνας

Αρχικά , τα σαλιγκάρια του είδους *Cornu aspersum aspersum* που επέλεξα για να πραγματοποιήσω το πείραμά μου, δεν ήταν εξαρχής όλα συνεργάσιμα , καθώς από το στρες και την αλλαγή περιβάλλοντος τα περισσότερα βρισκόντουσαν υπό συνθήκες νάρκης. Για αυτόν τον λόγο, τα έβρεξα με άφθονο νερό ώστε να ξυπνήσουν, να δραστηριοποιηθούν και να ξεκινήσω το πείραμα. Αρχικά, όσον αφορά τις πρώτες τρεις μεθόδους που χρησιμοποίησα για την όχληση των σαλιγκαριών (μάρτυρας, όχληση με βελόνα, όχληση με ξύλινη σπάτουλα) , στην πρώτη δεν εκκρίθηκε σχεδόν καθόλου βλέννα, στην δεύτερη εκκρίθηκε βλέννα αλλά τα σαλιγκάρια καταπονήθηκαν σε έντονο βαθμό με αποτέλεσμα να μείνουν για αρκετό καιρό μέσα στο κέλυφός τους και στην τρίτη εκκρίθηκε βλέννα σε μικρή ποσότητα αλλά σε αφρώδη μορφή. Συνεπώς δεν χρησιμοποιήσαμε καμία από αυτές τις μεθόδους, ενώ η μέθοδος του πειράματός μας ήταν ο ψεκασμός με το αλατόνερο. Ξεκινώντας με τον ψεκασμό, και διαλέγοντας της πρώτη ομάδα σαλιγκαριών (C1), παρατήρησα πως έβγαλαν τα σαλιγκάρια πολύ μικρή ποσότητα βλέννας, διαπιστώνοντας αυτήν την παρατήρηση αφού επέλεξα για τον ψεκασμό τα σαλιγκάρια των 2 άλλων ομάδων (C2, C3), τα οποία έβγαλαν πολύ μεγαλύτερες ποσότητας βλέννας . Όταν ξεκίνησε ο ψεκασμός των σαλιγκαριών, στην αρχή η βλέννα που εκκρίνονταν από αυτά είχε αφρώδη μορφή (μικρή ποσότητα), ενώ στην συνέχεια η βλέννα είχε την μορφή τζελ. Επίσης, η βλέννα που συλλέξαμε ήταν 100% καθαρή, χωρίς ακαθαρσίες τόσο κατά την διάρκεια του ψεκασμού όσο και κατά την διάρκεια του πειράματος. Αυτό , οφειλόταν κυρίως στο γεγονός ότι τα σαλιγκάρια πριν την έναρξη του πειράματος ζούσαν κάτω από συνθήκες ασιτίας. Επιπλέον, όταν

περάσαμε στο χρωματόμετρο και έγινε ανάλυση της βλέννας διαπιστώσαμε από τα αποτελέσματα αυτού πως η βλέννα ήταν όντως πεντακάθαρη και καλής ποιότητας, εφόσον το χρώμα της ήταν από μπλε προς πράσινο. Τέλος μετά την ολοκλήρωση του πειράματος η βλέννα αποθηκεύτηκε σε ψυγείο στους 4°C όπως ήταν στα τρυβλία με το καπάκι τους.

2.6 Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων πειράματος

Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης , πραγματοποιήθηκε συλλογή βλέννας από 15 διαφορετικά σαλιγκάρια του είδους *Cornu aspersum aspersum* , με σκοπό την ποσοτική και ποιοτική αποτίμηση της παραγόμενης βλέννας. Συγκεκριμένα, μόλις ολοκληρώθηκαν όλα τα σκέλη και η διαδικασία της πειραματικής έρευνας, συλλέξαμε όλα τα δεδομένα και καταγράψαμε σε αρχείο excel και τα διαχωρίσαμε σε 5 στήλες (Στήλη A: Είδος, Στήλη B: Σαλιγκάρια, Στήλη C: Βάρος W(gr), Στήλη D: Διάμεσος (mm) και Στήλη E: Όγκος βλέννας/άτομο(ml)).

Αφού έγινε η καταγραφή αυτήν, ανοίξαμε το αρχείο αυτό στο στατιστικό πρόγραμμα Jamovi, και ξεκινήσαμε να κάνουμε ανάλυση για την ποσότητα της βλέννας που συλλέχθηκε για κάθε άτομο/ομάδα ξεχωριστά.

Συγκεκριμένα, η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγιναν με χρήση περιγραφικών και επαγωγικών μεθόδων , ξεκινώντας με τον υπολογισμό βασικών στατιστικών δεικτών , όπως είναι ο μέσος όρος, η τυπική απόκλιση , η μέγιστη και ελάχιστη τιμή για τις μετρήσεις της ποσότητας και του ιξώδους της βλέννας.

Έπειτα, χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος ομοιογένειας με One-Way ANOVA καθώς και Tukey Post-Hoc Test για να διερευνηθούν εάν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές

διαφορές ανάμεσα στα δεδομένα των τριών ομάδων σε επιμέρους παραμέτρους, όπως είναι η σύσταση και η ποιότητα βλέννας, τα οποία παρουσιάζονται ως Μάζα βλέννας/Υγρή Μάζα σαλιγκαριού (gr) και ως Όγκος βλέννας/Υγρή Μάζα σαλιγκαριού (gr) αντίστοιχα.

Τέλος αφού έγινε η στατιστική ανάλυση των προαναφερόμενων δεδομένων, περάσαμε στην ποιοτική ανάλυση της συλλεγόμενης βλέννας από κάθε ομάδα ξεχωριστά με την βοήθεια του χρωματόμετρου.

3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Καταγραφή μορφομετρικών χαρακτηριστικών (μάζα σώματος-μέγεθος κελύφους, όγκος βλέννας/άτομο).

Αρχικά μετρήσαμε τα παραπάνω χαρακτηριστικά για κάθε ένα από τα 15 σαλιγκάρια

Cornu aspersum aspersum και τα καταγράψαμε στον Πίνακα 3.1.

Πίνακας 3.1 : Καταγραφή μορφομετρικών χαρακτηριστικών.

ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΑ	ΒΑΡΟΣ(kg)	ΔΙΑΜΕΤΡΟΣ(mm)	ΟΓΚΟΣ ΒΛΕΝΝΑΣ ΑΝΑ ΑΤΟΜΟ
Ca1.1	9.56	31.57	7.20
Ca1.2	9.87	32.97	7.20
Ca1.3	9.74	30.43	7.20
Ca1.4	9.90	31.16	7.20
Ca1.5	9.16	30.46	7.20
Ca2.1	13.27	35.83	7.38
Ca2.2	13.03	35.64	7.38
Ca2.3	12.99	34.79	7.38
Ca2.4	12.82	35.29	7.38
Ca2.5	12.35	35.17	7.38
Ca3.1	10.28	32.95	7.39
Ca3.2	10.29	33.33	7.39
Ca3.3	10.67	32.64	7.39
Ca3.4	11.15	30.06	7.39
Ca3.5	11.29	31.35	7.39

Έπειτα, ομαδοποιήσαμε τα 15 άτομα *C. aspersum* ανά 3 ομάδες (C1, C2, C3) και καταγράψαμε τον Μέσο Όρο, την Διάμεσο, το Ελάχιστο και το Μέγιστο για να συγκρίνουμε τις διαφορές ανάμεσα στις ομάδες, όπως καταγράφεται παρακάτω στον Πίνακα 3.2.

Πίνακας 3.2: Καταγραφή βάρους και διαμέτρου ανά ομάδα σαλιγκαριών (N=5)

σαλιγκάρια/ομάδα).

	ΟΜΑΔΕΣ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΩΝ	ΒΑΡΟΣ (kg)	ΔΙΑΜΕΤΡΟΣ ΚΕΛΥΦΟΥΣ (mm)
ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ	C1	9.65±0.30	31.32±1.04
	C2	12.90±0.35	35.34±0.41
	C3	10.73±0.47	32.06±1.34
ΔΙΑΜΕΣΟΣ	C1	9.74	31.16
	C2	12.99	35.29
	C3	10.67	32.64
ΕΛΑΧΙΣΤΟ	C1	9.16	30.43
	C2	12.35	34.79
	C3	10.28	30.06
ΜΕΓΙΣΤΟ	C1	9.90	32.97
	C2	13.27	35.83
	C3	11.29	33.33

Από τα δεδομένα που συλλέξαμε στον Πίνακα 3.2 , διαπιστώνουμε ότι τα άτομα των σαλιγκαριών που χρησιμοποιήσαμε για την πειραματική έρευνα, έχουν παρόμοιο Βάρος και Διάμετρο κελύφους, με μία ελάχιστη απόκλιση στην ομάδα C2 όπου και οι δύο παράμετροι έχουν μεγαλύτερες τιμές.

3.2 Ποσοτικά χαρακτηριστικά βλέννας

Αφού λοιπόν έγινε η ομαδοποίηση των σαλιγκαριών ανά ομάδες (C1,C2,C3) καθώς και η καταγραφή του βάρους, της διαμέτρου αλλά και του όγκου βλέννας, περνάμε στην καταγραφή των ποσοτικών χαρακτηριστικών της βλέννας που συλλέξαμε από το πείραμά μας στο πέρας των 45 λεπτών. Συγκεκριμένα, μετρήσαμε τον όγκο, το βάρος και την πυκνότητα της βλέννας ($\rho = m/V$) ανά ομάδα σαλιγκαριών, όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.3 και στην Εικόνα 3.1.

Πίνακας 3.3 : Μετρήσεις όγκου (V), Βάρους (W) και πυκνότητας (ρ).

ΟΜΑΔΑ	ΟΓΚΟΣ (V)	ΒΑΡΟΣ (W)	ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ (ρ)
C1	36	70.80	1.97
C2	36.94	99.67	2,70
C3	36.95	78.74	2,13

Στο τελικό πείραμα που πραγματοποιήθηκε, σύμφωνα με τα δεδομένα του Πίνακα 3.3, η ομάδα C2 φαίνεται να εμφάνισε την μεγαλύτερη ποσότητα βλέννας τόσο σε όγκο όσο και σε βάρος συγκριτικά με τις C1 και C2. Σε αυτό το σημείο, να επισημανθεί ότι αρχικά και τα 15 άτομα των 3 ομάδων του είδους *Cornu aspersum aspersum*, ήταν αρκετά ευκίνητα και στην αρχή του ψεκασμού η βλέννα που εκκρινόταν και από τις 3 ομάδες ήταν ικανοποιητική. Συγκεκριμένα, όσο γινόντουσαν οι επαναλήψεις του ψεκασμού σύμφωνα με το πρωτόκολλο, η ποσότητα της βλέννας που εκκρίνονταν από το σαλιγκάρι ολοένα και αυξάνονταν.

Αφού λοιπόν μετρήθηκε ο όγκος της συλλεγόμενης βλέννας από την πειραματική διαδικασία, για την ομαλή συνέχεια και ολοκλήρωση του πειράματός μας, μετρήσαμε τους 3 ογκομετρικούς σωλήνες που είχαμε στην διάθεση μας, αρχικά με το αρχικό τους βάρος και έπειτα με το τελικό τους βάρος που δημιουργήθηκε με την προσθήκη βλέννας, όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.4.

Πίνακας 3.4 : Μεταβολή βάρους ογκομετρικών σωλήνων λόγω προσθήκης βλέννας.

A/A ΟΓΚΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΣΩΛΗΝΑΣ	ΒΑΡΟΣ (gr)	ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΒΛΕΝΝΑΣ (ml)	ΒΑΡΟΣ ΜΕ ΤΗΝ ΒΛΕΝΝΑ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΧΕΤΑΙ (gr)
1 ^{ος}	35.13	36	70.80
2 ^{ος}	36.94	62	99.67
3 ^{ος}	36.94	41	78.74

3.3 Στατιστική ανάλυση για Μάζα βλέννας/ Υγρή μάζα σαλιγκαριών (gr) και για Όγκο βλέννας/Υγρή μάζα σαλιγκαριών (ml)

Για την ολοκλήρωση της στατιστικής ανάλυσης τόσο για την καταμέτρηση της μάζας βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριών , όσο και την για την καταμέτρηση του όγκου βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριών , συνεχίσαμε στον διαχωρισμό των δεδομένων που προέκυψαν από τον Πίνακα 3.2 και Πίνακα 3.3 ακολουθώντας αναγωγή για την ποσότητα της βλέννας που συλλέχθηκε. Συγκεκριμένα, η ποσότητα της βλέννας που αντιστοιχεί σε κάθε σαλιγκάρι κάθε ομάδας, παρουσιάζεται ως μάζα βλέννας/ υγρή μάζα σαλιγκαριών (gr) και ως όγκος βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριών (ml). Με αυτήν την αναγωγή των δεδομένων , θα επιτεύξουμε την διευκόλυνση της σύγκρισης της παραγωγής βλέννας τόσο στην μάζα όσο και στον όγκο της βλέννας του είδους *C.aspersum*. Συγκεκριμένα , όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.5 , υπολογίσαμε τις 4 διαφορετικές παραμέτρους (Μέσος όρος, Διάμεσος, Ελάχιστο και Μέγιστο) για την μάζα βλέννας και τον όγκο. Μάλιστα, όπως παρατηρούμε, καταγράψαμε τον μέσο όρο τόσο της μάζα βλέννας όσο και του όγκου βλέννας υπολογίζοντας και την τυπική απόκλιση ($\pm$) ούτως ώστε έπειτα να καταγράψουμε και το ελάχιστο και το μέγιστο των τιμών των δεδομένων μας.

Πίνακας 3.5: Στατιστικά στοιχεία μάζας και όγκου βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριών για κάθε ομάδα.

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΟΜΑΔΕΣ	ΜΑΖΑ ΒΛΕΝΝΑΣ/ΥΓΡΗ ΜΑΖΑ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΩΝ (gr)	ΌΓΚΟΣ ΒΛΕΝΝΑΣ/ΥΓΡΗ ΜΑΖΑ ΣΑΛΙΓΚΑΡΙΩΝ (ml)
ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ	C1	1.46 $\pm$ 0.06	0.74 $\pm$ 0.03
	C2	1.54 $\pm$ 0.07	0.57 $\pm$ 0.02
	C3	1.46 $\pm$ 0.09	0.68 $\pm$ 0.03

ΔΙΑΜΕΣΟΣ	C1	1.46	0.74
	C2	1.54	0.57
	C3	1.46	0.68
ΕΛΑΧΙΣΤΟ	C1	1.40	0.71
	C2	1.47	0.55
	C3	1.37	0.65
ΜΕΓΙΣΤΟ	C1	1.52	0.77
	C2	1.61	0.59
	C3	1.55	0.71

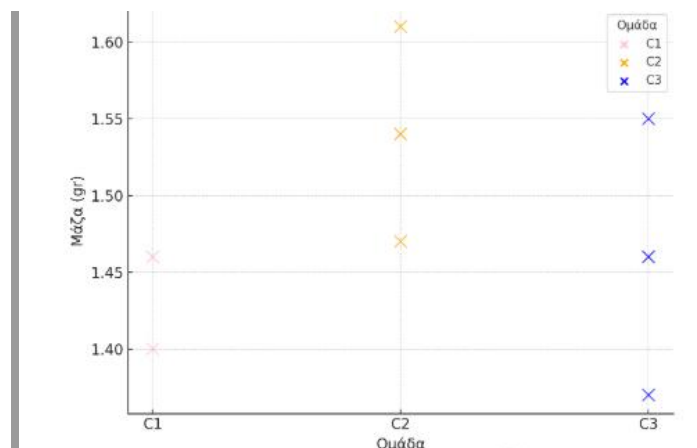
Έπειτα, με την βοήθεια του στατιστικού προγράμματος Jamovi, προχωρήσαμε σε στατιστικές αναλύσεις με απλή ανάλυση διακύμανσης One-Way ANOVA και Tukey post hoc test, ανάμεσα στην ανεξάρτητη μεταβλητή που είναι οι ομάδες, αφού τις ομαδοποιήσαμε για να γίνει με πιο ορθό τρόπο η σύγκριση (C1-C2, C2-C3, C1-C3), και στην εξαρτημένη μεταβλητή που είναι πρώτα η μάζα βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριών καθώς και ο όγκος βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριών, ώστε να εντοπιστούν εάν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις 3 ομάδες που μελετάμε.

Πίνακας 3.6 Στατιστική σύγκριση μάζας βλέννας/υγρή μάζα κάθε ατόμου του είδους *Cornu aspersum aspersum*

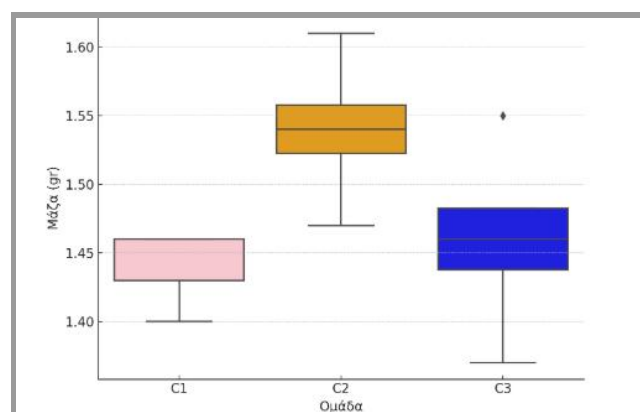
ΟΜΑΔΕΣ	F	MEAN DIFFERENCE	P-VALUE
C1-C2	0.18	0.08	0.645
C2-C3	1.59	-0.08	0.3005
C1-C3	1.69	-0.02	0.98

Πίνακας 3.7 Στατιστική σύγκριση όγκου βλέννας/υγρή μάζα κάθε ατόμου του είδους *Cornu aspersum aspersum*.

ΟΜΑΔΕΣ	F	MEAN DIFFERENCE	P-VALUE
C1-C2	156.7	-0.16	0.000
C2-C3	55.84	0.11	0.0273
C1-C3	8.92	-0.05	0.11

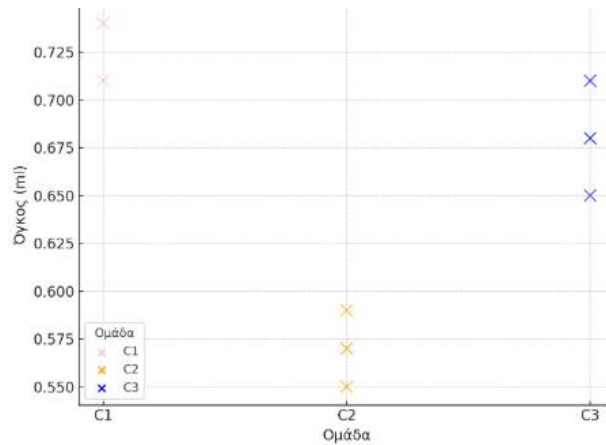


Εικόνα 3.1 : Διάγραμμα διασποράς-Scatterplot για την κατανομή της μάζας βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριών (gr) ξεχωριστά για τις ομάδες C1,C2 και C3 (Ο άξονας Y αντιπροσωπεύει την μάζα βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριών, ο άξονας X αντιπροσωπεύει τις ομάδες και κάθε σημείου- κουκίδα αντιπροσωπεύει μία παρατήρηση και μία μεμονωμένη μέτρηση για την μάζα βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριών).

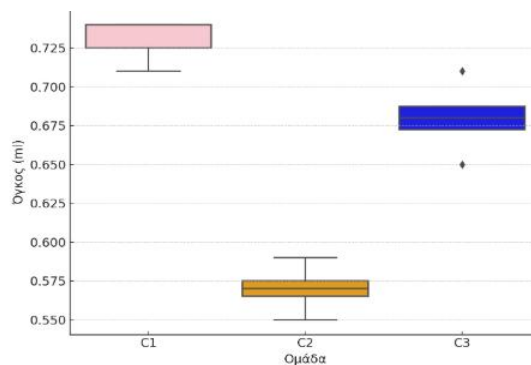


Εικόνα 3.2 : Συγκριτικό θηκόγραμμα-Boxplot για την κατανομή της μάζας της βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριών ξεχωριστά για τις ομάδες C1, C2 και C3 (Ο άξονας Y αντιπροσωπεύει την μάζα βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριών, ο άξονας X αντιπροσωπεύει τις ομάδες, τα κουτιά αντιπροσωπεύουν την κατανομή των δεδομένων για κάθε ομάδα και το 50% των δεδομένων, οι κάθετες γραμμές που βρίσκονται εκτός ορίων το ελάχιστο και το μέγιστο και η οριζόντια

γραμμή μέσα στο κουτί την διάμεσο).



Εικόνα 3.3 : Διάγραμμα διασποράς-Scatterplot για την κατανομή του όγκου βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριών (ml), ξεχωριστά για τις ομάδες C1,C2 και C3 (Ο άξονας Y αντιπροσωπεύει την μάζα βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριών, ο άξονας X αντιπροσωπεύει τις ομάδες και κάθε σημείου- κουκίδα αντιπροσωπεύει μία παρατήρηση και μία μεμονωμένη μέτρηση για τον όγκο βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριών(ml)).



Εικόνα 3.4 : Συγκριτικό θηκόγραμμα-Boxplot για την καταγραφή του όγκου βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριών (ml) ξεχωριστά για τις ομάδες C1,C2 και C3 (Ο άξονας Y αντιπροσωπεύει τον όγκο βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριών(ml), ο άξονας X αντιπροσωπεύει τις ομάδες, τα κουτιά αντιπροσωπεύουν την κατανομή των δεδομένων για κάθε ομάδα και το 50% των δεδομένων, οι κάθετες γραμμές που βρίσκονται εκτός ορίων το ελάχιστο και το μέγιστο και η

οριζόντια γραμμή μέσα στο κουτί την διάμεσο).

Όσον αφορά την καταμέτρηση της μάζας βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριών (gr), όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.5 σε συνδυασμό με την Εικόνα 3.2 , φαίνεται ότι η Μάζα της βλέννας/ υγρή μάζα σαλιγκαριού στην ομάδα C2, είναι μεγαλύτερη συγκριτικά με την ομάδα C1 και C3 με ελάχιστη απόκλιση μεταξύ βέβαια και των τριών ομάδων. Μάλιστα, παρατηρώντας τον Πίνακα 3.6, διαπιστώνεται μέσω της στατιστικής ανάλυσης που πραγματοποιήθηκε στο πρόγραμμα Jamoni, ότι γενικά δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην μάζα της βλέννας ανάμεσα στις τρεις ομάδες σαλιγκαριών που έχουμε. Αυτή η παρατήρηση , προκύπτει από το γεγονός ότι η τιμή της ‘P-value’ είναι μεγαλύτερη από το 0.05. Μάλιστα, ενώ υπάρχουν μικρές διαφορές στις τιμές των μέσων όρων όπως καταγράφεται στον πίνακα με την στήλη ‘Mean difference’, δεν είναι τόσο μεγάλες για να θεωρηθούν και σημαντικές, καθώς στην στήλη ‘F’ διαπιστώνουμε πόσο διαφέρουν οι μέσοι όροι των ομάδων, και παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει μεγάλη διακύμανση μέσα στις ομάδες λόγω της μικρής τιμής της παραμέτρου αυτής. Αυτήν η μικρή διακύμανση που υπάρχει ανάμεσα στα δεδομένα μεταξύ των ομάδων , μπορεί να διαπιστωθεί και από την Εικόνα 3.1 , όπου τα σημεία που απεικονίζονται σε αυτήν είναι διασκορπισμένα κοντά στις ίδιες περιοχές.

Από την άλλη, όσον αφορά την καταμέτρηση του όγκου βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριών (ml), όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.5 σε συνδυασμό με την Εικόνα 3.4, φαίνεται ότι ο όγκος της βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριού στην ομάδα C1 είναι μεγαλύτερος συγκριτικά με τις ομάδες C2 και C3, καθώς παρατηρείται σημαντική απόκλιση στις τιμές του όγκου ανάμεσα και στις 3 ομάδες με πιο σημαντική διαφορά την C3. Αυτή η παρατήρηση, προκύπτει από το γεγονός ότι η τιμή της P-value δεν ξεπερνάει την τιμή του 0.05. Επίσης, οι τιμές των μέσων όρων όπως αναγράφονται

στην στήλη ‘Mean difference’, παρατηρούμε ότι παρουσιάζουν μεγάλες διαφορές , όπως φυσικά παρατηρούμε και στην στήλη ‘F’, όπου μας δείχνει την μεγάλη διακύμανση ανάμεσα στους μέσους όρους των ομάδων, γεγονός το οποίο μας δείχνει και αυτό το ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στον όγκο της βλέννας/υγρή μάζα σαλιγκαριού ανάμεσα στις 3 ομάδες.

3.3 Ανάλυση ποιότητας συλλεγόμενης βλέννας

Αφού λοιπόν ολοκληρώθηκε με επιτυχία το σκέλος του πειράματος που αφορούσε την συλλογή της βλέννας και του προσδιορισμού τόσο της μάζας όσο και του όγκου αυτής για κάθε άτομο της κάθε ομάδας ξεχωριστά, προχωρήσαμε στην μελέτη του χρώματος της. Συγκεκριμένα , με την βοήθεια του χρωματόμετρου CIELAB, έγινε ο προσδιορισμός των 3 πιο σημαντικών παραμέτρων L^* , a^* , b^* (φωτεινότητα, ερυθρότητα, τάση προς κιτρίνισμα δείγματος αντίστοιχα), χρησιμοποιώντας από τις ομάδες C1,C2 και C3, 15ml της συλλεγόμενης βλέννας αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα του χρωματόμετρου παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.8.

Πίνακας 3.8: Ανάλυση χρώματος βλέννας με βάση τις παραμέτρους L^* , a^* και b^*

ΟΜΑΔΕΣ	L^*	a^*	b^*
C1	61.23	-0.38	-0.40
C2	62.92	-0.65	0.12
C3	63.92	-0.56	-0.09

Στηριζόμενοι στην βιβλιογραφία που προαναφέραμε στο Κεφάλαιο 2, στην Παράγραφο 2.3 , που αναφέρουμε τις παραμέτρους L^* , a^* και b^* , καθώς και τι προσδίδει η κάθε μία

στο δείγμα , διαπιστώσαμε κάποια σημαντικά αποτελέσματα σε συνδυασμό φυσικά με τον Πίνακα 3.8. Αρχικά , όσον αφορά την φωτεινότητα του δείγματος, που μας δείχνει η παράμετρος L^* , παρατηρούμε πως σε όλες τις περιπτώσεις ομάδων, το L^* τείνει προς το 100, άρα και οι 3 τιμές των 3 ομάδων τείνουν προς το λευκό χρώμα, , με την ομάδα C3 να έχει την μεγαλύτερη φωτεινότητα ($L^*=63.92$). Έπειτα, εξετάζοντας την παράμετρο a^* η οποία μας δείχνει την ερυθρότητα του δείγματος, συμπεραίνουμε ότι εφόσον οι τιμές και των 3 ομάδων είναι αρνητικές , τείνουν προς το πράσινο χρώμα. Συνεπώς, η ερυθρότητα του δείγματος της βλέννας είναι οριακά μηδαμινή. Τέλος όσον αφορά της παράμετρο b^* , που μας δείχνει την τάση κιτρινισμού του δείγματος, συμπεραίνουμε πως για τις ομάδες C1 και C3 , λόγω των αρνητικών τιμών, η απόχρωση της βλέννας τείνει προς το μπλε, σε αντίθεση με την ομάδα C2, όπου η τιμή αυτής της παραμέτρου είναι θετική και άρα η απόχρωσή της τείνει προς το κίτρινο. Με λίγα λόγια, διαπιστώνουμε πως και στις 3 περιπτώσεις η βλέννα είναι ανοιχτόχρωμη και με βάση τις παραμέτρους a^* και b^* ,το σύνολο της βλέννας που συλλέξαμε και από τις 3 ομάδες σαλιγκαριών έχει χρώμα μπλε προς πράσινο.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα πειραματική μελέτη, επικεντρώθηκε όπως έχει προαναφερθεί στην αξιολόγηση μεθόδων συλλογής βλέννας του είδους σαλιγκαριού *Cornu aspersum aspersum*, καθώς και στην ανάλυση τόσο των ποιοτικών όσο και ποσοτικών χαρακτηριστικών του συλλεγόμενου προϊόντος. Μέσω των αποτελεσμάτων της πειραματικής έρευνας διαπιστώνουμε την πολύτιμη αξία του κρέατος και της βλέννας των σαλιγκαριών και αυτά που προσφέρουν οι ιδιότητές τους τόσο στον πρωτογενή όσο και στον δευτερογενή τομέα.

Αρχικά , όπως έχουν αναφέρει οι Χατζηιωάννου και Στάϊκου 2015, το κρέας του συγκεκριμένου σαλιγκαριού, είναι ιδιαίτερα πλούσιο σε σελήνιο και πρωτεΐνες, γεγονός που ενισχύει την ανάπτυξη, την επιβίωση και την συνολική παραγωγικότητα χωρίς αυτό βέβαια να υποβαθμίζει την πρωτεϊνική σύσταση του κρέατος (Andrian Toader-Williams, Otilia Buicu 2011). Επιπρόσθετα, είναι πολύ διαδεδομένη η πληροφορία ότι τα σαλιγκάρια εκκρίνουν βλέννα , η οποία έχει πολύ σημαντικό βιολογικό και θεραπευτικό ρόλο. Οι Witzgall P, Kirsch P, Cork A, 2010, ανακάλυψαν ότι οι φερομόνες που περιέχονται στην βλέννα δρουν ως παράγοντες καταπολέμησης γεωργικών παρασίτων. Μάλιστα, όσον αφορά τον βιολογικό ρόλο της βλέννας, έχει αναφέρει ο Gerdal 2017, καθώς και ο Mumuni et al.2020, μέσα από έρευνές τους, ότι οι εκκρίσεις βλέννας του *Cornu aspersum aspersum*, παρουσιάζει έντονη αντιμικροβιακή δράση ιδίως έναντι Gram αρνητικών (Gram -), όπως E.coli ή *Pseudomonas aeruginosa* (Pitt et al. 2015). Πολύ σημαντικό είναι να αναφερθεί επίσης, ότι μία έρευνα που έκαναν οι Eljimi et al.2018, έδειξε ότι η βλέννα συντελεί στην εξάλειψη ανάπτυξης καρκινικών κυττάρων (μελάνωμα). Παράλληλα, οι εκκρίσεις βλέννας όπως έχουν επισημάνει οι Lodi et al.2017, ενισχύουν την γονιμότητα, καθώς παρέχουν διάφορες

βοηθητικές πρωτεΐνες, ενώ όπως έχουν αναφέρει οι Agu et al.2018 και Momoh et al.2014, αυξάνει την βιοδιαθεσιμότητα των φαρμάκων μέσω PEG και παρουσιάζει αντιδιαβητική δράση σε πειραματικά μοντέλα. Συνεπώς, λόγω των παραπάνω προαναφερόμενων ιδιοτήτων που προσδίδει η βλέννα τα τελευταία χρόνια, σύμφωνα με τους Ekin 2018 και τον δερματολόγο Jodi LoGerFo, έχουν δημιουργηθεί καλλυντικά με βάση αυτήν, τα οποία διατίθενται ως θεραπείες για διάφορες δερματολογικές αλλοιώσεις (ακμή, ρυτίδες, μελάγχρωση).

Η παρούσα προπτυχιακή διπλωματική εργασία, στόχευε στην συλλογή βλέννας του είδους *Cornu aspersum aspersum* και στην ποσοτική και ποιοτική ανάλυση των χαρακτηριστικών της. Για την συλλογή της βλέννας χρησιμοποιήθηκαν τρεις δοκιμαστικοί μέθοδοι, ενώ στο τέλος δημιουργήθηκε ένα πρωτόκολλο συλλογής με βάση ένα διάλυμα αλατόνερου. Αρχικά, η πρώτη μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε, η οποία αφορά την φυσική κίνηση των σαλιγκαριών σε λεία επιφάνεια (μάρτυρας), παρουσίασε την μικρότερη απόδοση σε ποσότητα βλέννας, λόγω της απουσίας κυρίως εξωτερικών ερεθισμάτων, αλλά ήταν και η πιο φιλική προς τα ζώα. Το μειονέκτημά της όμως, αφορά το ότι δεν είναι κατάλληλη για εφαρμογές όπου απαιτείται βιομηχανικού επιπέδου παραγωγή βλέννας. Επιπρόσθετα, οι άλλες δύο μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν αμέσως μετά την μέθοδο που περιελάμβανε τον μάρτυρα, στις οποίες χρησιμοποιήθηκε πρώτον όχληση με σπάτουλα και δεύτερον όχληση με βελόνα, φάνηκε να αποδίδουν αρκετά μεγαλύτερες ποσότητες βλέννας. Από την μία, η μέθοδος με σπάτουλα αποδείχθηκε ότι ήταν πιο αποτελεσματική συγκριτικά με την μέθοδο με βελόνα, ενώ παράλληλα διαπιστώθηκε ότι είναι λιγότερο επίπονη και επιζήμια για τα ζώα του πειράματος. Από την άλλη, η μέθοδος συλλογής βλέννας με όχληση με βελόνα, το οποίο αποτελεί ένα αιχμηρό αντικείμενο-εργαλείο, φάνηκε να είναι περισσότερο

επίπονη για τα ζώα, καθώς προκάλεσε έντονες αντιδράσεις, ενώ ενδέχεται να συνοδεύεται από μεγαλύτερο κίνδυνο τραυματισμού και μακροχρόνιας βλάβης στους ιστούς των υπό μελέτη οργανισμών. Επιπλέον, η τελευταία μέθοδος που στηρίχθηκε στα πειράματα των Trapella et al. 2018 και Mennucci et al. 2021 για την συλλογή βλέννας που αφορά την χημική όχληση με διάλυμα αλατόνερου σε συγκέντρωση 3%, είχε ως αποτέλεσμα την μεγαλύτερη απόδοση ποσότητας εκκρινόμενης βλέννας. Αφού λοιπόν επιλέχθηκε το πρωτόκολλο συλλογής βλέννας και χωρίστηκαν τα 15 ζώα σε 3 ομάδες βάσεις μάζας και διαμέτρου κελύφους, μετρήθηκαν ο όγκο, η μάζα και η πυκνότητα της συλλεγόμενης βλέννας. Συγκεκριμένα, όπως έδειξαν τα αποτελέσματα στον Πίνακα 3.3 η ομάδα C2 ήταν αυτή που εμφάνισε την μεγαλύτερη ποσότητα βλέννας τόσο σε όγκο ($V=36.94\text{ml}$) όσο και σε μάζα ($m=99.67\text{gr}$), συνεπώς και την μεγαλύτερη πυκνότητα ($p=2.70$), ενώ η ομάδα C1 ήταν αυτή που εμφάνισε την μικρότερη ποσότητα βλέννας ($V=36\text{ml}$, $m=70.80\text{gr}$, $p=1.97$). Από αυτά τα αποτελέσματα, διαπιστώνεται ότι η ομάδα C1 πιθανώς να έχει την πιο καθαρή και ίσως λιγότερη παθολογική βλέννα με βάση την πυκνότητα. Έπειτα, πραγματοποιήθηκε αναγωγή των τιμών του όγκου και της μάζας της βλέννας ανά υγρή μάζα σαλιγκαριού για την διευκόλυνση της στατιστικής ανάλυσης, η οποία έγινε με One-Way ANOVA και Tukey post hoc test. Πρώτον, όσον αφορά τόσο της μάζα/υγρή μάζα σαλιγκαριού, η ομάδα C2, όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.5 και στην Εικόνα 3.2 έχει τις μεγαλύτερες τιμές ($m=1.56\text{gr}$) χωρίς βέβαια να υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά ανάμεσα και στις 3 ομάδες. Δεύτερον, όσον αφορά τον όγκο/υγρή μάζα σαλιγκαριού, η ομάδα C1, όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.5 και στην Εικόνα 3.4 έχει τις μεγαλύτερες τιμές ($V=0.74\text{ml}$), με εμφάνιση βέβαια σε αυτήν την περίπτωση στατιστικά σημαντικών διαφορών. Αυτές οι διαφορές στις τιμές των μορφομετρικών

χαρακτηριστικών της συλλεγόμενης βλέννας, οφείλεται στο γεγονός ότι τα ζώα σε κάθε ομάδα ξεκίνησαν να εκκρίνουν βλέννα σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα.

Η τελευταία παράμετρος και η πιο σημαντική στην προκειμένη έρευνα που έγινε ανάλυση ήταν το χρώμα της βλέννας με την βοήθεια χρωματόμετρου. Με βάση τον Πίνακα 3.8, διαπιστώνεται ότι και στις 3 ομάδες η φωτεινότητα (L^*) της βλέννας έτεινε προς το λευκό, η ερυθρότητα (a^*) έτεινε προς το πράσινο και ο κιτρινισμός (b^*) ενώ στις ομάδες C1, C3 ήταν ελάχιστος και η βλέννα έτεινε προς το μπλε, στην ομάδα C2 η βλέννα έτεινε προς το κίτρινο. Αυτός ο κιτρινισμός στο χρώμα της βλέννας, υποδεικνύει την παρουσία κάποια φλεγμονής ή μόλυνσης, η οποία βάσει τον Barker 2004 σχετίζεται με βακτηριακή εισβολή στα κύτταρα της επιδερμίδας στην αιμολέμφο και στην αναπαραγωγική οδό.

Η σύγκριση των διαφορετικών μεθόδων συλλογής βλέννας, αναδεικνύει την αναγκαιότητα καθιέρωσης ενός σταθερού αναπαραγωγίμου και ηθικά αποδεκτού πρωτοκόλλου, το οποίο θα εξασφαλίζει υψηλή αποδοτικότητα χωρίς να επιβαρύνει την υγεία και την ευζωία των σαλιγκαριών. Παράλληλα, τα πειραματικά ευρήματα υποστηρίζουν την δυναμική του είδους *Cornu aspersum aspersum* ως βιολογικού οργανισμού με προοπτικές αξιοποιήσεις των ιδιοτήτων του σε φαρμακευτικές εφαρμογές, σε καλλυντικά προϊόντα και τεχνολογίες χορήγησης φαρμάκων

Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα της παρούσας προπτυχιακής εργασίας με παρόμοιες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στο ίδιο πλαίσιο, παρατηρείται ότι τα είδη *Cornu aspersum aspersum*, *Eobania Vermiculata* και *Helix lucorum* αποτελούν 3 πολύ σημαντικά εμπορεύσιμα είδη που διαβιώνουν στην Ευρώπη, καθώς τόσο το κρέας τους όσο και η εκκρινόμενη βλέννα παρέχουν αρκετά σημαντικές ιδιότητες. Συγκεκριμένα οι εργασίες των Μαρία Τσαβδαρίδου 2024 και Ευτυχία Φούκα 2024 με θέμα την

αξιολόγηση μεθόδων συλλογής και ποιοτικών χαρακτηριστικών της βλέννας του Πνευμονοφόρου Γαστερόποδου *Eobania Vermiculata* και *Helix lucorum* αντίστοιχα, έδειξαν σημαντικές διαφορές στα αποτελέσματα της πειραματικής μελέτης. Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκαν 3 ίδιες πειραματικές μελέτες για συλλογή βλέννας στα είδη *Cornu aspersum aspersum*, *Eobania Vermiculata* και *Helix lucorum* στις οποίες χρησιμοποιήθηκε το ίδιο πρωτόκολλο συλλογής βλέννας, δηλαδή ο ψεκασμός με 3% αλατόνερο, καθώς ήταν η μέθοδος που αποδείχθηκε περισσότερο αποτελεσματική και η μέθοδος που είχε ως αποτέλεσμα την έκκριση βλέννας σε μορφή τζελ. Υπήρξαν διαφορές στα αποτελέσματα στην ποσότητα και την ποιότητα της βλέννας, καθώς αναφερόμαστε αφενός σε 3 εμπορικά είδη αφετέρου με διαφορετικά μορφολογικά και φυσιολογικά χαρακτηριστικά (μήκος σώματος, μάζα, ρυθμός ανάπτυξης, προσαρμοστικότητα κ.α). Αρχικά, είναι σημαντικό να αναφερθεί πως οι μεγαλύτεροι οργανισμοί έχουν περισσότερους αδένες και αποθήκες βιολογικών υγρών, άρα και δυνατότητα για μεγαλύτερη ποσότητα έκκρισης βλέννας. Βάσει αυτού, παρατηρείται ότι το *Helix lucorum* παρουσιάζει τον μεγαλύτερο όγκο βλέννας και στις 3 ομάδες σαλιγκαριών (L1=73ml) συγκριτικά με τα είδη *Cornu aspersum aspersum* (C2=36.95ml) και *Eobania Vermiculata* (E3=39ml), καθώς είναι από τα 3 εξεταζόμενα είδη το πιο μεγάλο σε μέγεθος. Έπειτα, όσον αφορά την μάζα της βλέννας, το *C. aspersum* είναι αυτό που παρουσιάζει την μεγαλύτερη μάζα βλέννας (C2=99.67gr), ενώ το είδος *Eobania Vermiculata* παρουσιάζει την μικρότερη μάζα βλέννας (E2=22gr), καθώς είναι από τα 3 είδη το μικρότερο και επομένως η απόλυτη έκκριση ανά οργανισμό είναι αρκετά περιορισμένη. Επιπλέον, όσον αφορά την πυκνότητα της μάζας, στο είδος *Cornu aspersum aspersum* διαπιστώθηκε ότι φτάνει έως και 2.7gr/ml και είναι περισσότερο συμπυκνωμένη (ομάδα C2), ενώ στα άλλα δύο είδη έτεινε στο 1gr/ml.

Αυτή η υψηλή τιμή όπως θα αναφερθεί παρακάτω, έχει ως αποτέλεσμα πιθανή απόκκριση σε φλεγμονή βάσει της ποιοτικής αξιολόγησης με το χρωματόμετρο που ακολούθησε μετά την ποιοτική ανάλυση του όγκου και της μάζας βλέννας. Συγκεκριμένα και στα 3 είδη το χρώμα της βλέννας έτεινε προς το λευκό, καθώς η παράμετρος φωτεινότητας L^* ήταν υψηλή. Μάλιστα η ερυθρότητα και στα 3 είδη ήταν μηδαμινή καθώς η παράμετρος ερυθρότητας a^* είχε αρνητικές τιμές και τέλος η πιο σημαντική παρατήρηση ήταν στην παράμετρο κιτρινισμού b^* , όπου στα είδη *Cornu aspersum aspersum* και *Eobania Vermiculata* υπήρξε κιτρινισμός (C2 και E2 αντίστοιχα). Αυτός ο κιτρινισμός ίσως υποδεικνύει κάποια βακτηριακή εισβολή (Barker 2004), γνωστό και ως φαινόμενο ‘Yellow Fluorescence’. Συμπερασματικά, το *Helix lucorum* όντας το μεγαλύτερο αλλά και το πιο ευάλωτο χερσαίο γαστερόποδο συγκριτικά με τα άλλα δύο, παρουσίασε τις μεγαλύτερες εκκρίσεις βλέννας, ενώ παράλληλα μετά την ανάλυση στο χρωματόμετρο, διαπιστώθηκε ότι αυτό το είδος είχε εν τέλει την πιο καθαρή και φυσιολογική βλέννα, χωρίς χρωματικές αλλοιώσεις. Έπειτα, έρχεται το είδος της παρούσα προπτυχιακής διπλωματικής εργασία *Cornu aspersum aspersum* και τέλος το είδος *Eobania Vermiculata*, το οποίο δεν παρουσίασε μεγάλες ποσότητες εκκρινόμενης βλέννας.

5.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η σαλιγκαροτροφία τόσο στην Ελλάδα όσο και σε παγκόσμιο επίπεδο, αποδείχθηκε ότι είναι τρομερά σημαντική και πολύτιμη, καθώς όχι μόνο το κρέας των σαλιγκαριών αλλά και η βλέννα που εκκρίνουν διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην οικονομία και στην υγεία. Αναφερόμαστε σε δύο περιπτώσεις οι οποίες σε βάθος χρόνου, μέσω ερευνών επιστημονικών και μελετών απέδειξαν ότι ενισχύουν αυτούς τους δύο κλάδους. Από την μία πλευρά έχουμε το κρέας των σαλιγκαριών, το οποίο αποτελεί εκλεκτό και gourmet έδεσμα σε χώρες παγκοσμίως, όπως είναι η Γαλλία, η Ιταλία, η Ισπανία και η Ελλάδα, ενώ παράλληλα πωλείται στο εμπόριο με αποτέλεσμα να αυξάνεται η αγρονομική βιομηχανία μέσω των εξαγωγών που πραγματοποιούνται. Από την άλλη, έχουμε και την εκκρινόμενη βλέννα, η οποία περιέχει βιοενεργά συστατικά, τα οποία συντελούν σε επούλωση τραυμάτων, σε δημιουργία φαρμάκων κατά διάφορων ασθενειών και στην ενυδάτωση του δέρματος.

Λόγω λοιπόν αυτής της σημαντικότητας και των πλεονεκτημάτων που αντανακλώνται από την εκτροφή των σαλιγκαριών, σχεδιάστηκε ένα πρωτόκολλο συλλογής βλέννας από σαλιγκάρια του είδους *Cornu aspersum aspersum* και ακολούθησε αξιολόγηση ποσοτικών και ποιοτικών χαρακτηριστικών της εκκρινόμενης βλέννας. Το πρωτόκολλο αυτό, αναφέρεται στην συλλογή της βλέννας μέσω του ψεκασμού των ζώων με διάλυμα αλατόνερου 1:3 , το οποίο εφαρμόστηκε σε 15 σαλιγκάρια τα οποία χωρίσαμε για την διευκόλυνση της πειραματικής διαδικασίας σε 3 ομάδες των 5 ατόμων η καθεμία. Μάλιστα και στις τρεις περιπτώσεις , παρατηρήσαμε την βλέννα σε μορφή τζελ, γεγονός το οποίο ευνόησε την ποιοτική ανάλυση του χρώματός της.

Όταν λοιπόν ολοκληρώθηκε η συλλογή της βλέννας έπειτα από τον ψεκασμό που ακολούθησε με βάση το πρωτόκολλο που δημιουργήθηκε έγινε διαχωρισμός των 15

ζώων σε 3 ομάδες των 5 ατόμων η καθεμία και προσδιορίστηκε ο όγκος και η μάζα της βλέννας, καθώς και η πυκνότητα. Συγκεκριμένα, ο μέσος όρος του όγκου βλέννας ήταν 36.6ml και ο μέσος όρος της μάζας βλέννας ήταν 59.47gr, ενώ για κάθε σαλιγκάρια παράγεται 1gr βλέννας ανά μονάδα μάζας σαλιγκαριού. Το τελικό στάδιο ήταν η ανάλυση του χρώματος και ο προσδιορισμός των παραμέτρων L^* , a^* , b^* με την βοήθεια του χρωματόμετρου. Η ανάλυση αυτή, έδειξε ότι η φωτεινότητα L^* όλων των ομάδων τείνει προς το λευκό, η ερυθρότητα a^* είναι πολύ χαμηλή καθώς και στις τρεις περιπτώσεις η απόχρωση τείνει προς το πράσινο και τέλος όσον αφορά τον κιτρινισμό του δείγματος b^* , η ομάδα C2 εμφάνισε μεγαλύτερη κίτρινη απόχρωση σε σύγκριση με τις ομάδες C1 και C3, που εμφάνισαν μεγαλύτερη κυάνωση. Επομένως, η συνολική ποσότητα βλέννας που εκκρίθηκε, είχε απόχρωση μπλε προς πράσινο.

Εν κατακλείδι, η παρούσα πειραματική μελέτη, τεκμηριώνει την δυνατότητα αύξησης της αποδοτικότητας στην συλλογή βλέννας, μέσω διαφορετικών μεθόδων, ενώ παράλληλα μέσω αυτής διαπιστώνεται η σημαντικότητα της εκκρινόμενης βλέννας και οι εφαρμογές της σε πολλούς τομείς όπως είναι η υγεία, η κοσμητολογία κλπ. Ταυτόχρονα, υποδεικνύεται η ανάγκη περαιτέρω μελετών σχετικά με την μακροχρόνια επίδραση των μεθόδων συλλογής βλέννας τόσο στην ευζωία των σαλιγκαριών όσο και στην παραγωγική τους ικανότητα.

6. ABSTRACT

In this undergraduate thesis a protocol for the collection of mucus from the snail *Cornu aspersum aspersum*, which results from a laboratory study of mucus collection of this gastropod, is presented in order to evaluate and compare methods of mucus collection as well as the qualitative and quantitative analysis of this mucus. This research includes a general literature review of snail farming, farming systems and the biology of the species under study, as well as an emphasis on the importance of mucus and its components in pharmaceuticals, biotechnology and cosmetics.

The experimental part of this thesis involves the application of three different methods of mucus collection from 15 snails for which screening was carried out based on their quantitative characteristics. These methods, are physical movement on a glass surface and excretion, mechanical disturbance with a spatula and disturbance with a needle. In addition, the use of a salt water solution in a 1:3 ratio for stimulation of secretion, which was ultimately the method on which the experimental research was based, was also evaluated. The collected mucus, was measured in terms of quantity, and evaluated in terms of its characteristics and quality using the method of colorimetry.

The results showed variations in the effectiveness of each method, while the analysis of mucus showed both its antimicrobial and anticancer activity and its ability to be used as a means of transporting pharmaceutical substances.

Key words: *Cornu aspersum aspersum*, Snail farming, Mucilage, Colorimetry, Collection methods, Mucilage quality, Collection protocol.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία :

Andrian TOADER-WILLIAMS, Otilia BUICU (2011), Technological and Economical Consideration for Breeding Terrestrial Snails Cornu aspersum (Helix aspersa Muller) and Helix pomatia as Alternative Animal Protein Source for Human Consumption towards Ecological Protection and Sustainable Development, pg.287, 295.

Anna Herman, Patrycia Winska, Malgorzata Biatak and Andrej P.Herman, 2024, Biological properties of the Mucus and Eggs of Helix aspersa Muller as a potential Cosmetic and Pharmaceutical Raw Material.

Barker G.M. (2004), Natural enemies of terrestrial molluscs.

Chedli Ellijimia , Manel Ben Hammoudab , Houcemeddine Othmana , Wassim Moslaha , Jed Jebalia , Hazem Ben Mabrouka , Maram Morjena , Meriam Haouesc , José Luisd , Naziha Marrakchia , Khadija Essafi-Benkhadirb , Najet Srairi-Abida, (2018), Helix aspersa maxima mucus exhibits antimelanogenic and antitumoral effects against melanoma cells, pg.1-2, 8-9.

El Mubarak, M. A. S., Lamari, F. N., Kontoyannis, C. (2013) Simultaneous determination of allantoin and glycolic acid in snail mucus and cosmetic creams with high performance liquid chromatography and ultraviolet detection. Journal of Chromatography A, 1322, 49-53.

Francisco Welter-Schultes, Cristian R. Altaba, Cédric Audibert, Hartmut Nordsieck, Dieter Weyer, Neal L. Evenhuis, Yves Cambefort, Hans Fery, J. Paclt, J.W. Phillips, D.J. Simcox, P.R. Eeles, (1 March 201) Comment on Cornu Born, 1778 (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, helicidae): request for a ruling on the availability of the generic name.

Giovani Cilia and Fillipo Fratini (March 2017, 2018), Antimicrobial properties of terrestrial snail and slug mucus.

İhsan EKİNİ, Rıdvan ŞEŞEN2 (2018), Molluscs: Their usage as nutrition, medicine, aphrodisiac, jewelry, cowry, pearl, accessory and so on from the history to today, page 47.

Kaylene R.Ballard, Anne H.Klein, Richard A. Hayes, Tianfang Wang, Scott, F.Cummins (2021), The protein and volatile components of trail mucus in the Common Garden Snail, Cornu aspersum.

Khrokalo Livdmyla, Chychyrynets Olena, Salitra Nadiia (3 March 2022), Chemical properties of Helix aspersa mucus as a component of cosmetics and pharmaceutical products, p. 7650-7651.

Lawrence B. Etim , Chucu Aleruchi and Gowdin Attah Obande (2016), Antimicrobial Properties of Snail Mucus on Bacteria Isolated from Patients with Wound Infection, pg. 2-3

Libre Texts libraries (23/11/24), Boundless-General biology, pg. 28.3E.1

Michaela Liegertova, Jan Maly (2023), Gastropod Mucus: Interdisciplinary Perspectives on Biological Activities, Application and Strategic Priorities.

Mihaela Belouhova, Elmira Daskalova, Ivayla Yotinov, Yana Topalova, Lyudmila Velkova, Aleksander Dolashui, Pavlina Dolashka (7 January 2022), Microbial diversity of garden snail mucus, pg 7.

N. Kostadinova, Y. Voynikov, A. Dolashki, E. Krumova, R. Abrashev, D. Kowalewski, S. Stevanovic, L. Velkova, R. Velikova, P. Dolashka, (2017), Antioxidative screening of fractions from the mucus of garden snail Cornu aspersum.

Pitt SJ, Graham MA, Dedi CG, Taylor Harris PM and Gunn A (January 2015), Antimicrobial properties of mucus from the brown garden snail Helix aspersa, pg. 2-4, 174-181.

Trapella C., Gallo S., Alogna A., Bortolotti D., Casciano F., Zauli G., Secchiero P., Voltan R. (2018) Helix Complex snail mucus exhibits pro-survival, proliferative and promigration effects on mammalian fibroblasts, page

Tsoutsos D., Kakagia, D., Tamparopoulos, K. (2009), The efficacy of Helix aspersa Müller extract in the healing of partial thickness burns: a novel treatment for open burn management protocols.

Ultra Metal Finishing (UMF) Corporation (Apr 25, 2023), Understanding the CIELAB (L, a*, b*) Scale.*

Van de Graaf, K.M. Adams , B.J and Crowely J.L (Morton Publishing Company, 2013) 'Van de Graaf's Photographic Atlas for the Biology Laboratory.

Wargala E., Zalewska A., Slawska M., Kot I. (2023) Snail mucus as an innovative ingredient used in the cosmetology and medical industry., page 45-49

Ελληνόγλωσση βιβλιογραφία:

Αθηνά Δοξαριώτη (2018) , Ανθρακικό αποτύπωμα μονάδων ανοιχτής και μικρής εκτροφής σαλγκαριών, Σελ. 16-24

Ελευθέριος Γ.Χατζής, Γεωπόνος (2015), Ανάπτυξη μεθόδων μέτρησης χρώματος νωπών αγροτικών προϊόντων με ανάλυση ψηφιακών εικόνων, Σελ 24-29

Κουγιαγκά Ευκαρπία (2022), Ποιοτικά χαρακτηριστικά και αυθεντικότητα του κρέατος των εκτρεφόμενων σαλιγκαριών και μέθοδος βελτίωσής τους , Σελ 15,16.

*Κυρίτση Μαρία(2022), Προσδιορισμός και κατανομή μικροβιώματος στο πεπτικό σύστημα του εδώδιμου χερσαίου σαλιγκαριού *Cornu aspersum maxima* μέσω αλληλούχησης του 16sRNA , Σελ 10,11.*

Κωνσταντίνος Αποστόλου (2021), Μέθοδοι εκτροφής, παραγωγικά χαρακτηριστικά και δείκτες ευζωίας στην σαλιγκαροτροφία, Σελ 1-3, 9-11.

Μαριάνθη Χατζιωάννου , Αλεξάνδρα Σταΐκου (2015), Βιολογία και Εκτροφή Γαστερόποδων, Σαλιγκαροτροφία .

*Παπακωνσταντίνου Αικατερίνη(2018), Μελέτη της χημικής σύστασης και της δράσης της βλέννας του σαλιγκαριού *Helix aspersa* , Σελ 12-17*

Ρούτση Αριστεΐδη , Υγιεινή της Εκτροφής Σαλιγκαριών, Hygiene of Snail breeding, σελ. 11,16,, 25-36.

*Τσαβδαρίδου Μαρία (2024), Αξιολόγηση μεθόδων συλλογής και ποιοτικών χαρακτηριστικών της βλέννας του Πνευμονοφόρου Γαστερόποδου *Eobania vermiculata*.*

*Φούκα Ευτυχία (2024), Αξιολόγηση μεθόδων συλλογής και ποιοτικών χαρακτηριστικών της βλέννας του Πνευμονοφόρου Γαστερόποδου *Helix lucorum*.*