

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

**ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΙΧΘΥΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΥΔΑΤΙΝΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Επιπτώσεις της χρήση μυκοδεσμευτικών παραγόντων στην ανάπτυξη
εντατικά εκτροφόμενων ιχθύων»**

Απόστολος Μπόκος, Ιωάννης Γάνεμ, Ευάγγελος Ανδρέας Κασταμονίτης

ΒΟΛΟΣ 2023

**«Επιπτώσεις της χρήση μυκοδεσμευτικών παραγόντων στην ανάπτυξη εντατικά
εκτροφόμενων ιχθύων»**

Τριμελής Εξεταστική επιτροπή:

- 1. Γκολομάζου Ε., Προστασία-Ευζωία Ιχθύων, Επ. Καθηγήτρια ΠΘ,
Επιβλέπουσα**
- 2. Παναγιωτάκη Π., Υδατοκαλλιέργειες, Καθηγήτρια ΠΘ, Μέλος**
- 3. Καραπαναγιωτίδης Ι., Διατροφή Υδρόβιων Ζωικών Οργανισμών, Αν.
Καθηγητής ΠΘ, Μέλος**

*Αφιερωμένο στις οικογένειες μας
και στους φίλους μας*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα θέλαμε να εκφράσουμε τις ειλικρινείς μας ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρουμε σε πέρας την παρούσα Προπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε την Επιβλέπουσα της εργασίας αυτής, κα Γκολομάζου Ελένη για την πολύτιμη βοήθειά της και τη διαρκή υποστήριξή της, κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας, καθώς και τα υπόλοιπα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, αποτελούμενη από τους κα Παναγιωτάκη Παναγιώτα και τον κ. Καραπαναγιωτίδη Ιωάννη, για το χρόνο τους αλλά και την ευγένεια με την οποία δέχθηκαν να αξιολογήσουν την παρούσα εργασία.

Ακόμα θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε την κα Παπαδούλη Χριστίνα για την άμεση και ανιδιοτελή βοήθεια της και την αμέριστη συμπαράστασή της κατά τη διάρκεια του πειράματος

Τέλος, θα θέλαμε να εκφράσουμε τις ευχαριστίες μας στην οικογένειά μας για την

αμέριστη συμπαράσταση, βοήθεια και προ πάντων κατανόηση και ανοχή καθ' όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η περιορισμένη διαθεσιμότητα πηγών πρωτεΐνης θαλάσσιας προέλευσης έχει στρέψει το ενδιαφέρον στην παραγωγή ιχθυοτροφών με υψηλή περιεκτικότητα σε συστατικά φυτικής προέλευσης, όπως φυτικά άλευρα και έλαια. Έτσι υπάρχει και προστασία και μείωση της χρήσης των ζώων για παραγωγή ζωοτροφών. Όμως τα φυτικά προϊόντα περιέχουν μυκοτοξίνες, οι οποίες μπορεί να προκαλέσουν ζημιά στους οργανισμούς που τρέφονται με αυτά. Η παρούσα μελέτη καλείται να διερευνήσει την έκταση του προβλήματος που δημιουργούν οι μυκοτοξίνες στις υδατοκαλλιέργειες και το πως τα μυκοδεσμευτικά μπορούν να περιορίσουν τη δράση τους. Στο πείραμά μας χρησιμοποιήσαμε άτομα τσιπούρας (*Sparus aurata*), τα οποία τοποθετήθηκαν σε ενυδρεία και ταϊστήκαν για 14 εβδομάδες. Οι δίαιτες που χρησιμοποιήθηκαν αφορούσαν αυτούσιες μυκοτοξίνες, μυκοδεσμευτικά, μυκοτοξίνες σε συνδυασμό με μυκοδεσμευτικά και τροφή χωρίς την παρουσία κάποιας άλλης ουσίας. Μετά από το πέρας της πειραματικής διαδικασίας, έγιναν μετρήσεις όλων των μορφολογικών και αναπτυξιακών παραμέτρων. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε μέσω του IBM SPSS Statistics έκδοση 26. Αφού έγινε η καταγραφή των αποτελεσμάτων στην συνέχεια προχωρήσαμε στην ανάλυσή τους. Τέλος, καταλήξαμε στο συμπέρασμα ότι οι μυκοτοξίνες είναι επιβλαβείς για την ανάπτυξη των ατόμων τσιπούρας, ενώ τα μυκοδεσμευτικά είναι μια λύση για τον περιορισμό της δράσης τους.

Λέξεις – Κλειδιά: μυκοτοξίνες, τσιπούρα, μυκοδεσμευτικά, AFB1, FB, DON, ανάπτυξη ιχθύων

Περιεχόμενα

1.Εισαγωγή.....	1
1.1Μυκοτοξίνες.....	2
1.1.1Είδη μυκοτοξινών ανάλογα με την παρουσία τους.....	3
1.1.2 Κατάλληλες συνθήκες.....	4
1.1.3 Μυκοτοξίκωση.....	4
1.2 Αφλατοξίνες.....	5
1.3 Φουμονισίνες.....	6
1.4 Ωχρατοξίνη.....	8
1.5 Τριχοθηκένια.....	9
1.6 Ζεαραλενόνη.....	12
1.7 Μποβερικίνη.....	13
1.8 Εννιατίνες.....	14
1.9 Μονολιφόρμη.....	15
1.10 Μυκοδεσμευτικά.....	17
1.11 Ταυτόχρονη μόλυνση από διαφορετικές μυκοτοξίνες.....	19
1.12 Στόχος της μελέτης.....	20
2. Υλικά και μέθοδοι.....	22
2.1 Ποιότητα νερού.....	23
2.2 Τροφοδοσία.....	23
2.3 Τελικό στάδιο του πειράματος.....	23
3. Αποτελέσματα.....	24
3.1 Τελικό μέσο βάρος.....	25
3.2 Αύξηση βάρους.....	26
3.3 Αύξηση βιομάζας.....	28
3.4 Τελικό μέσο μήκος.....	29
3.5 Δείκτης SGR.....	30
3.6 Θνησιμότητα ιχθύων.....	31
4. Συζήτηση.....	31
5. Συμπέρασμα.....	38
6. Βιβλιογραφία.....	42
6.1 Ελληνική Βιβλιογραφία.....	42

6.2 Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία.....	43
6.3 Ηλεκτρονική Βιβλιογραφία.....	56
7. Abstract.....	56

1.Εισαγωγή

Η παραγωγή ψαριών το 2012 ξεπέρασε τους 158 εκατομμύρια μετρικούς τόνους, ενώ η συνολική αξία από την αγοροπωλησία ψαριών σε παγκόσμια κλίμακα ξεπέρασε τα 129 δισεκατομμύρια δολάρια. Η υδατοκαλλιέργεια αποτελεί τον ταχύτερα αναπτυσσόμενο τομέα παραγωγής τροφίμων για περισσότερες από τέσσερις δεκαετίες, ενώ ολοένα και μεγαλύτερο μερίδιο ψαριών που εισέρχονται στις παγκόσμιες αγορές προέρχεται από την υδατοκαλλιέργεια. Με τον γρήγορο ρυθμό ανάπτυξης των υδατοκαλλιεργειών η ζήτηση για ιχθυοτροφές αναμένεται να συνεχίσει να αυξάνεται αναλογικά. Οι ιχθυοτροφές αποτελούν πολύ σημαντικό μέρος της βιομηχανίας των υδατοκαλλιεργειών και αποτελεί το 40-50% του συνολικού κόστους παραγωγής σε μια εντατική εκτροφή (Goncalves *et al.*, 2008)

Η πλειοψηφία των ιχθυοκαλλιεργητών στις ανεπτυγμένες χώρες χρησιμοποιούν τοπικές τροφές ψαριών ή εμπορικά εισαγόμενες ζωοτροφές. Οι εισαγόμενες ιχθυοτροφές είναι πιο ακριβές από τις τοπικές, με αποτέλεσμα οι περισσότεροι να χρησιμοποιούν συνήθως τοπικές ιχθυοτροφές που παράγονται και αποθηκεύονται σε μεγάλες ποσότητες με σκοπό την μείωση του κόστους και την αύξηση των περιθωρίων του κέρδους. Η άποψη αυτή τείνει να επικρατήσει σε παγκόσμια κλίμακα, καθώς βοηθάει σημαντικά με την προστασία του περιβάλλοντος, αφού μειώνεται η χρήση των ιχθύων για την παραγωγή ζωοτροφών, εφόσον οι τοπικές τροφές παράγονται ως επί το πλείστον από φυτικά συστατικά. Οι τοπικές τροφές παράγονται συνήθως από τοπικά διαθέσιμα φυτά όπως ρύζι, καλαμπόκι, ηλιόσπορος και σόγια. Τέτοια συστατικά συχνά υπόκεινται σε μόλυνση κατά τη διάρκεια της συλλογής τους ή λόγω των κακών συνθηκών αποθήκευσής τους

(Centoducati *et al.*, 2009). Παρατεταμένη αποθήκευση και υψηλές τιμές θερμοκρασίας και υγρασίας μπορούν να οδηγήσουν στην ανάπτυξη μυκητίασης και την παραγωγή μυκοτοξινών. Έτσι προκύπτει σοβαρό πρόβλημα σχετικά με την ποιότητα των ζωοτροφών και κατ' επέκταση με την υγεία των ψαριών και των ανθρώπων που αποτελούν τους καταναλωτές. Οι μυκοτοξίνες στα ψάρια εκτροφής έχουν αυξηθεί τα τελευταία χρόνια λόγω της αυξανόμενης χρήσης φυτικών υλικών ως συστατικά των ιχθυοτροφών. Η περιεκτικότητα των ψαριών εκτροφής σε μυκοτοξίνες συνεχίζει να προκαλεί ανησυχία σχετικά με το πόσο ασφαλή είναι προκειμένου να καταναλωθούν (Anater *et al.*, 2016)

1.1 Μυκοτοξίνες

Μυκοτοξίνες ονομάζονται οι δευτερογενείς μεταβολίτες οι οποίοι παράγονται από μύκητες που περιέχονται στα φυτά είτε πριν τη συγκομιδή και αποθήκευσή τους είτε μετά (Bennett και Klich, 2003, Kabak *et al.*, 2006). Από τα 14.000 είδη μυκήτων που υπάρχουν στην φύση, περίπου τα 2.000 είναι γνωστό ότι είναι ασφαλή για κατανάλωση και περίπου 700 έχουν σημαντικές φαρμακευτικές ιδιότητες (Kalac, 2016). Υπάρχουν διάφορα είδη μυκοτοξινών. Εκείνες που εισέρχονται στα σιτηρά πριν τη συγκομιδή και εκείνες που εισέρχονται μετά κατά την διάρκεια της αποθήκευσης, εξαιτίας υψηλών θερμοκρασιών και υγρασίας και αν η πυκνότητα της μάζας των μυκήτων είναι ευνοϊκή (Gurbuzel *et al.*, 2015). Οι περισσότερες μυκοτοξίνες είναι χημικά σταθερές και επιβιώνουν και μετά από την επεξεργασία που υπόκεινται τα τρόφιμα (Berbegal *et al.*, 2019).

1.1.1 Είδη μυκοτοξινών ανάλογα με την παρουσία τους

Γενικότερα, όσον αφορά τις τοξίνες εκείνες που εισέρχονται πριν τη συγκομιδή, συναντώνται διαφορετικά είδη μικροοργανισμών που τις παράγουν αναλόγως τα επίπεδα υγρασίας του σιτηρού (20-22 %). Πιο αναλυτικά, οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε πολλά τρόφιμα όπως ξηροί καρποί, δημητριακά, μπαχαρικά και αποξηραμένα φρούτα και παράγουν τις τοξίνες. Κάποια από αυτά ανήκουν στα γένη *Fusarium* (*trichothecenes*, *zearalenone*, *fumonisin*), *Claviceps* και *Neotyphodium* (*ergot*, *alkaloids*).

Υπάρχουν και τα είδη που εισχωρούν μετά από τη συγκομιδή των σιτηρών, τα οποία ανήκουν στο γένος *Aspergillus* όπου είναι πρωτίστως υπαίτια για την παραγωγή των αφλατοξινών και από τα γένη *Penicillium*, *Monascus* ή *Mucor* στη συλλογή τροφών και στα ενσίρωματα. Το γένος *Fusarium* περιλαμβάνει είδη που είναι μέρος της χλωρίδας του χωραφιού (φυτοπαθογενή υλικά, ζώντα φυτά) και της ενδιάμεσης χλωρίδας (υποστρωμάτων ή φρέσκο-μαζεμένων και νωπών σιτηρών δημητριακών). Οι περισσότεροι μυκοτοξινογόνοι μύκητες που αναπτύσσονται στον αραβόσιτο του χωραφιού δεν μπορούν να αναπτυχθούν σε συνθήκες ενσίρωσης μετά τη συγκομιδή εάν το ενσίρωμα συμπυκνωθεί και σφραγιστεί ερμητικά (Vandicke J. *et al.*, 2021). Τα πιο συνηθισμένα γένη για την παραγωγή τοξινών είναι τα *Aspergillus*, *Penicillium* και *Fusarium*. Οι πιο συνηθισμένοι μικροοργανισμοί που προκαλούν ασθένειες στον άνθρωπο και στα

ζώα είναι οι φουμονισίνες, η ωχρατοξίνη, η ζεαραλενόνη, η αφλατοξίνη και τα τριχοθηκένια (Abbas, 2019).

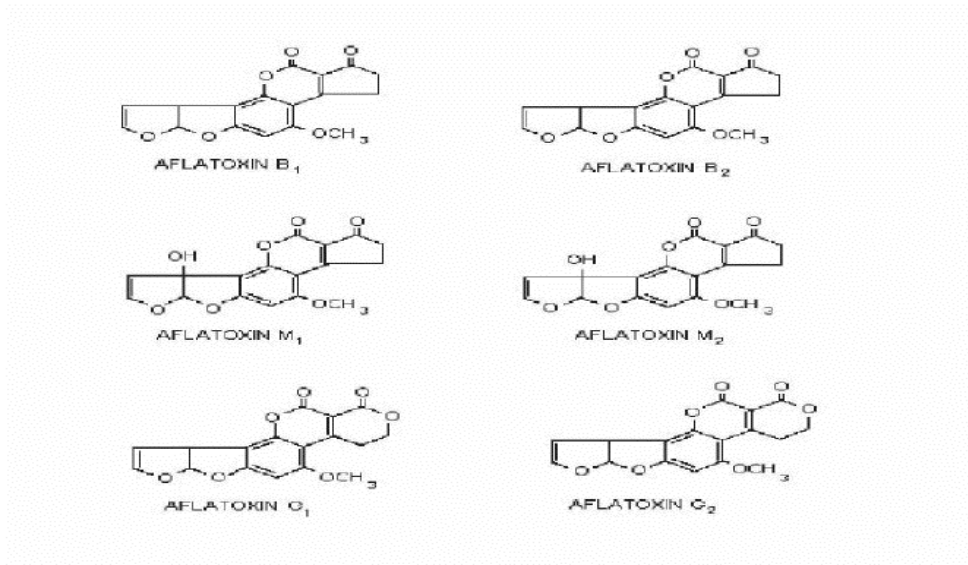
1.1.2 Κατάλληλες συνθήκες

Εκτός από την θερμοκρασία και την υγρασία καταλυτικό ρόλο σε σχέση με την παρουσία των μυκοτοξινών έχει και το pH των σιτηρών. Δύο από τα πιο κοινά είδη που μολύνουν τους μύκητες, το *Fusarium graminearum* και *Fusarium verticillioides*, αναπτύσσονται βέλτιστα σε pH 7 έως 7,5, ενώ ένα καλά διατηρημένο ενσίδρωμα φτάνει σε σταθερό pH μεταξύ 3,7 και 4,2 (βέλτιστα όρια 3 έως 5). Όλα αυτά σε συνδυασμό με χαμηλά επίπεδα οξυγόνου κάνει αδύνατο να αναπτυχθούν αυτά τα είδη *Fusarium* σε ένα τυπικό περιβάλλον ενσίρωσης (Spadaro D. *et al.* 2015). Όμως κάποια άλλα είδη μυκήτων όπως τα *Penicillium spp.* και *Aspergillus spp.* είναι ικανά να επιβιώσουν σε συνθήκες με χαμηλότερο επίπεδο οξυγόνου ή pH (Alonso, V.A. *et al.* , 2013, Cheli F. *et al.*, 2013).

1.1.3 Μυκοτοξίκωση

Η μυκοτοξίκωση είναι ένας επιστημονικός όρος που χρησιμοποιείται για την επεξεργασία μιας αλυσίδας τοξικών καταστάσεων που προκαλείται από την κατανάλωση μυκοτοξινών μέσω μολυσμένων ζωοτροφών (Munkvold *et al.*, 2019)

1.2 Αφλατοξίνες

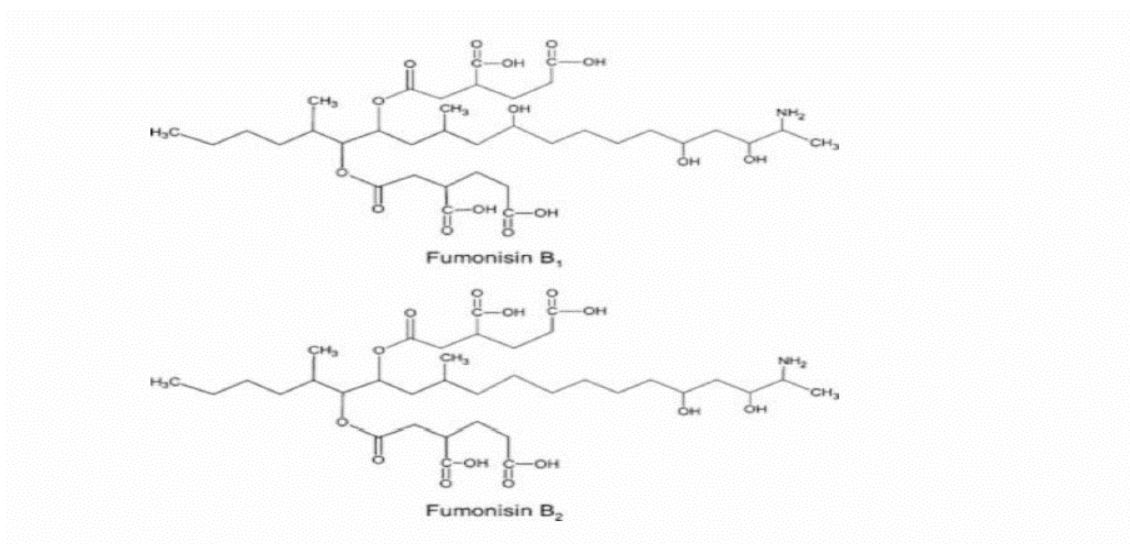


Εικόνα 1: Χημική δομή των αφλατοξινών (B₁, B₂, M₁, M₂, G₁, G₂), (Πηγή: Dharumadurai D. et al., 2011)

Οι αφλατοξίνες ήταν οι πρώτες μυκοτοξίνες που ανακαλύφθηκαν. Είναι οι περισσότερο μελετημένες από όλες τις μυκοτοξίνες. Τα κυριότερα είδη του γένους *Aspergillus* είναι τα *A. flavus*, *A. Parasiticus* και *A. nomius*. Το *A. Flavius* παράγει μόνο τις Β αφλατοξίνες (AFB₁, AFB₂) ενώ τα άλλα δύο είδη παράγουν και τις Β και τις G αφλατοξίνες (AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂). Η κύρια πηγή τους με βάση τις πρώτες ύλες είναι το αλεύρο φιστικιού, το καλαμποκάλευρο και το αλεύρο βαμβακόσπορου. Όσον αφορά τις αφλατοξίνες υπάρχουν και οι μορφές M₁ και M₂ (AFM₁, AFM₂), οι οποίες δημιουργούνται μέσω των προϋπαρχουσών τοξινών με την προσθήκη ενός υδροξυλίου (OH) και τις συναντούμε κυρίως στο γάλα αλλά και σε προϊόντα του (WHO, 2018). Ο FAO συνιστά ως ανώτατο επιτρεπτό επίπεδο αφλατοξινών στα τρόφιμα τα 30 mg/kg τροφίμου.

Τα κλινικά συμπτώματα που σχετίζονται με την αφλατοξίκωση στα ψάρια περιλαμβάνουν ωχρά βράγχια, μειωμένη πήξη του αίματος, μικρός ρυθμός ανάπτυξης και μειωμένος ρυθμός αύξησης του βάρους (Agag , 2004) Τα ορατά σημάδια σοβαρής λοίμωξης μπορεί να είναι ο μειωμένος αριθμός των ατόμων που επιβιώνουν, το σκούρο χρώμα του σώματος και η μη φυσιολογική συμπεριφορά, όπως παρατηρείται στην τιλάπια του Νείλου και στους νεαρούς οξύρρυγχους (Marijani *et al.* , 2019). Το μέγιστο επίπεδο αφλατοξίνης B1 σε πρώτες ύλες ζωοτροφών είναι 0,02 mg/kg, ενώ σε ιχθυοτροφές 0,01 mg/kg. Δεν έχουν τεθεί κανονισμοί για την στεριγματοκυστίνη.

1.3 Φουμονισίνες

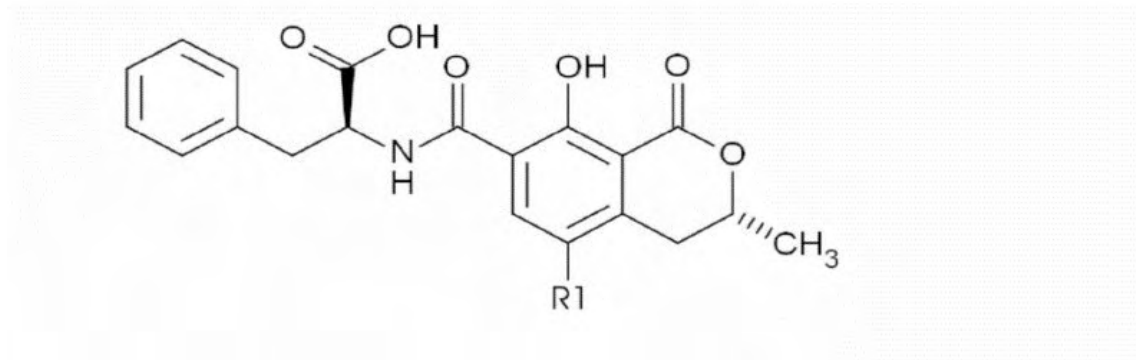


Εικόνα 2:Χημική δομή των φουμονισινών (B1, B2). (Πηγή: Zain M. E. , 2011)

Οι φουμονισίνες αποτελούνται από περίπου 53 είδη, με πιο επικίνδυνες τις B1 και B2. Η φουμινισίνη B1 (FB1) είναι νεφροτοξική και ηπατοτοξική. Είναι σημαντικό μέλος της ομάδας των τοξινών, που ονομάζονται φουμονισίνες και παράγονται από διάφορα είδη μυκήτων όπως το γένος *Fusarium* που εμφανίζεται στο σιτάρι, τα δημητριακά και το καλαμπόκι. Το πιο συχνό είδος που συμβάλλει στην παραγωγή της είναι το *Fusarium verticillioides*. Η φουμονισίνη B1 έχει ομοιότητα στη δομή της με το σφιγγολιπίδιο. Συνήθως η αμινομάδα της σφιγγοσίνης (So) και της σφιγγανίνης (Sa) σχηματίζουν έναν αμιδικό δεσμό με το καρβοξύλιο του λιπαρού οξέος για την παραγωγή κεραμιδίου. Η φουμονισίνη B1 προκαλεί την αναστολή του κεραμιδίου το οποίο θα μειώσει τη σφιγγοσίνη και θα αυξήσει τη σφιγγανίνη, έχοντας ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση 1-φωσφορικού μεταβολίτη και μείωση της παραγωγής σφιγγολιπιδίων (Liu *et al.*, 2019).

Οι φουμονισίνες δεν πρέπει να υπερβαίνουν τα 60 mg/kg στο καλαμπόκι και τα υποπροϊόντα του, ενώ το μέγιστο επίπεδο στις ιχθυοτροφές είναι τα 10 mg/kg (Commission of the European Communities, 2006). Το γατόψαρο του καναλιού είναι μέτρια ευαίσθητο στις φουμονισίνες. Πιο συγκεκριμένα η φουμονισίνη B1 προκαλεί ιστολογικές αλλαγές στο ήπαρ, καταστολή της ανάπτυξης και ο αριθμός των επιζώντων ατόμων είναι μειωμένος. Η έκθεση της τιλάπιας του Νείλου σε φουμονισίνες οδήγησε σε παρόμοια αποτελέσματα (Yildirim *et al.*, 2007). Συνολικά οι φουμονισίνες φαίνεται να προκαλούν βλάβες σε όργανα του σώματος, εξασθένηση του ανοσοποιητικού συστήματος, μειωμένος ρυθμός ανάπτυξης και μεταβολές που μπορεί να οδηγήσουν σε αυξημένη θνησιμότητα. Ωστόσο πρέπει να πραγματοποιηθούν περισσότερες μελέτες για την κατανόηση των επιπτώσεων αυτών των τοξινών στα ψάρια (Oliveira *et al.*, 2020).

1.4 Ωχρατοξίνη

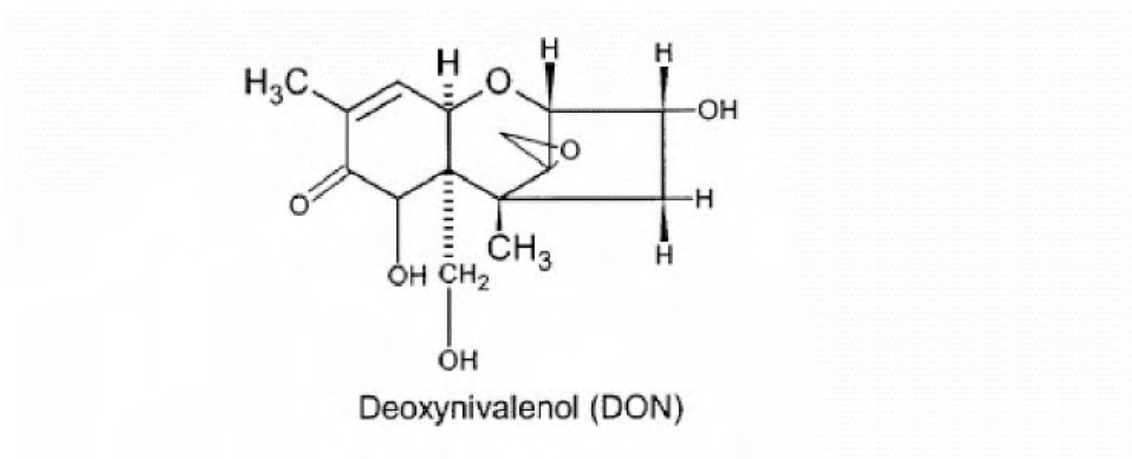


Εικόνα 3: Χημική δομή της ωχρατοξίνης Α και Β, όπου για την Α στο R1 είναι το Cl και για την Β στο R1 είναι το H. (Πηγή: Heussner A. et al., 2010)

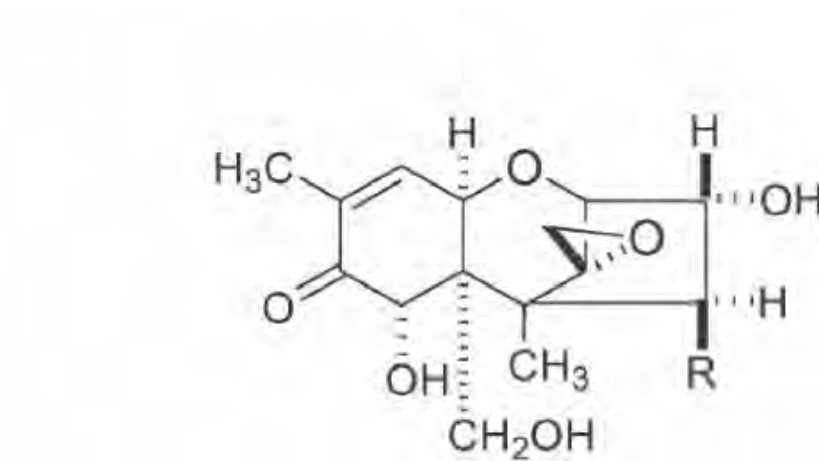
Η ωχρατοξίνη θεωρείται μια εξίσου σημαντική τοξίνη ως προς την υγεία των ιχθύων καθώς όπως και η αφλατοξίνη, βρίσκει τις κατάλληλες συνθήκες με σκοπό τη μόλυνση της πρώτης ύλης μετά από τη συγκομιδή της και πριν από την επεξεργασία της. Η πιο τοξική από τις ωχρατοξίνες είναι η ωχρατοξίνη Α, η οποία παράγεται από *Penicillium spp.* (*Penicillium verrucosum*) και *Aspergillus spp.* (*Aspergillus ochraceus* και *Aspergillus carbonarius*). Η μόλυνση εμφανίζεται συχνότερα μετά την συγκομιδή των σπόρων (σίτος, κριθάρι, βρώμη ή καλαμπόκι) (Council for Agricultural Science and Technology, 2003). Η ωχρατοξίνη Α είναι ιδιαίτερα σταθερή και κατά συνέπεια εξαιρετικά δύσκολο να εξαλειφθεί. Επίσης ο μεγάλος χρόνος ημιζωής της καθιστά εύκολη την μεταφορά της κατά μήκος της τροφικής αλυσίδας.

Τα δημητριακά και τα προϊόντα δημητριακών που χρησιμοποιούνται σε ζωοτροφές δεν πρέπει να υπερβαίνουν το όριο των 0,25 mg/kg ωχρατοξίνης Α. Δεν υπάρχουν όρια όσον αφορά τα υπόλοιπα ζώα (εκτός των χοίρων και των πουλερικών) πιθανώς επειδή οι επιδράσεις αυτών των τοξινών δεν είναι ακόμα ευρέως γνωστές. Τα ψάρια φαίνεται να είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στην ωχρατοξίνη Α. Το λαβράκι είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο καθώς με την υπέρβαση του ορίου της ανώτερης τοξικής δόσης σε ωχρατοξίνη Α δημιουργούνται νευρικά και αναπνευστικά προβλήματα. Η μέγιστη θανατηφόρος δόση στο λαβράκι είναι 277 μg/kg. Στην τιλάπια του Νείλου η δηλητηρίαση από ωχρατοξίνη είχε ως αποτέλεσμα υποτονική κολύμβηση, μειωμένη δεκτικότητα της τροφής, μειωμένη ικανότητα επιβίωσης, μειωμένη απόδοση ανάπτυξης και εκφυλιστικές βλάβες στους νεφρούς και το ήπαρ (Diab *et al.* , 2018)

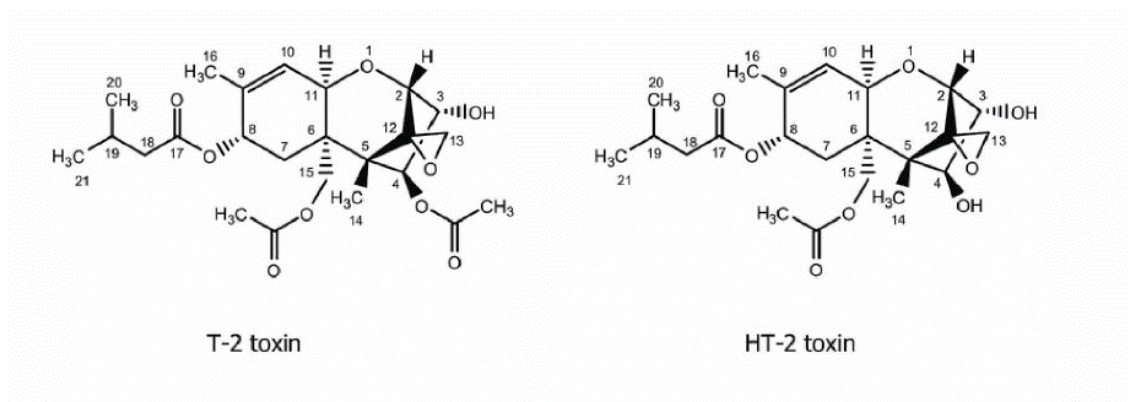
1.5 Τριχοθηκένια



Εικόνα 4:Χημική δομή της δεοξυνιβαλενόλης (Πηγή:Rashid S. et al. ,2015)



Εικόνα 5:Χημική δομή της νιβαλενόλης. (Πηγή:Hossen Md. S. et al. , 2012)

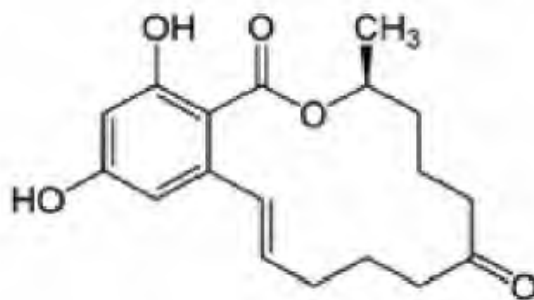


Εικόνα 6:Χημική δομή της τοξίνης T-2 και της HT-2. (Πηγή:Rose M. D. et al. ,2017)

Τα τριχοθηκένια παράγονται σε καλλιέργειες όπως το καλαμπόκι, το σιτάρι, το κριθάρι και η βρώμη από μύκητες του γένους *Fusarium*, *Myrothecium*, *Phomopsis*, *Stachybotrys*, *Trichoderma* και *Trichothecium* (Bennett *et al.*, 2003). Τα δύο πιο σημαντικά τριχοθηκένια που βρίσκονται στις καλλιέργειες, δηλαδή τα πιο τοξικά για τα ζώα είναι η δεοξυνιβαλενόλη και η τοξίνη T-2. Αν και η έκθεση στην τοξίνη T-2 είχε σημαντικές επιπτώσεις στην υγεία ιχθυδίων του ψαριού «ζέβρα» (αύξηση θνησιμότητας και δυσμορφιών, καρδιαγγειακά ελαττώματα και αλλαγές συμπεριφοράς), η τοξίνη αυτή δεν φαίνεται να αποτελεί απειλή για την υγεία των ψαριών (Pietsch , 2019). Ωστόσο, αυτό δεν ισχύει για την δεοξυλιβαλενόλη η οποία είναι το λιγότερο τοξικό τριχοθηκένιο αλλά μπορεί να προκαλέσει προβλήματα σε ψάρια και ανθρώπους. Η δεοξυλιβαλενόλη παράγεται κυρίως από το *Fusarium spp.* (*Fusarium graminearum*) και φαίνεται να είναι πιο κοινό στις ζωοτροφές σε σύγκριση με τα τρόφιμα στην Ευρώπη.

Είτε σε πλήρη είτε σε συμπληρωματική τροφή η δεοξυλιβαλενόλη δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 5 mg/kg (Oliveira *et al.* , 2020). Οι επιδράσεις της δεοξυλιβαλενόλης στα ψάρια δεν είναι ακόμα ευρέως γνωστές. Η ιριδίζουσα πέστροφα φαίνεται πως έχει την μεγαλύτερη ευαισθησία ως προς τη συγκεκριμένη τοξίνη (Pietsch *et al.* , 2011). Γενικότερα, η έκθεση των ιχθύων αυτού του είδους σε δεοξυλιβαλενόλη δεν οδηγεί σε υψηλή θνησιμότητα, αλλά έχεις ως αποτέλεσμα τη μη δεκτικότητα της τροφής , την μείωση του βάρους και του ρυθμού ανάπτυξής τους. Ωστόσο η διατροφή της ιριδίζουσας πέστροφας με τροφή που περιείχε 6,4 mg/kg δεοξυλιβαλενόλη οδήγησε σε μείωση της θνησιμότητας ατόμων που είχαν μολυνθεί από *Flavobacterium psychrophilum*, αν και παράλληλα υπήρξε μείωση της δεκτικότητας της συγκεκριμένης τροφής από τους ιχθύες (Ryerse *et al.* 2015). Παρόμοια συμπτώματα από την κατανάλωση τροφών με υψηλή ποσότητα της συγκεκριμένης τοξίνης εμφανίζονται και στον σολομό του Ατλαντικού (*Salmo salar*).

1.6 Ζεαραλενόνη



Εικόνα 7:Χημική δομή της ζεαραλενόνης. (Πηγή:Tchuenchieu A. et al. , 2018)

Η ζεαραλενόνη (ZEN) παράγεται σε θερμοκρασίες 10-14 °C από τα είδη *Fusarium graminearum* και *Fusarium cerealis* που συναντώνται σε καλλιέργειες δημητριακών (Llorent-Martinez *et al.* , 2019). Έχει την ικανότητα να επηρεάζει αρνητικά την αναπαραγωγική λειτουργία των ζώων λόγω του οιστρογονικά παρόμοιου αποτελέσματος. Μειώνει επίσης την ανοσοποιητική λειτουργία και προκαλεί τη βλάβη των νεφρών και του ήπατος που οδηγεί σε ανοσοτοξικότητα και κυτταροτοξικότητα. Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή έχει καθορίσει ένα μέγιστο επίπεδο ζεαραλενόνης στα τρόφιμα 350 mg/kg για τον ακατέργαστο αραβόσιτο και 100 mg/kg για άλλα μη επεξεργασμένα δημητριακά (Commision of the European Communities , 2006). Στις ζωοτροφές, τα υποπροϊόντα αραβοσίτου δεν θα πρέπει να υπερβαίνουν τα 3 mg/kg ζεαραλενόνης, ενώ στα υπόλοιπα δημητριακά τα 2 mg/kg. Δεν έχουν καθοριστεί όρια για πλήρεις ζωοτροφές εκτός από αυτές που χρησιμοποιούνται στα θηλαστικά.

Η ζεαραλενόνη συσσωρεύτηκε σε μεγάλες ποσότητες στις ωοθήκες ατόμων ιριδίζουσας πέστροφας αλλά τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την συσσώρευση αυτή στην αναπαραγωγή των ιχθύων δεν είναι ακόμα γνωστή. Αντίθετα η έκθεση του ψαριού «ζέβρα» σε ζεαραλενόνη οδήγησε σε σύντομο χρονικό διάστημα σε μείωση της αναπαραγωγικής ικανότητας, με μείωση της συχνότητας ωοτοκίας και της σχετικής γονιμότητας μεταξύ των γενεών (Schwarz *et al.*, 2013). Η ζεαραλενόνη ωστόσο δεν φαίνεται να συσσωρεύεται στο μυϊκό σύστημα των ψαριών και ως εκ τούτου η συγκεκριμένη μυκοτοξίνη δεν φαίνεται να δημιουργεί σοβαρό πρόβλημα στα ψάρια που την καταναλώνουν.

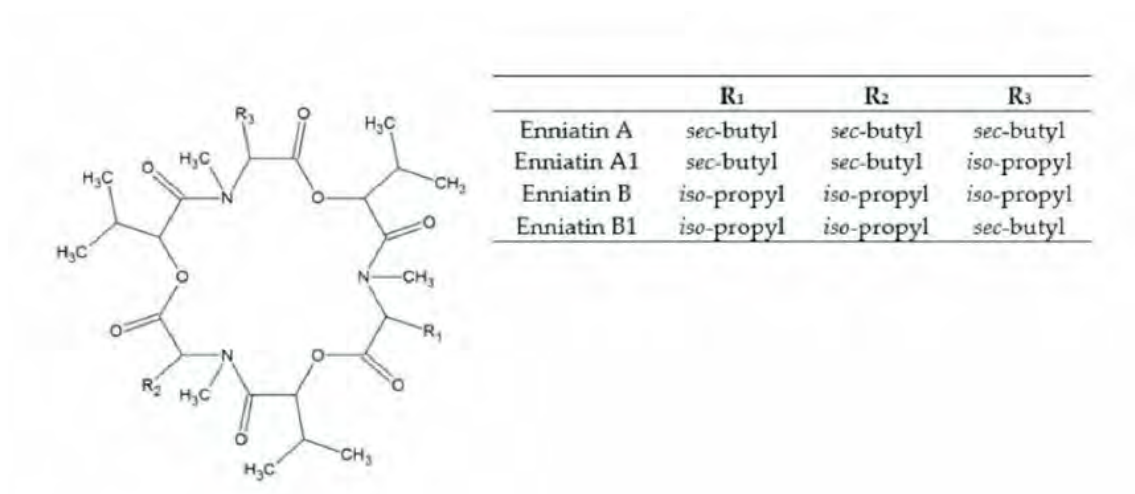
1.7 Μποβερικίνη

Εικόνα 8: Χημική δομή της μποβερικίνης. (Πηγή: Krizova L. *et al.*, 2021)

Η μποβερικίνη (BEA), είναι ένα κυκλικό τριμερές λακτόνης, το οποίο περιέχει μια εναλλακτική αλληλουχία τριών υπολειμμάτων N-μεθυλφαινυλαλανυλίου και τριών β -α-υδροξυϊσοβαλερυλίου (Krizova L. *et al.*, 2021). Απομονώθηκε πρώτη φορά από τον μύκητα *Beauveria bassiana*, ένα παθογόνο έντομο. Τα πρώτα είδη *Fusarium* που ταυτοποιήθηκαν στην παραγωγή BEA ήταν υποσυγκολλητές *Fusarium*. Ακολούθως άλλα είδη *Fusarium* όπως *Fusarium bulbicola*, *Fusarium denticulatum*, *Fusarium lactis*, *Fusarium phyllophilum*, *Fusarium pseudocircinatum* και *Fusarium*

succisae έχουν αποδειχθεί υπαίτια για την παραγωγή μποβερικίνης (Santini *et al.*, 2012).

1.8 Εννιατίνες

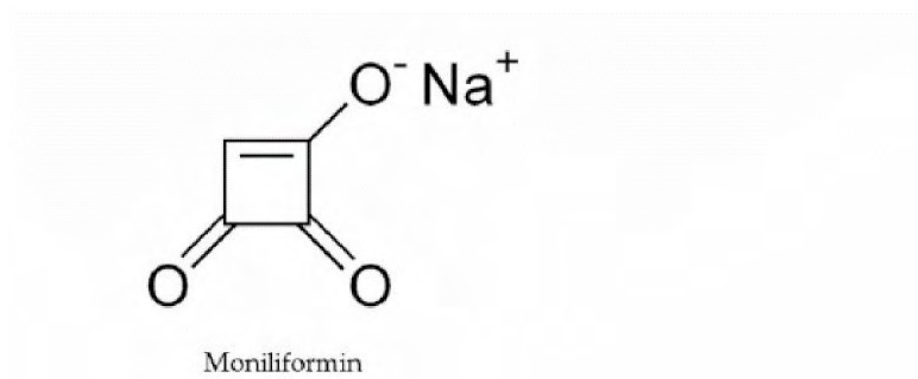


Εικόνα 9:Χημική δομή των εννιατινών. (Πηγή:Krizova L. *et al.* , 2021)

Οι εννιατίνες (ENNs) ανακαλύφθηκαν στις καλλιέργειες του είδους *Fusarium Orthoceras*, που αργότερα μετονομάστηκαν σε *Fusarium oxysporum*, ενώ παράγονται από στελέχη ορισμένων ειδών *Fusarium*, *Alternaria*, *Halosarpheia* και *Verticillium genera* (Supothina *et al.* , 2004). Οι ENNs αντιπροσωπεύουν μια μεγάλη ομάδα σχετικών μυκοτοξινών με τη δομή κυκλικών εξαδεδεπεπτιδίων αποτελούμενη από γ -α-υδροξυ-ισοβαλερυλ-(2-υδροξυ-3-μεθυλβουτανοϊκό οξύ) και κατάλοιπα N-μεθυλαμινοξέος που συνδέονται με πεπτιδικούς δεσμούς και ενδομοριακούς δεσμούς εστέρα (λακτόνη). Οι εννιατίνες των τύπων A και B περιέχουν N-μεθυλβαλίνη ή N-μεθυλ-ισολευκίνη ή τα μίγματα αυτών των δύο

αμινοξέων. Επί του παρόντος 29 είναι γνωστές και επτά από αυτές (ENNs A, A1, B, B1, B2, B3 και B4) έχουν βρεθεί στα δημητριακά (Krizova L. *et al.*, 2021). Οι A, A1, B και B1 αναφέρονται πιο συχνά σε τρόφιμα και ζωοτροφές. Αρκετές έρευνες αναφέρουν ότι στα εκτρεφόμενα ψάρια, βρέθηκε η μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε εννιατίνες να είναι στον μυϊκό ιστό και στο ήπαρ, ενώ η μπόβερικίνη δεν εντοπίστηκε στους ιστούς που συνήθως αποτελούν προϊόντα προς κατανάλωση (Tolosa *et al.*, 2017).

1.9 Μονολιφόρμη



Εικόνα 10: Χημική δομή της μονολιφόρμης. (Πηγή: Perincherry L. *et al.*, 2019)

Η μονολιφόρμη (MON) είναι μια μυκοτοξίνη που παράγεται σχεδόν από 40 διαφορετικά είδη *Fusarium*, κυρίως *F. proliferatum*, *F. avenaceum*, *F. subglutinans*, *F. tricinctum*, *F. verticillioides*, *F. anthophilum* και ένα είδος *Penicillium* (*Penicillium mela-nocodinum*) (Hallas-Moller *et al.*, 2016). Μεταξύ των ισχυρότερων

παραγωγών μονολιφόρμης, οι *F. subglutinans* και *F. proliferatum* επικρατούν στο καλαμπόκι που συνήθως καλλιεργείται σε θερμές κλιματικές περιοχές της Ευρώπης, ενώ οι *F. avenaceum* και *F. tricinctum* εμφανίζονται κυρίως σε δημητριακά μικρών κόκκων, κυρίως σε μέτριες θερμοκρασιακές περιοχές ως τη Σκανδιναβία. Οι βέλτιστες συνθήκες για την βιοσύνθεση της μονολιφόρμης είναι μεταξύ 25-30 °C και με ενεργότητα νερού (aw) τουλάχιστον 0,90 (Kostecki *et al.*, 1999). Στην πρόσφατη έκθεση της Ευρωπαϊκής Αρχής για την Ασφάλεια των Τροφίμων δημοσιεύτηκε το συμπέρασμα ότι υπάρχει μεγάλη αβεβαιότητα σχετικά με την αξιολόγηση του κινδύνου της μονολιφόρμης σε εκτρεφόμενα ζώα.

1.10 Μυκοδεσμευτικά

Τα μυκοδεσμευτικά, γνωστά και ως προσροφητικά μέσα ή παράγοντες δέσμευσης, έχουν αναδειχθεί ως μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική για την αντιμετώπιση της μόλυνσης από μυκοτοξίνες στην υδατοκαλλιέργεια. Αυτοί οι δεσμευτές έχουν σχεδιαστεί για να παγιδεύουν τις μυκοτοξίνες εντός του γαστρεντερικού σωλήνα των ψαριών, αποτρέποντας την απορρόφηση τους στην κυκλοφορία του αίματος. Τα συνήθη μυκοδεσμευτικά περιλαμβάνουν τον ενεργό άνθρακα, τα αργιλικά ορυκτά και τα κυτταρικά τοιχώματα ζύμης, καθένα από τα οποία διαθέτει μοναδικούς μηχανισμούς δράσης για την προσρόφηση συγκεκριμένων τύπων μυκοτοξινών (Brown και Jones, 2020).

Με την ενσωμάτωση μυκοδεσμευτικών στις δίαιτες των ψαριών, οι παραγωγοί υδατοκαλλιέργειας στοχεύουν στην ελαχιστοποίηση των αρνητικών επιπτώσεων της έκθεσης σε μυκοτοξίνες στην υγεία των ψαριών. Τα μυκοδεσμευτικά σχηματίζουν αποτελεσματικά σύμπλοκα με τις μυκοτοξίνες, καθιστώντας τις βιολογικά αδρανείς και μειώνοντας τη δυνατότητά τους να προκαλέσουν βλάβη. Ως αποτέλεσμα, τα ψάρια που εκτρέφονται με ζωοτροφές μολυσμένες με μυκοτοξίνες και συμπληρωμένες με μυκοδεσμευτικά είναι πιθανό να παρουσιάζουν βελτιωμένη απόδοση ανάπτυξης, ενισχυμένη ανοσολογική λειτουργία και μειωμένη ευπάθεια σε ασθένειες που προκαλούνται από μυκοτοξίνες. Οι συνδυαστικοί παράγοντες μυκοτοξινών προσφέρουν μια εναλλακτική προσέγγιση για την διαχείριση της μόλυνσης από μυκοτοξίνες σε σύγκριση με τις παραδοσιακές μεθόδους, όπως η διαλογή και η απόρριψη των μολυσμένων παρτίδων (Colvin *et al.*, 1989).

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η αποτελεσματικότητα των συνδυαστικών ουσιών μυκοτοξινών μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με κάποιους παράγοντες όπως ο τύπος της μυκοτοξίνης, η σύνθεση του συνδυαστικού υλικού, η δοσολογία και το συγκεκριμένο ζώο ή προϊόν στο οποίο απευθύνεται. Οι κατασκευαστές και οι παραγωγοί θα πρέπει να επιλέγουν προσεκτικά τους κατάλληλους συνδυαστικούς παράγοντες και να ακολουθούν τις συνιστώμενες οδηγίες χρήσης για να επιτύχουν την επιθυμητή μείωση της έκθεσης σε μυκοτοξίνες. Συνολικά τα μυκοδεσμευτικά είναι ένα πολύτιμο εργαλείο στη βιομηχανία τροφίμων και ζωοτροφών, συμβάλλοντας στην παραγωγή ασφαλέστερων και ποιοτικότερων

προϊόντων, προστατεύοντας παράλληλα την υγεία και την ευημερία των ζώων και των ανθρώπων (Brown and Jones, 2020).

Στον περίπλοκο ιστό της ασφάλειας των τροφίμων, οι συνδετικοί παράγοντες μυκοτοξινών αναδεικνύονται σε ισχυρό εργαλείο για τον μετριασμό των κινδύνων που ενέχει η μόλυνση από μυκοτοξίνες στην υδατοκαλλιέργεια. Διασφαλίζοντας την υγεία των ψαριών, οι εν λόγω συνδετικοί παράγοντες συμβάλλουν έμμεσα στην ανθρώπινη υγεία μειώνοντας την πιθανότητα μετάδοσης μυκοτοξινών μέσω της κατανάλωσης ψαριών. Καθώς ο κλάδος της υδατοκαλλιέργειας περιηγείται στην πολυπλοκότητα της διαχείρισης των μυκοτοξινών, η συνεργασία μεταξύ των ρυθμιστικών φορέων, των ενδιαφερόμενων μερών του κλάδου και των ερευνητικών κοινοτήτων παραμένει καθοριστικής σημασίας, για τη διασφάλιση της παραγωγής ασφαλών, θρεπτικών και βιώσιμων ιχθυηρών για τους παγκόσμιους καταναλωτές (Coulombe *et al.*, 1986).

1.11 Ταυτόχρονη μόλυνση από διαφορετικές μυκοτοξίνες

Η μόλυνση των ιχθυοτροφών από πολλές τοξίνες μπορεί να προκύψει από την μόλυνση των υλικών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τους από μύκητες που παράγουν περισσότερες από μια μυκοτοξίνες ταυτόχρονα. Αυτό μπορεί να συμβεί με το *Fusarium spp.* που μπορεί να παράγει περισσότερες από μια τοξίνες στις καλλιέργειες τις οποίες μολύνει. Για παράδειγμα, μόλυνση με ζεαραλενόνη και φουμονισίνες καθώς και με φουμονισίνες και τριχοθηκένια (Yoshizawa *et al.*,

1994) έχουν περιγραφεί στον αραβόσιτο. Ταυτόχρονη μόλυνση των καλλιεργειών από τοξίνες μπορεί να προκύψει από την μόλυνση από διαφορετικούς μύκητες που συνθέτουν διαφορετικές μυκοτοξίνες. Το σόργο για παράδειγμα βρέθηκε να έχει μολυνθεί τόσο από *Fusarium* όσο και από *Aspergillus* και κατά συνέπεια με φουμονισίνη B1 και αφλατοξίνη B1, μετά από αποθήκευση για μεγάλο χρονικό διάστημα (Da Silva *et al.*, 2000). Οι συνέπειες της κατάποσης ζωοτροφών και τροφίμων που έχουν μολυνθεί ταυτόχρονα από διαφορετικές μυκοτοξίνες δεν είναι ακόμα ευρέως γνωστές, ιδιαίτερα οι επιπτώσεις στα ψάρια και απαιτούνται περισσότερες *in vivo* και *in vitro* μελέτες για την κατανόηση της βιολογικής τους δραστηριότητας (Barbosa *et al.*, 2013).

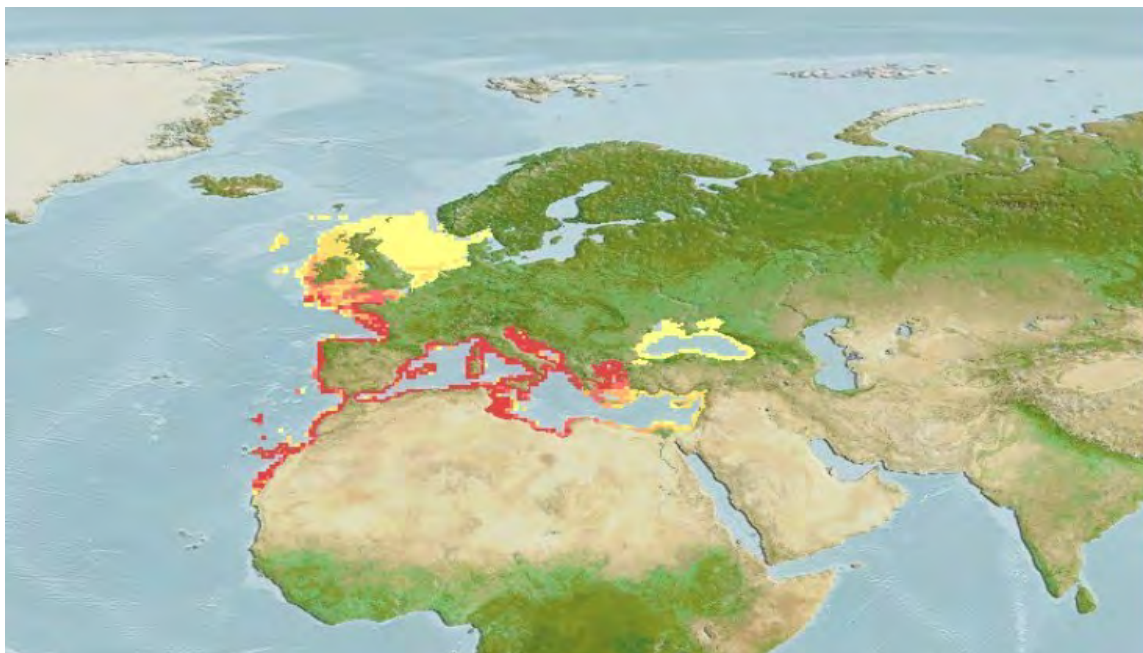
1.12 Στόχος της μελέτης

Η περιορισμένη διαθεσιμότητα πηγών πρωτεΐνης θαλάσσιας προέλευσης έχει στην ανάγκη παραγωγής ιχθυοτροφών με υψηλή περιεκτικότητα σε συστατικά φυτικής προέλευσης, όπως φυτικά αλεύρα και έλαια. Αυτά όμως τα συστατικά ενδέχεται να εισάγουν στην υδατοκαλλιέργεια μολυσματικές ουσίες, όπως είναι οι μυκοτοξίνες που είναι φυσικοί επιμολυντές των δημητριακών και των ελαιούχων καρπών. Οι μυκοτοξίνες είναι δυνατόν να προκαλέσουν προβλήματα στις ιχθυοκαλλιέργειες, όπως θνησιμότητα, μείωση της παραγωγικότητας και υψηλότερη ευαισθησία των ιχθύων σε ασθένειες, οδηγώντας σε οικονομικές απώλειες. Επομένως, στόχος της συγκεκριμένης μελέτης ήταν η διερεύνηση των επιπτώσεων του συνδυασμού των μυκοτοξινών Φουμονισίνης B1 (FB), Δεοξυνιβαλενόλης

(DON) και Αφλατοξίνης B1 (AFB1) στην υγεία και την ανάπτυξη της τσιπούρας (*Sparus aurata*) και η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας μυκοδεσμευτικών διατροφικών παραγόντων για την αντιμετώπιση αυτών. Με την χρήση μυκοδεσμευτικών στην συγκεκριμένη μελέτη καλούμαστε να δούμε αν και πόσο αποτελεσματικά είναι στην παύση ή τον περιορισμό της δράσης των μυκοτοξινών. Επομένως η συγκεκριμένη μελέτη καλείται να δώσει σημαντικές πληροφορίες τόσο στο κομμάτι της υδατοκαλλιέργειας όσο και στο κομμάτι της κατανάλωσης.



Εικόνα 11: Η τσιπούρα (*Sparus aurata*) στο φυσικό της περιβάλλον (Πηγή: www.fishbase.org)



Εικόνα 12:Γεωγραφική κατανομή της τσιπούρας (Πηγή:www.fishbase.org)

2. Υλικά και μέθοδοι

Η παρούσα έρευνα επικεντρώνεται στην πειραματική διαδικασία που πραγματοποιήθηκε για την αξιολόγηση των επιπτώσεων διάφορων μυκοτοξινών και μυκοδεσμευτικών σε νεαρά ιχθύδια τσιπούρας (*Sparus aurata*). Αυτές οι επιπτώσεις μελετήθηκαν μέσω της αξιολόγησης μορφολογικών και σωματομετρικών παραμέτρων.

Για την διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας χρησιμοποιήθηκαν νεαρά ιχθύδια τσιπούρας *S. aurata* ($2,87 \pm 0,5$ g). Τα ζώα μεταφέρθηκαν στις εγκαταστάσεις του Εργαστηρίου Υδατοκαλλιεργειών του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και

Υδάτινου Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Κάθε ομάδα ιχθυδίων τοποθετήθηκε τυχαία σε 12 γυάλινα ενυδρεία (125 L, 25 άτομα/ενυδρείο). Οι πειραματικές δίαιτες/μεταχειρίσεις χορηγήθηκαν σε διπλή επανάληψη (duplicate). Οι μυκοτοξίνες που χρησιμοποιήθηκαν είναι η δεοξυλιβαλενόλη (DON), η φουμονισίνη B1 (FB1) και η αφλατοξίνη B1 (AFB1). Επίσης στις δίαιτες χορηγήθηκαν και δύο μυκοδεσμευτικά. Η διαίτα M αποτελούνταν μόνο από την προσθήκη των μυκοτοξινών στην τροφή των ιχθύων. Η διαίτα A1 αποτελούνταν από το πρώτο μυκοδεσμευτικό μαζί με τις μυκοτοξίνες. Η διαίτα B1 αποτελούνταν από το δεύτερο μυκοδεσμευτικό μαζί με τις μυκοτοξίνες. Η διαίτα B2 αποτελούνταν μόνο από το δεύτερο μυκοδεσμευτικό. Η διαίτα A2 αποτελούνταν μόνο από το πρώτο μυκοδεσμευτικό. Η διαίτα CTRL αποτελούνταν μόνο από την τροφή των ιχθύων.

2.1 Ποιότητα νερού

Οι παράμετροι ποιότητας του νερού παρακολουθούνταν συστηματικά για τη διασφάλιση κατάλληλων πειραματικών συνθηκών. Η θερμοκρασία του νερού διατηρείτο σταθερή στους 21 ± 1 °C, το pH στο $8,0 \pm 0,4$, η αλατότητα στα $33 \pm 0,5$ g/L, η ολική αμμωνία – άζωτο σε $<0,1$ mg/L και η φωτοπερίοδος στις 12:12 ώρες (φως : σκοτάδι).

2.2 Τροφοδοσία

Τα ψάρια τρέφονταν μέχρι κορεσμού (at libitum), 6 ημέρες την εβδομάδα, 2 φορές την ημέρα για 14 εβδομάδες. Καταγράφονταν καθημερινά η ποσότητα της καταναλωθείσας τροφής και οι θνησιμότητες.

2.3 Τελικό στάδιο του πειράματος

Στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας τα ψάρια παρέμειναν σε ασιτία για 24 ώρες πριν τη δειγματοληψία και θανατώθηκαν με υψηλή δόση αναισθητικού. Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις μορφομετρικών χαρακτηριστικών (ολικό μήκος και ολικό βάρος) και υπολογίστηκαν παράμετροι αύξησης. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση (SD) και αναλύονται στατιστικά με χρήση της μονοδιάστατης ανάλυσης της διακύμανσης (one-way ANOVA), ακολουθούμενη από τη δοκιμασία Tukey's post hoc για τον εντοπισμό των διαφορών μεταξύ των ομάδων ($P < 0,05$). Οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του προγράμματος IBM SPSS Statistics έκδοση 26. Το πειραματικό πρωτόκολλο εγκρίθηκε από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας της Έρευνας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

3. Αποτελέσματα

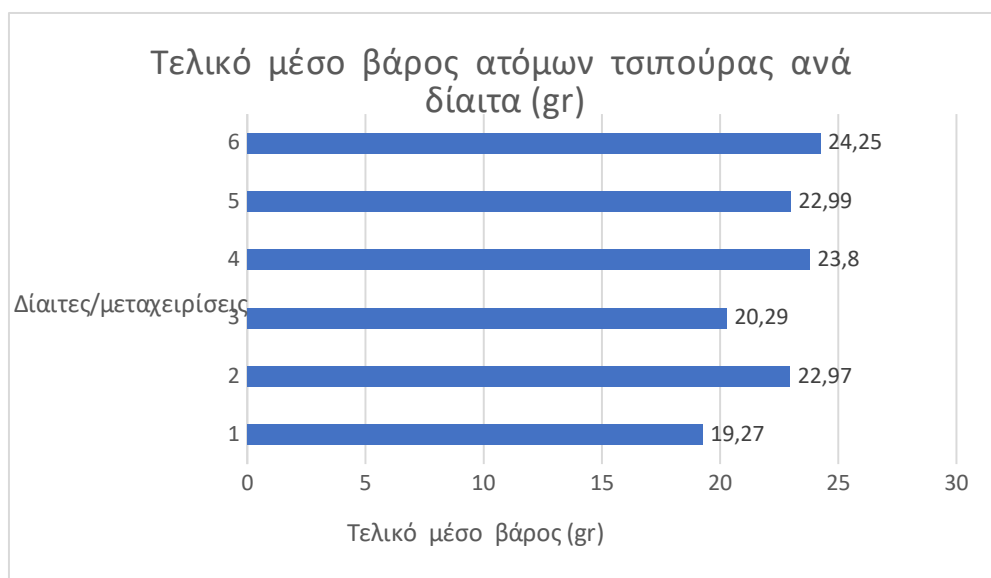
Παρακάτω παρατίθενται τα αποτελέσματα του πειράματός. Οι τιμές της κάθε παραμέτρου συνοδεύονται από την τυπική τους απόκλιση και αφορούν τις δύο

επαναληπτικές ομάδες κάθε μεταχείρισης. Σε κάθε παράμετρο που εξετάζεται, συμβολισμός με διαφορετικό γράμμα υποδηλώνει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων ($P < 0,05$). Τα αποτελέσματα περιλαμβάνουν το αρχικό και τελικό μέσο βάρος, την αύξηση του βάρους και της βιομάζας, το αρχικό και τελικό μέσο μήκος καθώς και το SGR. Ο πίνακας αυτός παρέχει σαφή εικόνα των αλλαγών στην ανάπτυξη των ατόμων τσιπούρας που προκλήθηκαν από διάφορες συγκεντρώσεις μυκοτοξινών κατά την διάρκεια του πειράματος.

Πίνακας 1: Αποτελέσματα του πειράματος. Παρατίθενται το αρχικό και τελικό βάρος, η αύξηση βάρους και βιομάζας, το αρχικό και τελικό μέσο μήκος καθώς και το SGR

Παράμετροι ανάπτυξης/Μετ αχείριση	M	A1	B1	B2	A2	CTRL
Αρχικό μέσο βάρος (g)	2,87±0,00 ^a	2,87±0,00 ^a	2,87±0,00 ^a	2,87±0,00 ^a	2,87±0,00 ^a	2,87±0,00 ^a
Τελικό μέσο βάρος (g)	19,27±0,54 ^a	22,97±1,15 ^{bc}	20,29±0,49 ^{ab}	23,8±0,76 ^{bc}	22,99±0,48 ^{bc}	24,25±0,49 ^c
Αύξηση βάρους (g)	16,4±0,54 ^a	20,10±1,15 ^{bc}	17,42±0,49 ^{ab}	20,93±0,76 ^{bc}	20,11±0,48 ^{bc}	21,38±0,49 ^c
Αύξηση βιομάζας (g)	390,64±12,44 ^a	433,54±25,43 ^{ab}	425,48±22,03 ^{ab}	510,97±6,72 ^b	468,09±0,14 ^{ab}	509,61±12,40 ^b
Αρχικό μέσο μήκος (cm)	6,41±0,02 ^a	6,39±0,03 ^a	6,37±0,03 ^a	6,49±0,01 ^a	6,45±0,04 ^a	6,44±0,01 ^a
Τελικό μέσο μήκος (cm)	11,47±0,19 ^a	11,85±0,23 ^a	11,42±0,09 ^a	12,01±0,07 ^a	11,83±0,07 ^a	11,83±0,16 ^a
SGR	2,12±0,03 ^a	2,31±0,06 ^b	2,18±0,03 ^{ab}	2,35±0,04 ^b	2,31±0,02 ^b	2,37±0,02 ^b

3.1 Τελικό μέσο βάρος



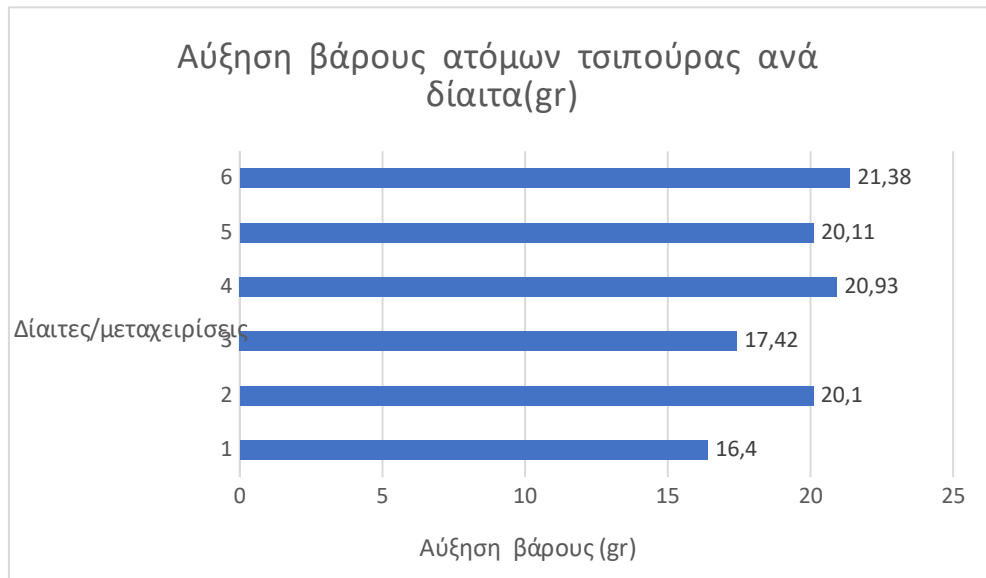
Εικόνα 13: Διάγραμμα που αναπαριστά το τελικό μέσο βάρος των ατόμων τσιπούρας ανά δίαιτα

Σύμφωνα με τον Πίνακα 1 και την Εικόνα 15, παρατηρούμε ότι το μεγαλύτερο μέσο τελικό βάρος έχουν τα άτομα τσιπούρας που βρίσκονταν στα ενυδρεία της μεταχείρισης CTRL (Control). Αντιθέτως τα άτομα της μεταχείρισης M είχαν το μικρότερο τελικό μέσο βάρος. Αναλυτικότερα, το τελικό μέσο βάρος για την κάθε δίαιτα είναι:

M: $19,27 \pm 0,54^a$ gr , A1: $22,97 \pm 1,15^{bc}$ gr , B1: $20,29 \pm 0,49^{ab}$ gr , A2: $22,99 \pm 0,76^{bc}$ gr , B2: $23,8 \pm 0,48^{bc}$ gr , CTRL: $24,25 \pm 0,49^c$ gr

Από τις στατιστικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν μέσω του IMB SPSS Statistics παρατηρήσαμε ότι τα δεδομένα του τελικού μέσου βάρους έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά.

3.2 Αύξηση βάρους



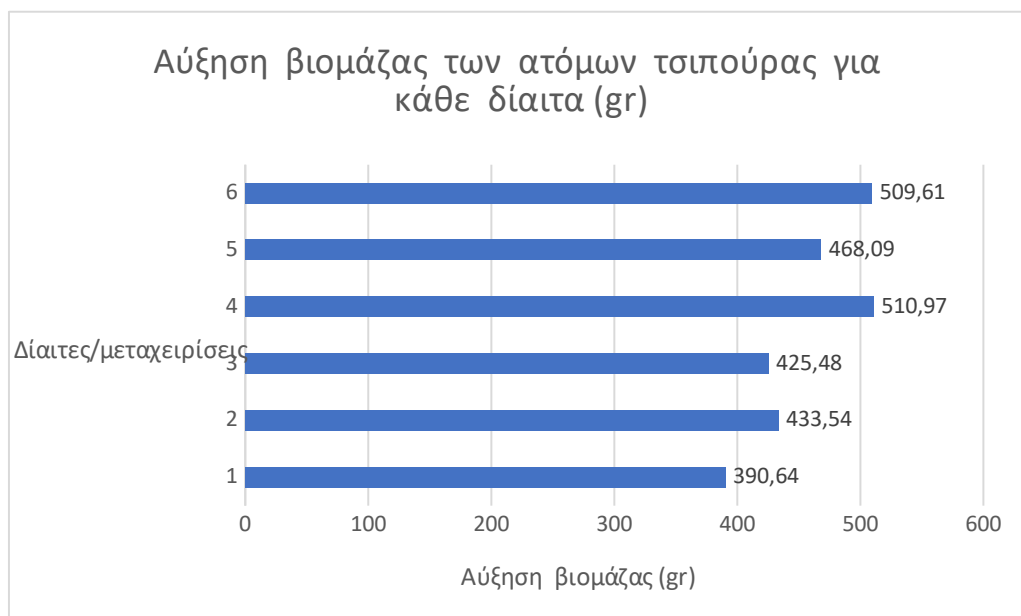
Εικόνα 14: Διάγραμμα που αναπαριστά την αύξηση βάρους των ατόμων τσιπούρας σε κάθε δίαιτα.

Σύμφωνα με τον Πίνακα 1 και την Εικόνα 16, παρατηρούμε ότι μεγαλύτερη αύξηση βάρους υπάρχει στα ψάρια που ακολουθούν τη δίαιτα CTRL (Control) και την μικρότερη αύξηση αυτά που ακολουθούν τη δίαιτα M. Αναλυτικότερα η αύξηση του βάρους για κάθε δίαιτα είναι:

M: $16,4 \pm 0,54^a$ gr , A1: $20,10 \pm 1,15^{bc}$ gr , B1: $17,42 \pm 0,49^{ab}$ gr , A2: $20,11 \pm 0,48^{bc}$ gr, B2: $20,93 \pm 0,76^{bc}$ gr , CTRL: $21,38 \pm 0,49^c$ gr

Από τις στατιστικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν μέσω του IBM SPSS Statistics παρατηρήσαμε ότι τα δεδομένα της αύξησης του βάρους έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά.

3.3 Αύξηση βιομάζας



Εικόνα 15: Διάγραμμα που αναπαριστά την αύξηση της βιομάζας των ατόμων τσιπούρας για κάθε δίαιτα.

Σύμφωνα με τον Πίνακα 1 και την Εικόνα 17 παρατηρούμε ότι μεγαλύτερη αύξηση βιομάζας δημιουργείται κατά την εφαρμογή της διαίτας A2. Αντίθετα η μικρότερη αύξηση παρατηρείται κατά την εφαρμογή της διαίτας M. Αναλυτικότερα η αύξηση της βιομάζας για κάθε δίαιτα είναι:

M: $390,64 \pm 12,44^a$ gr , A1: $433,54 \pm 25,43^{ab}$ gr , B1: $425,48 \pm 22,03^{ab}$ gr , A2: $468,09 \pm 0,14^{ab}$ gr , B2: $510,97 \pm 6,72^b$ gr , CTRL: $509,61 \pm 12,40^b$ gr

Από τις στατιστικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν μέσω του IBM SPSS Statistics παρατηρήσαμε ότι τα δεδομένα της αύξησης της βιομάζας έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά.

3.4 Τελικό μέσο μήκος



Εικόνα 16: Διάγραμμα που αναπαριστά το τελικό μέσο μήκος των ατόμων τσιπούρας για κάθε δίαιτα.

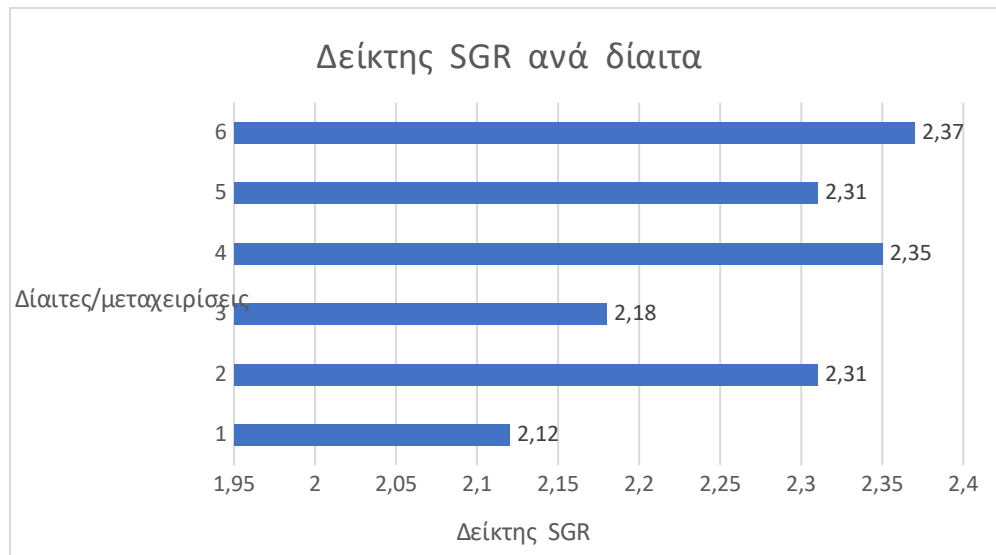
Σύμφωνα με τον Πίνακα 1 και την Εικόνα 19 παρατηρούμε ότι μεγαλύτερο τελικό μέσο μήκος έχουν τα ψάρια στα οποία εφαρμόζεται η δίαιτα A2, ενώ το

μικρότερο τελικό μέσο μήκος έχουν τα ψάρια στα οποία εφαρμόζεται η δίαιτα B1. Αναλυτικότερα το τελικό μέσο μήκος των ατόμων σε κάθε δίαιτα είναι:

M: $11,47 \pm 0,19^a$ cm , A1: $11,85 \pm 0,23^a$ cm , B1: $11,42 \pm 0,09^a$ cm , A2: $11,83 \pm 0,07^a$ cm , B2: $12,01 \pm 0,07^a$ cm , CTRL: $11,83 \pm 0,16^a$ cm

Από τις στατιστικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν μέσω του IBM SPSS Statistics παρατηρήσαμε ότι τα δεδομένα του τελικού μέσου μήκους δεν έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά.

3.5 Δείκτης SGR



Εικόνα 17: Διάγραμμα που αναπαριστά τις τιμές του δείκτη SGR για κάθε δίαιτα.

Σύμφωνα με τον Πίνακα 1 και την Εικόνα 20 παρατηρούμε ότι η μεγαλύτερη τιμή του δείκτη SGR εμφανίζεται στην δίαιτα CTRL (Control) και η μικρότερη

τιμή του στην δίαιτα M. Αναλυτικότερα οι τιμές του δείκτη SGR για κάθε δίαιτα είναι:

M: $2,12 \pm 0,03^a$, A1: $2,31 \pm 0,06^b$, B1: $2,18 \pm 0,03^{ab}$, A2: $2,31 \pm 0,02^b$, B2: $2,35 \pm 0,04^b$,

CTRL: $2,37 \pm 0,02^b$

Από τις στατιστικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν μέσω του IMB SPSS Statistics παρατηρήσαμε ότι τα δεδομένα του δείκτη SGR έχουν στατιστικά σημαντική διαφορά.

3.6 Θνησιμότητα ιχθύων

Κατά την διενέργεια της πειραματικής διαδικασίας υπήρξαν και κάποιο θάνατοι ιχθύων. Πιο συγκεκριμένα στα ενυδρεία της μεταχείρισης M είχαμε συνολικά δύο θανάτους, στα ενυδρεία της μεταχείρισης A1 είχαμε τέσσερις θανάτους, στα ενυδρεία της μεταχείρισης B1 είχαμε έναν θάνατο όπως αντίστοιχα και στα ενυδρεία της μεταχείρισης B2. Τέλος, στα ενυδρεία της μεταχείρισης A2 είχαμε τρεις θανάτους και στα ενυδρεία της μεταχείρισης CTRL δύο θανάτους. Ωστόσο, δεν αποδείχθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη θνησιμότητα μεταξύ των ενυδρείων, ώστε να επισημανθεί ως αποτέλεσμα.

4. Συζήτηση

Το ενδιαφέρον για τις μυκοτοξίνες ξεκίνησε για πρώτη φορά τη δεκαετία του 1960 και πλέον έχει αυξηθεί και έχει ως επίκεντρο τις ασθένειες που προκαλούνται από τις τοξίνες αυτές (S. Yilmaz *et al.*, 2020). Οι μυκοτοξίνες δεν επηρεάζουν μόνο τα θαλάσσια είδη αλλά γενικότερα όλα τα εκτρεφόμενα ζώα. Το είδος που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμά μας (*Sparus aurata*) φαίνεται ότι είχε έστω και μια μικρή ευαισθησία αν όχι σε όλες, τουλάχιστον σε μια μυκοτοξίνη. Ο λόγος για τον οποίο προέκυψε η έκθεση των οργανισμών σε μυκοτοξίνες είναι κατά βάση η έλλειψη ζωικής προέλευσης πρώτων υλών για ιχθυοτροφές που είχε ως αποτέλεσμα την χρήση φυτικής προελεύσεως τροφών. Δεν είναι ισάξια η ζημιά που προκαλούν όλες οι μυκοτοξίνες, καθώς σημαντικό ρόλο έχουν οι συνθήκες στις οποίες αναπτύσσονται αλλά και η περιεκτικότητά τους. Είναι ευρέως γνωστό πως οι τοξίνες είθισται να προσβάλουν όργανα όπως το ήπαρ, τους νεφρούς αλλά και το αίμα. Με αυτή τη σκέψη οι μυκοτοξίνες όχι μόνο επηρεάζουν αρνητικά αυτά τα όργανα και το αίμα αλλά προκαλούν και πολυπλοκότερα προβλήματα στους εκτρεφόμενους ιχθύες όπως στην αναπαραγωγή τους. Εκτός του θέματος της αναπαραγωγής, προκύπτει και το θέμα των νεαρών ιχθύων, όπου λόγω της ευαισθησίας της ηλικίας έχουν μεγαλύτερες πιθανότητες να μην επιβιώσουν εάν σε μυκοτοξίνες μέσω των σιτηρεσίων. Αυτό αποτελεί έναν απειλητικό και μη αμελητέο παράγοντα για την ευζωία των εκτρεφόμενων ιχθύων και για τη γενικότερη λειτουργία του κλάδου της υδατοκαλλιέργειας.

Γενικότερα οι αλληλεπιδράσεις των μυκοτοξινών μπορεί να είναι ανταγωνιστικές ή συνυπάρχουσες (Sobral *et al.*, 2018). Κατά συνέπεια εάν εμφανιστούν παραπάνω από μια μυκοτοξίνες σε κάποιο σιτηρέσιο, τα παρατηρούμενα αποτελέσματα στα ζώα που υποβλήθηκαν σε αυτό, δεν μπορεί να αποδοθεί στην παρουσία και την δράση μιας και μόνο μυκοτοξίνης σε αυτό το μείγμα, δεδομένου ότι οι επιδράσεις των διαφορετικών μυκοτοξινών σε αυτά τα πειράματα μπορεί να είναι πολύ ασυνήθιστα ή να επικαλύπτουν η μία την άλλη. Μέχρι στιγμής, υποτίθεται ότι η ταυτόχρονη εμφάνιση μυκοτοξινών είναι αρκετά συχνή, αλλά οι προκύπτουσες συνέπειες για τα ζώα παραμένουν σε μεγάλο βαθμό άγνωστες (D'Mello *et al.*, 1999). Αυτό δείχνει ότι αυτός ο τομέας απαιτεί πρόσθετη έρευνα για τη διευκόλυνση της καλύτερης αξιολόγησης των κινδύνων για τα ζώα παραγωγής.

Ανεξάρτητα από την χημική ουσία που χρησιμοποιείται, παρατηρείται συνήθως ότι τα είδη ποικίλλουν σημαντικά ως προς την ευαισθησία τους στις χημικές ουσίες. Οι διαφορές στην ευαισθησία συχνά πιστεύεται ότι προκαλείται από ειδικές για το είδος διαφορές στη μορφολογία ή στο μεταβολισμό. Αυτό μπορεί να υποδεικνύεται γιατί υπάρχουν διαφορές στην ευαισθησία του εκάστοτε είδους ψαριού συγκριτικά με άλλες κατηγορίες ζώων εκτροφής και τονίζει την ανάγκη για έρευνα περί του θέματος των μυκοτοξινών στα ψάρια. Επίσης μεταξύ διαφορετικών ειδών ψαριών έχουν παρατηρηθεί σημαντικές διαφορές στην

ευαισθησία αν και η ακριβής διαφορά στις διαδικασίες βιομετατροπής δεν έχουν περιγραφεί με επαρκείς λεπτομέρειες (Hooft *et al.*, 2019)

Το πρόβλημα με τις μυκοτοξίνες έγκειται στο γεγονός ότι παρόλο που έχει θεσπιστεί νομικό πλαίσιο και έχουν καθοριστεί τα επιτρεπτά όρια που πρέπει να περιέχονται στα σιτηρά και σε άλλα συστατικά ζωοτροφών φαίνεται να επηρεάζουν τους οργανισμούς ακόμα και υπό αυτές τις συνθήκες. Το θέμα είναι ότι ακόμα και σε μικρή περιεκτικότητα, με συνεχή έκθεση προκαλούν μόνιμες και μη αναστρέψιμες βλάβες στα ψάρια, επομένως η λύση του προβλήματος των μυκοτοξινών δεν είναι η παρούσα, το να περιέχονται δηλαδή σε μικρά ποσοστά (Anater *et al.*, 2015). Ας περάσουμε τώρα στην ανάλυση των αποτελεσμάτων του πειράματός μας για να δούμε τι προβλήματα προκάλεσαν οι μυκοτοξίνες στα άτομα της τσιπούρας και ποια είναι η σημασία των μυκοδεσμευτικών.

Παρατηρώντας τα αποτελέσματα του τελικού μέσου βάρους των ατόμων τσιπούρας, βλέπουμε ότι η μεγαλύτερη τιμή εμφανίζεται στην δίαιτα CTRL. Άρα το μεγαλύτερο βάρος το είχαν τα ψάρια που τους χορηγήθηκε η κοινή ιχθυοτροφή, χωρίς την προσθήκη μυκοτοξινών ή μυκοδεσμευτικού. Αντίθετα, η μικρότερη τιμή του τελικού μέσου βάρους εμφανίζεται στην δίαιτα M. Επομένως στα ψάρια που χορηγήθηκε τροφή, στην οποία είχε ενσωματωθεί συνδυασμός των μυκοτοξινών FB, DON και AFB1 επετεύχθη η μικρότερη ανάπτυξη. Τη δεύτερη καλύτερη επίδοση στην μέση τελική τιμή του βάρους είχε η δίαιτα B2, ενώ ακολουθούν οι δίαιτες A2, A1 και M κατά σειρά. Αναμενόμενο αποτέλεσμα το οποίο και επιβεβαιώθηκε είναι η μικρότερη τιμή του τελικού μέσου βάρους της

δίαιτας M συγκριτικά με τις τιμές που προέκυψαν από την χορήγηση των άλλων διαίτων. Αυτό συνέβη γιατί στην δίαιτα αυτή χορηγήθηκαν μόνο μυκοτοξίνες χωρίς την παρουσία κάποιου μυκοδεσμευτικού που θα μπορούσε να περιορίσει τη δράση τους. Αυτό συμβαίνει στις δίαιτες A1 και B1 όπου το τελικό μέσο βάρος είναι μεγαλύτερο από την δίαιτα M. Επίσης παρατηρούμε ότι το πρώτο μυκοδεσμευτικό έχει καλύτερη δράση από το δεύτερο καθώς επιτυγχάνει μεγαλύτερη τιμή μέσου τελικού βάρους. Συμπερασματικά, μπορούμε να πούμε ότι οι μυκοτοξίνες δημιουργούν πρόβλημα καθώς οδηγούν σε μειωμένο ρυθμό ανάπτυξης των ιχθύων. Το τελικό μέσο βάρος των ατόμων τσιπούρας, όταν χρησιμοποιούνται στην τροφή τους και μυκοτοξίνες, έχει αποδειχθεί ότι είναι μικρότερο και σε άλλες έρευνες όπου ως μυκοτοξίνη χρησιμοποιήθηκε μόνο η φουμονισίνη B1 (FB1) (Goncalves *et al.* 2020)

Όσον αφορά την αύξηση του βάρους κατά την διάρκεια του πειράματος, την καλύτερη επίδοση είχε η δίαιτα CTRL (Control). Άρα η χορήγηση κοινής ιχθυοτροφής στους ιχθύες, εξασφάλισε την μεγαλύτερη αύξηση του βάρους. Αυτό μπορούμε να το συμπεράνουμε και από το γεγονός ότι το τελικό μέσο βάρος των ατόμων που ακολούθησαν την δίαιτα CTRL είναι μεγαλύτερο. Η χειρότερη επίδοση σχετικά με την αύξηση του βάρους επετεύχθη με την χορήγηση της δίαιτας M, καθώς σε αυτή την δίαιτα προέκυψε το μικρότερο μέσο τελικό βάρος. Τις αμέσως επόμενες καλύτερες επιδόσεις μετά την δίαιτα CTRL έχουν κατά σειρά οι B2, A2, A1 και M. Τα αποτελέσματα της αύξησης του βάρους επιβεβαιώνουν ότι η χορήγηση μόνο της κοινής ιχθυοτροφής στα άτομα της τσιπούρας οδήγησε σε καλύτερα αποτελέσματα όσον αφορά το βάρος τους.

Σχετικά με την αύξηση της βιομάζας στα ενυδρεία των ατόμων τσιπούρας, παρατηρήσαμε ότι η μεγαλύτερη τιμή εμφανίζεται στην μεταχείριση B2 όπου γίνεται η χορήγηση μόνο του δεύτερου μυκοδεσμευτικού. Η δίαιτα CTRL είχε τη δεύτερη καλύτερη επίδοση στην αύξηση της βιομάζας. Στην συνέχεια ακολουθούν οι μεταχειρίσεις A2, A1 και B1, με την μεταχείριση M να έχει την χειρότερη επίδοση. Άρα συνολικά συμπεραίνουμε ότι ο υψηλότερος αριθμός βιομάζας μέσα στα ενυδρεία εμφανίστηκε κατά την χορήγηση μόνο του δεύτερου μυκοδεσμευτικού. Η υψηλή τιμή της αύξησης της βιομάζας στην δίαιτα CTRL είναι αναμενόμενη καθώς τα ψάρια τρέφονται μόνο με την τροφή τους άρα τίποτα δεν μπορεί να εμποδίσει την φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού τους. Επίσης παρατηρούμε ότι η βιομάζα είναι πιο αυξημένη όταν χρησιμοποιούνται μόνο μυκοδεσμευτικά από ότι όταν χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με τις μυκοτοξίνες. Τέλος η μικρότερη παραγωγή βιομάζας γίνεται από τους ιχθύες που τρέφονται μόνο με μυκοτοξίνες. Άρα η χορήγηση των ψαριών αποκλειστικά και μόνο με μυκοτοξίνες δεν συμβάλλει σημαντικά στην παραγωγή βιομάζας.

Παρατηρώντας τώρα το τελικό μέσο μήκος, βλέπουμε ότι τα άτομα της B2 μεταχείρισης είναι τα μεγαλύτερα. Αντιθέτως τα άτομα της B1 είναι τα μικρότερα. Δηλαδή τα άτομα στα οποία χορηγείται μόνο το δεύτερο μυκοδεσμευτικό έχουν το μεγαλύτερο μήκος και τα άτομα στα οποία χορηγείται το δεύτερο μυκοδεσμευτικό μαζί με τις μυκοτοξίνες το μικρότερο. Η δεύτερη

μεγαλύτερη τιμή του τελικού μέσου μήκους ανήκει στα άτομα της μεταχείρισης A1. Η τρίτη μεγαλύτερη τιμή ανήκει από κοινού στα άτομα των μεταχειρίσεων A2 και CTRL. Τέλος η τέταρτη κατά σειρά τιμή ανήκει στα άτομα της μεταχείρισης M. Από αυτά τα αποτελέσματα συμπεραίνουμε ότι οι μυκοτοξίνες παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο και στο μήκος των ιχθύων, αφού επηρεάζουν τον συνολικό ρυθμό ανάπτυξης τους. Η μικρότερη τιμή τελικού μήκους αφορά άτομα στα οποία χορηγήθηκαν μυκοτοξίνες. Το δεύτερο μυκοδυσμεντικό όταν χορηγηθεί μόνο του έχει καλύτερα από το πρώτο καθώς οδηγεί σε μεγαλύτερη ανάπτυξη. Τα άτομα της μεταχείρισης CTRL ενώ έχουν το μεγαλύτερο τελικό μέσο βάρος δεν ισχύει το ίδιο και για το μήκος τους. Αυτό ίσως να συμβαίνει γιατί το αρχικό τους μέσο μήκος ήταν μικρότερο από άλλες μεταχειρίσεις. Όσον αφορά τα άτομα της μεταχείρισης A1 φαίνεται ότι το πρώτο μυκοδυσμεντικό είναι αρκετά ισχυρό και δεν αφήνει τις μυκοτοξίνες να επηρεάσουν τους αναπτυξιακούς παράγοντες των ατόμων, όπως ακριβώς συνέβη και με το τελικό μέσο βάρος. Παρόμοια αποτελέσματα σχετικά με το τελικό μήκος παίρνουμε και από άλλες έρευνες όπου χορηγήθηκε στα ψάρια η αφλατοξίνη B1 (Barany *et al.*, 2021)

Σχετικά τώρα με την τιμή του δείκτη SGR, που μας δείχνει την ημερήσια ποσοστιαία αύξηση του ολικού σωματικού βάρους του ψαριού κατά το διάστημα της σίτισης του, η μεγαλύτερη τιμή ανήκει στα άτομα της μεταχείρισης CTRL, αποτέλεσμα αναμενόμενο αφού τα άτομα τσιπούρας αυτής της μεταχείρισης είχαν και το μεγαλύτερο τελικό μέσο βάρος. Η δεύτερη μεγαλύτερη τιμή εντοπίζεται στα άτομα της μεταχείρισης B2 όπου αντιστοίχως είχαμε το δεύτερο μεγαλύτερο

τελικό μέσο βάρος. Η τρίτη τιμή ανήκει από κοινού στις μεταχειρίσεις A1 και A2 γεγονός που μας δείχνει ότι τα ψάρια στα οποία χορηγήθηκε το πρώτο μυκοδεσμευτικό μαζί με τις μυκοτοξίνες είχαν την ίδια ποσοστιαία αύξηση του ολικού σωματικού τους βάρους με τα ψάρια στα οποία τους χορηγήθηκε μόνο το πρώτο μυκοδεσμευτικό. Έτσι φαίνεται η αποτελεσματικότητα του πρώτου μυκοδεσμευτικού που περιόρισε σε μεγάλο βαθμό την δράση των μυκοτοξινών. Η τέταρτη τιμή ανήκει στα άτομα της ομάδας B1. Αυτό μας δείχνει ότι το δεύτερο μυκοδεσμευτικό όταν χορηγήθηκε μόνο του οδήγησε σε μεγαλύτερη ανάπτυξη από όταν υπήρχε και η παρουσία των μυκοτοξινών. Επίσης επιβεβαιώνεται ότι το πρώτο μυκοδεσμευτικό είναι πιο ισχυρό από το δεύτερο. Η μικρότερη τιμή εμφανίζεται στα ψάρια της μεταχείρισης M όπου χρησιμοποιήθηκαν μόνο μυκοτοξίνες και συγκεκριμένα η δεοξυλιβαλενόλη, η φουμονισίνη B1 και η αφλατοξίνη. Προβλήματα σχετικά με τον ρυθμό αύξησης και την υγεία των ψαριών από την χορήγηση μυκοτοξινών παρατηρούμε και σε άλλες έρευνες όπου χορηγήθηκε στα ψάρια η αφλατοξίνη B1 (Centroducati *et al.*, 2009, Marijani *et al.*, 2019)

5. Συμπέρασμα

Η χρήση συστατικών φυτικής προέλευσης στις ιχθυοτροφές μπορεί να επιφέρει σοβαρά προβλήματα στην παραγωγικότητα μέσω του αυξημένου ποσοστού μόλυνσης από μυκοτοξίνες. Οι μολυσμένες με μυκοτοξίνες τροφές μπορούν να επηρεάσουν την υγεία των ψαριών. Οι ιχθυοκαλλιεργητές όμως χρησιμοποιούν

ολοένα και περισσότερο τροφές φυτικής προέλευσης με σκοπό να περιοριστεί η χρησιμοποίηση των τροφών ζωικής προέλευσης, εφόσον σύμφωνα με έρευνες προσφέρουν τα ίδια θρεπτικά συστατικά στα ψάρια. Δεν προκαλούν όλες οι ομάδες μυκοτοξινών προβλήματα στα ψάρια. Όμως κάποιες από αυτές οδηγούν σε μείωση του ρυθμού ανάπτυξης, ιστολογικές αλλαγές στο ήπαρ και τα νεφρά, μειωμένη πήξη του αίματος, χλωμά βράγχια, ανοσοκαταστολή, αλλαγές στη σύνθεση του σώματος, οξειδωτικό στρες και αρκετές φορές υψηλή θνησιμότητα και καρκινογένεση. Η χορήγηση των μυκοδεσμευτικών, ουσιών που έχουν σχεδιαστεί για την παγίδευση των μυκοτοξινών στον γαστρεντερικό σωλήνα των ιχθύων, ίσως είναι μια αξιόλογη λύση. Όμως και πάλι δεν εξασφαλίζει τον μέγιστο ρυθμό ανάπτυξης των ιχθύων και την αποφυγή προβλημάτων υγείας.-

Οι ερευνητές έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι οι περισσότερες μυκοτοξίνες έχουν κοινούς ιστούς και κύτταρα ως κύριο στόχο αποδυνάμωσης. Θα μπορούσαμε να κατατάξουμε την επίδραση των μυκοτοξινών σε 3 φάσεις. Η μία να συνδέεται άμεσα με την διαδρομή της γαστροισοφαγικής οδού, η δεύτερη με την επίδραση στο αίμα και στα κύτταρα και η τρίτη με τα τελικά αποτελέσματα των δύο προηγούμενων. Ξεκινώντας με την πρώτη, φαίνεται να είναι ζωτικής σημασίας η σειρά της επίδρασης των μυκοτοξινών που είναι άμεσα συνδεδεμένη με τη διαδρομή που ακολουθεί εντός του οργανισμού η εκάστοτε τοξίνη. Η βλάβη ξεκινάει από τη γαστροισοφαγική οδό, αφού περνάει μέσω της τροφής και της στοματικής κοιλότητας εντός των ατόμων. Επομένως, πρωτίστως επηρεάζει τα όργανα που περιλαμβάνονται στην οδό αυτή, ενώ στη συνέχεια, εισχωρεί μέσα στους ιστούς (στομαχικό, εντερικό, ηπατικό, παγκρεατικό, νεφρικό). Συνεχίζοντας στη

δεύτερη, η επίδραση περνάει στο αίμα και στα κύτταρα, προκαλώντας λευκοπενία, μείωση στα επίπεδα του αιματοκρίτη και της αιμοσφαιρίνης των ιχθύων και απόπτωση στα κύτταρα τους όπως και εκφυλισμό των σταγονιδίων της υαλίνης στα σωληνοειδή επιθηλιακά κύτταρα του νεφρού. Στην τρίτη φάση της επίδρασης αυτής, κατατάσσονται οι θνησιμότητες των οργανισμών που υποβλήθηκαν στα πειράματα αυτά αλλά και φαινόμενα όπως η εμβρυοτοξικότητα, η τερατογένεση, η γονοτοξικότητα αλλά και η χρωμοσωμική ανωμαλία. Σύμφωνα με τις παραπάνω επιπτώσεις προέκυψαν θέματα με την αναπαραγωγική διαδικασία αλλά και γεννήθηκαν αμφιβολίες με την επιβίωση των ιχθυδίων που θα παραγόντουσαν.

Η ισχύς των μυκοτοξινών αλλά και η βλάβη που προκαλούν εξαρτάται από το είδος, την ηλικία του οργανισμού όπως και από τον βióτοπο, την θερμοκρασία και το pH. Ξεκινώντας από τον παράγοντα του είδους που έχουμε να κάνουμε, είναι γνωστό πως πολλά είδη είναι πιο ανθεκτικά από κάποια άλλα, ενώ στο κομμάτι της ηλικίας λόγω των πειραμάτων που έχουν διεξαχθεί είναι γνωστό ότι οι μικρότεροι ηλικιακά οργανισμοί είναι και οι πιο ευαίσθητοι. Όσον αφορά γενικά το κομμάτι του είδους, παρατηρήθηκαν γενικά παρόμοιες επιπτώσεις σε όλα τα είδη που είναι ευαίσθητα στην προσβολή τους από μυκοτοξίνες. Σε έρευνες που είχαν ως ηλικιακή κλάση – στόχο τα ιχθύδια, φάνηκε ότι όταν αυτά λαμβάνουν υψηλές ποσότητες μυκοτοξινών βρίσκονται σε κίνδυνο, καθώς προκαλούνται βλάβες, δεν λαμβάνουν το απαραίτητο σωματικό βάρος για να αναπτυχθούν και καταλήγουν να εμφανίζουν γενικότερες δυσλειτουργίες. Ορισμένες μυκοτοξίνες είναι πιο σταθερές σε συνθήκες ενσίρωσης από κάποιες άλλες. Ο Boudra και οι συνεργάτες του (2008) διαπίστωσαν ότι οι συγκεντρώσεις της δεοξυνιβαλενόλης, της ζεαραλενόνης και των φουμονισινών B1 και B2 σε

μικρές πειραματικές ενσιρώσεις μειώθηκαν με βάση τα χαρακτηριστικά διαλυτότητας των μορίων υποδηλώνοντας ότι οι υδατοδιαλυτές μυκοτοξίνες ενδέχεται να εκλύονται με εκροές ζύμωσης.

Οι μυκοτοξίνες που χρησιμοποιήσαμε στο πείραμα μας και πιο συγκεκριμένα η δεοξυνιβαλενόλη, η φουμονισίνη B1 και η αφλατοξίνη, είναι κάποιες από τις κυριότερες μυκοτοξίνες που επηρεάζουν αρνητικά τα ψάρια και σύμφωνα με παλαιότερες μελέτες οδηγούν σε μείωση του ρυθμού αύξησης, ηπατικά και νεφρικά προβλήματα και θνησιμότητα. Επομένως η μελέτη μας ήταν πολύ σημαντική καθώς καλείται είτε να επιβεβαιώσει τις προϋπάρχουσες μελέτες είτε να βγάλει κάποιο καινούργιο αποτέλεσμα κόντρα σε αυτές. Επίσης θα πρέπει μέσα από την έρευνά μας να δείξουμε αν τα μυκοδεσμευτικά είναι ικανά να ανακόψουν την δράση των μυκοτοξινών.

Τα αποτελέσματα του πειράματός μας συμπίπτουν με τα αποτελέσματα άλλων μελετών. Από την χορήγηση στα ψάρια 6 διαφορετικών μεταχειρίσεων, διαπιστώσαμε ότι τα ψάρια στα οποία χορηγήθηκαν μόνο μυκοτοξίνες είχαν την πιο αργή ανάπτυξη. Είχαν το μικρότερο μέσο τελικό βάρος, την μικρότερη αύξηση βάρους και την μικρότερη τιμή του ειδικού ρυθμού ανάπτυξης (SGR). Όμως είχε την μικρότερη αύξηση βιομάζας στα ενυδρεία από όλες τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις. Έτσι καταλαβαίνουμε ότι η χορήγηση των ψαριών μόνο με μυκοτοξίνες οδηγεί στον μικρότερο ρυθμό ανάπτυξης τους, αλλά και στην μικρότερη παραγωγή βιομάζας.

Όσον αφορά τις μεταχειρίσεις που εμπλέκονται και με την παρουσία μυκοδεσμευτικών, η μεταχείριση B2 εμφάνισε τη δεύτερη μεγαλύτερη ημερήσια ποσοστιαία αύξηση του βάρους των ιχθύων και το μεγαλύτερο τελικό μέσο βάρος. Αντιθέτως η μεταχείριση A2 εμφάνισε την τρίτη μεγαλύτερη τιμή μαζί με την A1. Η τέταρτη μεγαλύτερη τιμή εμφανίζεται στην μεταχείριση B1. Άρα το δεύτερο μυκοδεσμευτικό οδηγεί σε καλύτερη ανάπτυξη των ιχθύων από το πρώτο μυκοδεσμευτικό όταν χορηγείται μόνο του. Εξίσου το πρώτο μυκοδεσμευτικό είναι πιο ισχυρό από το δεύτερο, καθώς κατά την συμμετοχή του στην χορήγηση μυκοτοξινών περιόρισε τη δράση τους και οδήγησε σε μεγαλύτερη ανάπτυξη τα άτομα τσιπούρας. Όσον αφορά την αύξηση της βιομάζας το δεύτερο μυκοδεσμευτικό εμφανίζει την μεγαλύτερη τιμή, γεγονός που σημαίνει ότι μπορεί να βοηθάει σημαντικά στην ανάπτυξη των ιχθύων αλλά δημιουργεί μεγάλες ποσότητες βιομάζας.

Όσον αφορά την πρωτιά σε όλες τις κατηγορίες δεδομένων, εκτός από το τελικό μέσο μήκος, την έχουν τα άτομα της μεταχείρισης CTRL. Δηλαδή τα άτομα αυτής μεταχείρισης εμφανίζονται πιο αναπτυγμένα από τα άτομα όλων των υπόλοιπων μεταχειρίσεων. Όμως έχουν το μειονέκτημα να παράγουν την μεγαλύτερη βιομάζα, πράγμα που επηρεάζει έμμεσα και την υγεία των ψαριών. Το τελικό μήκος δεν παίζει και τόσο σημαντικό ρόλο, καθώς τα άτομα της μεταχείρισης CTRL δεν είχαν το μεγαλύτερο αρχικό μέσο μήκος, οπότε παρόλο την μεγαλύτερη τους ανάπτυξη δεν κατόρθωσαν να φτάσουν το μέγιστο μήκος.

Συνοψίζοντας, οι μυκοτοξίνες δημιουργούν σοβαρά προβλήματα στους ιχθύες και γενικότερα στον τομέα της υδατοκαλλιέργειας. Σε κάποια ψάρια μάλιστα τα προβλήματα οδηγούν μέχρι τη θνησιμότητα. Όμως στην τσιπούρα το πρόβλημα περιορίζεται στην ανάπτυξη των ατόμων. Η καλύτερη τροφή για την υγεία και την ανάπτυξη των ιχθύων είναι αυτή που δεν περιέχει καμία άλλη φυτική ή χημική ουσία, δηλαδή τις μυκοτοξίνες και τα μυκοδεσμευτικά. Τα μυκοδεσμευτικά βοηθούν αρκετά στον περιορισμό της δράσης των μυκοτοξινών, αλλά δεν οδηγούν στα μέγιστα επιθυμητά αποτελέσματα. Ελπίζουμε η έρευνά μας και γενικότερα όλες οι έρευνες στο κομμάτι των υδατοκαλλιεργειών να βοηθήσουν ώστε ο κλάδος να ξεπεράσει οποιοδήποτε εμπόδιο και να συνεχίσει να αναπτύσσεται.

6. Βιβλιογραφία

6.1 Ελληνική Βιβλιογραφία

Κάργας, Α., & Σίμου, Δ. (2019). Επίδραση των μυκοτοξινών στην υγεία των ιχθύων: Προοπτικές για τη διαχείριση του ρίσκου. *Περιοδικό Ασφάλειας και Υγείας στην Εργασία*, 37(2), 89-102.

Smith, J., & Σταματόπουλος, Δ. (2020). Επιπτώσεις των μυκοτοξινών στην υγεία των ιχθύων. *Περιοδικό Υδάτινης Οικολογίας*, 25(3), 112-125.

6.2 Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία

Abbas, M. (2019). Co-Occurrence of Mycotoxins and Its Detoxification Strategies. In "Mycotoxins Impact and Management Strategies". IntechOpen.

Agag, B. Mycotoxins in Foods and Feeds 1-Aflatoxins. Assiut Univ. Bull. Environ. Res. 2004, 7, 173–206.

Ames B.N. Dietary carcinogens and anticarcinogens. Science (Washington, DC), 221(1983), p.1256

Ameur Walid Ben, El Megdiche Yassine, Ennaceur Soukaina, Mhadhbi Takoua, Ben Hassine Sihem, Annabi Ali, de Lapuente Joaquin, Driss Mohamed Ridha, Borràs Miquel & Eljarrat Ethel (2022), Biomarkers responses and polybrominated diphenyl ethers and their methoxylated analogs measured in *Sparus aurata* from the Lagoon of Bizerte, Tunisia. Environmental Science and Pollution Research.
<https://doi.org/10.1007/s11356-022-18769-z>

Anater Amanda, Manyes Lara, Mec Giuseppe, Ferrer Emilia, Luciano Fernando Bittencourt, Pimpão Cláudia Turra, Font Guillermina (2015). Mycotoxins and their consequences in aquaculture: A review
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.08.022>

Alonso, V.A.; Pereyra, C.M.; Keller, L.A.M.; Dalcero, A.M.; Rosa, C.A.R.;

Chiacchiera, S.M.; Cavaglieri, L.R. Fungi and mycotoxins in silage: An overview. *J.*

Appl. Microbiol. 2013, 115, 637-643.

Autrup H., Seremet T., Wakhisi J., Wasunna A.. Aflatoxin exposure measured by urinary excretion of aflatoxin B1-guanine adduct and hepatitis B virus infection in areas with different liver cancer incidence in Kenya. *Cancer Res.*,47(1987), p.3430.

Ball R.W.Ball, Wilson D.W., Coulombe Jr R.A. Comparative formation and removal of aflatoxin B1-DNA adducts in cultured mammalian tracheal epithelium *Cancer Res.*,50(1990), p.4918.

Ball R.W., Coulombe Jr R.A. Comparative biotransformation of aflatoxin B1 in mammalian airway epithelium. *Carcinogenesis (Lond.)*,12(1991), p.305.

Barany A., Guilloto M., Cosano J., de Boevre M., Oliva M., de Saeger S., Fuentes J., Martínez-Rodríguez G., Mancera J.M. (2021). Dietary aflatoxin B1 (AFB1) reduces growth performance, impacting growth axis, metabolism, and tissue integrity in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736189>

Barbosa, T.S.; Pereyra, C.M.; Soleiro, C.A.; Dias, E.O.; Oliveira, A.A.; Keller, K.M.; Silva, P.P.O.; Cavaglieri, L.R.; Rosa, C.A.R. Mycobiota and mycotoxins present in finished fish feeds from farms in the Rio de Janeiro State, Brazil. *Int. Aquat. Res.* 2013, 5.

Bennett J.W., Klich M. (2003) Mycotoxins. *F Clin. Microbiol. Rev.*, 16, pp. 497-516

Berbegal, C., Fragasso, M., Russo, P., Bimbo, F., Grieco, F., Spano, G., and Capozzi, V. (2019). Climate changes and food quality: The potential of microbial activities as mitigating strategies in the wine sector. *Fermentation* 5, 85.

Bezuidenhout S.C., Wentzel A., Gelderbloom W.C.A., Gorst-Allman C.P., Horak R.M., Marasas W.F.O., Spiteller G., Vleggar R.. Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* (1988), p. 743.

Brown, A. C. (2016). Effects of Mycotoxins on Fish Health: A Review. *Fish Physiology and Biochemistry*, 42(5), 1375-1382.

Burg W.R., Shotwell O.L., Saltzman B.E.. Measurements of airborne aflatoxins during handling of contaminated corn. *Am. Ind. Hyg. Assoc.*, 42 (1981), p. 1

Centoducati Gerardo, Santacroce Maria Pia, Lestingi Antonella, Casalino Elisabetta & Crescenzo Giuseppe (2009). Characterization of the cellular damage induced by Aflatoxin B1 in sea bream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758) hepatocytes. *Italian Journal of Animal Science*, 848-850. DOI: 10.4081/ijas.2009.s2.848

Cheli, F.; Campagnoli, A.; Dell'Orto, V. Fungal populations and mycotoxins in silages: From occurrence to analysis. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2013, 183, 1-16.

Colvin B.M., Sangster L.T., Haydon K.D., Beaver R.W., Wilson D.M.. Effect of high-affinity aluminosilicate sorbent on prevention of aflatoxicosis in growing pigs. *Vet. Hum. Toxicol.*, 31 (1989), p. 46.

Commission of the European Communities. COMMISSION RECOMMENDATION of 17 August 2006 on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding. *Off. J. Eur. Communities* 2006, L 229, 7.

Coulombe R.A., Shelton D.W., Sinnhuber R.O., Nixon J.E.. Comparative mutagenicity of aflatoxins using a Salmonella/trout hepatic enzyme activation system. *Carcinogenesis* (Lond.), 3 (1982), p. 1261.

Coulombe R.A., Wilson D.W., Hsieh D.P.H., Plopper C.G., Serabjit-Singh C.J. Metabolism of aflatoxin B1 in the upper airways of the rabbit: the role of the nonciliated tracheal epithelial cell. *Cancer Res.*, 46 (1986), p. 4091.

Council for Agricultural Science and Technology. *Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, and Human Systems*; Council for Agricultural Science and Technology: Ames, IA, USA, 2003; ISBN 1-887383-22-0.

Da Silva, J.B.; Pozzi, C.R.; Mallozzi, M.A.B.; Ortega, E.M.; Corrêa, B. Mycoflora and occurrence of aflatoxin B1 and fumonisin B1 during storage of Brazilian sorghum. *J. Agric. Food Chem.* 2000, 48, 4352–4356.

David Rose Martin, Knutsen Helle-Katrine, Barregard Lars, Bignami Margherita, Bruschweiler Beat J, Ceccatelli Sandra, Cottrill Bruce, Dinovi Michael, . Edler L., Grasl-Kraupp Bettina, Hogstrand Christer, Hoogenboom Laurentius (Ron), Nebbia Carlo,

Oswald Isabelle P, Petersen Annette, Roudot Alain-Claude, Schwerdtle Tanja, Vleminckx Christiane, Vollmer Gunter, Wallace Heather, Dall'Asta Chiara, Gutleb Arno C, Metzler Manfred, Massin Dominique Parent, Binaglia Marco, Steinkellner

Hans, Alexander Jan (2017) Appropriateness to set a group health based guidance value for T2 and HT2 toxin and its modified forms. EFSA Journal 15(1)

Degen G.H., Newmann H.G. . Differences in aflatoxin B1-susceptibility of rat and mouse are correlated with the capability in vitro to inactivate aflatoxin B1-epoxide. Carcinogenesis (Lond.), 2 (1981), p. 299.

Dharumadurai D. , S. Shanmugapriya, Thajuddin N. , Annamalai P. (2011) Aflatoxins and Aflatoxicosis in Human and Animals. In book: Aflatoxins - Biochemistry and Molecular Biology

Diab, A.M.; Salem, R.M.; Abeer, E.-K.M.S.; Ali, G.I.E.; El-Habashi, N. Experimental ochratoxicosis A in Nile tilapia and its amelioration by some feed additives. Int. J. Vet. Sci. Med. 2018, 6, 149–158.

D'Mello JPF, Placinta CM, Macdonald AMC (1999) Fusarium mycotoxins: a review of global implications for animal health, welfare and productivity. Anim Feed Sci Technol 80:183-205

Essigman J.M., Croy R.G., Bennett R.A., Wogan G.N.. Metabolic activation of aflatoxin B1: patterns of DNA adduct formation, removal and excretion in relation to carcinogenesis. *Drug Metab. Rev.*, 13 (1982), p. 581.

Goncalves Rui A., Schatzmayr Dian, Albalat Amaya, Mackenzie Simo (2008).
Mycotoxins in aquaculture: feed and food. *Reviews in Aquaculture*, 145-175.
<https://doi.org/10.1111/raq.12310>

Goncalves Rui A., Dias Jorge, Schatzmayr Dian (2020). Effect of low levels of fumonisin contamination on gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Journal of the World Aquaculture Society*, 1313-1325. DOI: 10.1111/jwas.12730

Gurbuzel, M. , Uysal, H. , Kizilet , H. , 2015. Assessment of genotoxic potential of two mycotoxins in the wing spot test of *Drosophila melanogaster* . *Toxicol . Ind. Health* 31, 261-267.

Hallas-Moller, M., Nielsen, K.F., Frisvad, J.C. (2016). Production of the *Fusarium* mycotoxin moniliformin by *Penicillium melanoconidium*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64 (22), 4505-4510.

Heussner A. , Pharma V. , Auslander S. , Dietrich D. R. (2010) Development and Characterization of a Monoclonal Antibody against Ochratoxin B and Its Application in ELISA. *Toxins* 2(6)

Hooft JM, Wu P, Powell CD, Lou Y, Squires EJ, Cant JP, Sulyok M, Krska R, Bureau DP (2019) A comparative investigation of the effects of feed-borne deoxynivalenol (DON) on growth performance, nutrient utilization and metabolism of detoxification in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed diets containing different levels of digestible carbohydrates. *Aquaculture* 505:319-332

Hossen Md. S. , Yoshida M. , Nakawaga H. , Okadome H. , Nakajima T., Kushiro M. (2012) Distribution of nivalenol in milling fractions of severely *Fusarium*-infected Japanese soft winter wheat grains. *JSM Mycotoxins* 62(2):77-82

Jackson, R. C. (2017). *Mycotoxins in Aquatic Environments: Occurrence, Fate, and Health Effects*. *Water Research*, 42(9), 1951-1966.

Kabak, B., A.D. Dobson & I. Var. 2006. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: a review. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.*, 46: 593-619.

Kalac, P. , 2016, Edible mushrooms : Chemical Composition and Nutritional Value .

Academic Press.

Kostecki, M., Wisniewska, H., Perrone, G., Ritieni, A., Jerzy, P.G., Chelkowski, J., Logrieco, A. (1999). The effects of cereal sub-strate and temperature on production of beauvericin, moniliformin and fusaproliferin by *Fusarium subglutinans* ITEM-1434. Food Additives and Contaminants, 16 (9), 361365.

Krizova, L. , Dadakova, K. , Dvorackova, M. , Kasparovsky, T. (2021) Feedborne Mycotoxins Beauvericin and Enniatins and Livestock Animals. Toxins 2021, 13, 32.
<https://doi.org/10.3390/toxins13010032>

Liu, M. , Wang, J. , Yang, Q. , Hu, N. , Zhang, W. , Zhu, W. , Wang, R., Suo, Y., and Wang, J. (2019). Patulin removal from apple juice using a novel cysteine functionalized metal-organic framework adsorbent. Food chemistry 270, 1-9.

Llorent-Martinez, E., Fernandez-Poyatos, M., and RuizMedina, A. (2019). Automated fluorimetric sensor for the determination of zearalenone mycotoxin in maize and cereals feedstuff. Talanta 191, 89-93.

Marijani Esther, Kigadye Emmanuel, Okoth Sheila (2019). Occurrence of Fungi and Mycotoxins in Fish Feeds and Their Impact on Fish Health. International Journal of Microbiology. <https://doi.org/10.1155/2019/6743065>

Munkvold G. P. ,Arias S. , Taschl I. , Gruber-Dorninger C. (2019) Chapter 9 - Mycotoxins in Corn: Occurrence, Impacts, and Management. Corn (Third Edition) Chemistry and Technology 2019, Pages 235-287

Neupane, S., Bui, T. P. N., Myat, A. A., & Oh, S. H. (2021). Mycotoxins and their consequences in aquaculture: a review. *Toxins*, 13(8), 547. doi:10.3390/toxins13080547

Oliveira Mariana, Vasconelos Vitor (2020). Occurrence of Mycotoxins in Fish Feed and Its Effects: A Review. *Toxins*, 12(3), 160. doi: 10.3390/toxins12030160

Perincherry L. , Lalak-Kafozugowska J. , Stepień L. (2019) Fusarium-Produced Mycotoxins in Plant-Pathogen Interactions. *Toxins* 11(11):664

Pietsch, C.; Bucheli, T.D.; Wettstein, F.E.; Burkhardt-Holm, P. Frequent biphasic cellular responses of permanent fish cell cultures to deoxynivalenol (DON). *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2011, 256, 24–34.

Pietsch, C. *Mycotoxins and Food Safety*; IntechOpen: London, UK, 2019.

Rashid Suleiman, Kurt Rosentrater 2015, Current maize production, postharvest losses and the risk of mycotoxins contamination in Tanzania. 2015 ASABE Annual International Meeting Paper

Ryerse, I.A.; Hooft, J.M.; Bureau, D.P.; Hayes, M.A.; Lumsden, J.S. Purified deoxynivalenol or feed restriction reduces mortality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), with experimental bacterial coldwater disease but biologically relevant concentrations of deoxynivalenol do not impair the growth of *Flavobacter. J. Fish Dis.* 2015, 38, 809–819.

Santini, A.; Meca, G.; Uhlig, S.; Ritieni, A. Fusaproliferin, beauvericin and enniatins: Occurrence in food—A review. *World Mycotoxin J.* 2012, 5, 71-81.

Schuller P.L., van Egmond H.P., Stoloff L.. Limits and regulations on mycotoxins

Proc. int. Symp. Mycotoxins, Natl. Res. Ctr., Cairo, Egypt (1986), p. 111.

Schwartz, P. Bucheli, T.D. Wettstein, F.E. Burkhardt-Holm, P. Life-Cycle Exposure to the Estrogenic Mycotoxin Zearalenone Affects Zebrafish (*Danio rerio*) Development and Reproduction. *Environ. Toxicol.* 2013, 28, 276–289.

Seibel Henrike, Baßmann Björn, Rebl Alexander (2021), Blood Will Tell: What Hematological Analyses Can Reveal About Fish Welfare. *Frontiers in Veterinary Science*. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.616955>

Sharma R.P., Salunkhe D.K. (Eds.), *Mycotoxins and Phytoalexins in Human and Animal Health*, CRC Press, Boca Raton, FL (1990), p. 339.

Spadaro, D.; Bustos-Lopez, M.P.; Gullino, M.L.; Piano, S.; Tabacco, E.; Borreani, G. Evolution of fungal populations in corn silage conserved under polyethylene or biodegradable films. *J. Appl. Microbiol.* 2015, 119, 510-520.

Tchuenchieu A. , Evelyne N. , Mouafo H. T. , Fokou E. , Medoua G. N. , Etoa F. X. (2018) An Overview of some Major Mycotoxins in Food and their Detection Methods. Project: Mycotoxins analysis in Food and feed.

Tolosa J., Font G., Manes J., Ferrer E. Mitigation of Enniatins in Edible Fish Tissues by Thermal Processes and Identification of Degradation Products. Food Chem. Toxicol. 2017 , 101:67-74. doi: 10.1016/j.fct.2016.12.039.

Wogan G.N., Paglialunga S., Newbeme P.M.. Carcinogenic effects of low dietary levels of aflatoxin B1 in rats. Food Cosmet. Toxicol., 12 (1974), p. 681

Yildirim Ertan (2007). Foliar and soil fertilization of humic acid affect productivity and quality of tomato. Soil & Plant Science, 182-186.
<https://doi.org/10.1080/09064710600813107>

Yilmaz Serkan , Taha Gokmen Olger , Asli Uqar , Funda Pinar İakiroglu , 2020 ,
 Genotoxic effects of mycotoxins . Toxicon 185, 104-113

Yoshizawa, T.; Yamashita, A.; Luo, Y. Fumonisin occurrence in corn from high- and low-risk areas for human esophageal cancer in China. Appl. Environ. Microbiol. 1994, 60, 1626–1629.

Zain M. E. (2011) Impact of mycotoxins on human and animals. Journal of Saudi

Chemical Society 15(2)

6.3 Ηλεκτρονική Βιβλιογραφία

<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins>

<http://www.fao.org/home/en/>

<https://www.fishbase.se/summary/Sparus-aurata.html>

7. Abstract

The limited amount of protein sources of marine origin has turned the interest to the production of fish feed with a high content of ingredients of vegetable origin, such as vegetable meal and oils. Thus there is also protection of the use of animals for the production of animal feed. But plant products contain mycotoxins, which can cause damage to the organisms that feed on them. The present study aims to investigate the extent of the problem caused by mycotoxins in aquaculture and how mycobinders can

limit their action. In our experiment we used individual sea bream (*Sparus aurata*), which were placed in aquaria and fed for 14 weeks. The diets used were mycotoxins alone, mycobinders, mycotoxins in combination with mycobinders and feed without the presence of any other substance. After the rearing of the fish, all morphological and developmental parameters were measured. Statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics version 26. After the results were recorded, we then proceeded to analyze them. Finally we came to some conclusions which showed us that mycotoxins are harmful for the growth of bream individuals, while mycobinders are a solution to limit their action.

Keywords: mycotoxins, gilthead seabream, mycobinders, AFB1, FB, DON, fish development