

# Γενετική ταυτοποίηση ειδών Ασκιδίων σε εγκαταστάσεις μυδοκαλλιέργειας του Ελλαδικού χώρου



Γεώργιος Γελαδάκης<sup>1</sup>, Βασιλική Κομματά<sup>1,2</sup>, Μαρία Καμηλάρη<sup>1</sup>, Χαρίκλεια Παπαϊωάννου<sup>1,2</sup>,  
Δημήτρης Κ. Παπαδόπουλος<sup>3</sup>, Αθανάσιος Λάττος<sup>3</sup>, Βασίλης Μιχαηλίδης<sup>3</sup>, Ιωάννης  
Θεοδώρου<sup>1</sup>, Ιωάννης Α. Γιάντσης<sup>4</sup>, Κώστας Μπαταργιάς<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Τμήμα Ζωικής Παραγωγής, Αλιείας και Υδατοκαλλιεργειών, Πανεπιστήμιο Πατρών, Νέα Κτήρια, Μεσολόγγι

<sup>2</sup>Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών, Πανεπιστημιούπολη, Ρίο

<sup>3</sup>Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

<sup>4</sup>Τμήμα Γεωπονίας, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Δυτικής Μακεδονίας



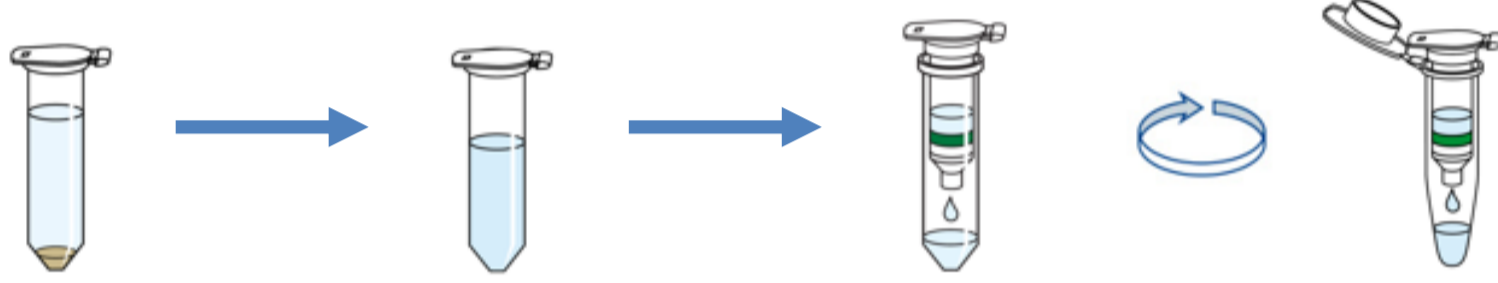
18<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ιχθυολόγων  
3-6 Νοεμβρίου 2022  
Μεσολόγγι

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

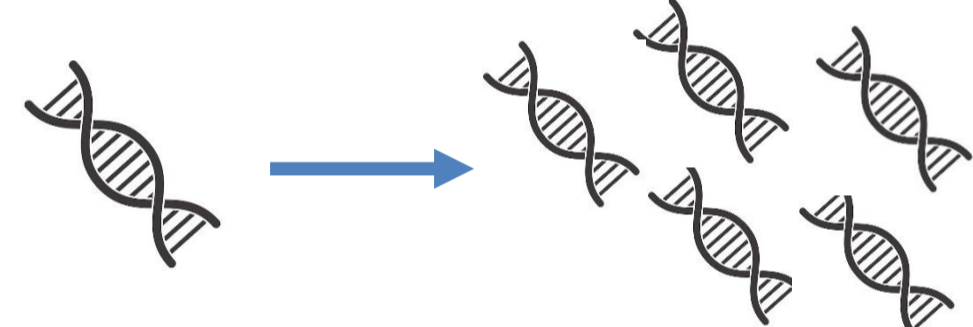
Τα Ασκίδια (φύλο: Chordata, υπόφυλο: Tunicata, κλάση: Ascidiacea) αποτελούν θαλάσσιους διηθηματοφάγους οργανισμούς που περνούν όλη την ενήλική τους ζωή προσκολλόμενα σε κάποιο σταθερό υπόστρωμα. Στις ελληνικές θάλασσες έχουν καταγραφεί 75 είδη ασκιδίων με το 44,4% των ειδών να αφορά σε εισβολικά (Antoniadou *et al.* 2016, Koukouras *et al.* 1995). Είναι γνωστά για την έντονη χωροκατακτητική τους δράση και κατατάσσονται ανάμεσα στους πιο σημαντικούς βιορπαντές (biofouling) (Aldred & Clare 2014). Η βιοσυσσώρευση των ασκιδίων έχει επιβλαβείς επιπτώσεις στις ανθρωπογενείς εγκαταστάσεις και ειδικά στις οστρακοκαλλιέργειες (π.χ., μυδοκαλλιέργειες) καθώς ο ίδιος ο εκτρεφόμενος οργανισμός αποτελεί υπόστρωμα επικάθισης των επιβιωτών (Fitridge *et al.* 2012). Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η γενετική ταυτοποίηση ειδών ασκιδίων από δύο περιοχές του Ελλαδικού χώρου (Ροδόπης και Θερμαϊκού) όπου εδράζονται μυδοκαλλιέργειες καθώς και η διερεύνηση της πληθυσμιακής δομής κάθε είδους.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

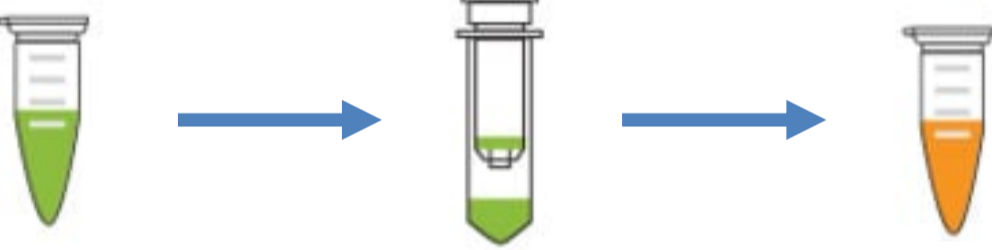
- εξαγωγή ολικού γενωμικού DNA σε 54 άτομα Ασκιδίων (n=37 από Ροδόπη, n=17 από Θερμαϊκό) με Kit Nucleospin<sup>®</sup> Tissue (Macherey-Nagel, Duren, Germany).



- ενίσχυση (PCR) τμήματος του μιτοχονδριακού γονιδίου της κυτοχρωμικής οξειδάσης (mtDNA COI, εκκινητές LCO1490 & HCO2198, Folmer *et al.* 1994).



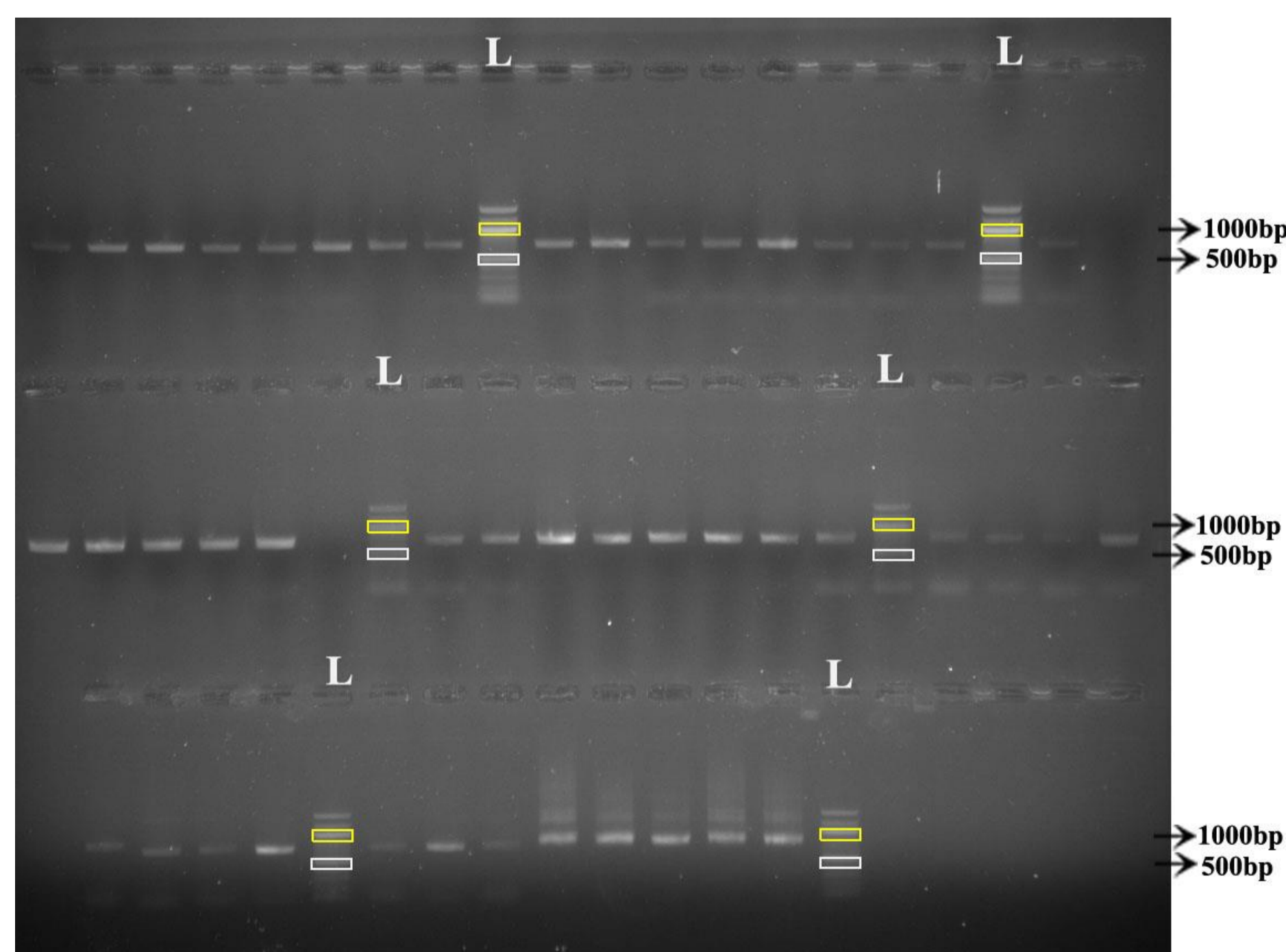
- καθαρισμός των προϊόντων της PCR με Kit NucleoSpin<sup>®</sup> Gel and PCR Clean-up (Macherey-Nagel, Germany).



- ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR σε πήκτωμα αγαρόζης 1% (Εικόνα 1).

- αλληλούχηση των προϊόντων PCR σε γενετικό αναλυτή (AB3500, Applied Biosystems).

- ταυτοποίηση του είδους κάθε ατόμου μέσω του αλγόριθμου BLAST (Altschu *et al.* 1990) και φυλογενετική ανάλυση των τελικών αλληλουχιών (613 bp για κάθε άτομο) μέσω του προγράμματος MEGA11 (Tamura, Stecher, and Kumar 2021).



Εικόνα 1. Παράδειγμα ηλεκτροφόρησης σε 1% gel αγαρόζης των προϊόντων ενίσχυσης τμήματος του γονιδίου COI (~650 bp). Το γράμμα 'L' υποδηλώνει τον δείκτη μεγέθους (100 bp DNA ladder), με εύρος ζωνών (μέγεθος θραυσμάτων) από 100 bp έως 1500 bp. Με κίτρινο και λευκό πλαίσιο επισημαίνονται οι ζώνες των 1000bp και των 500bp DNA του μάρτυρα μεγέθους, αντίστοιχα.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

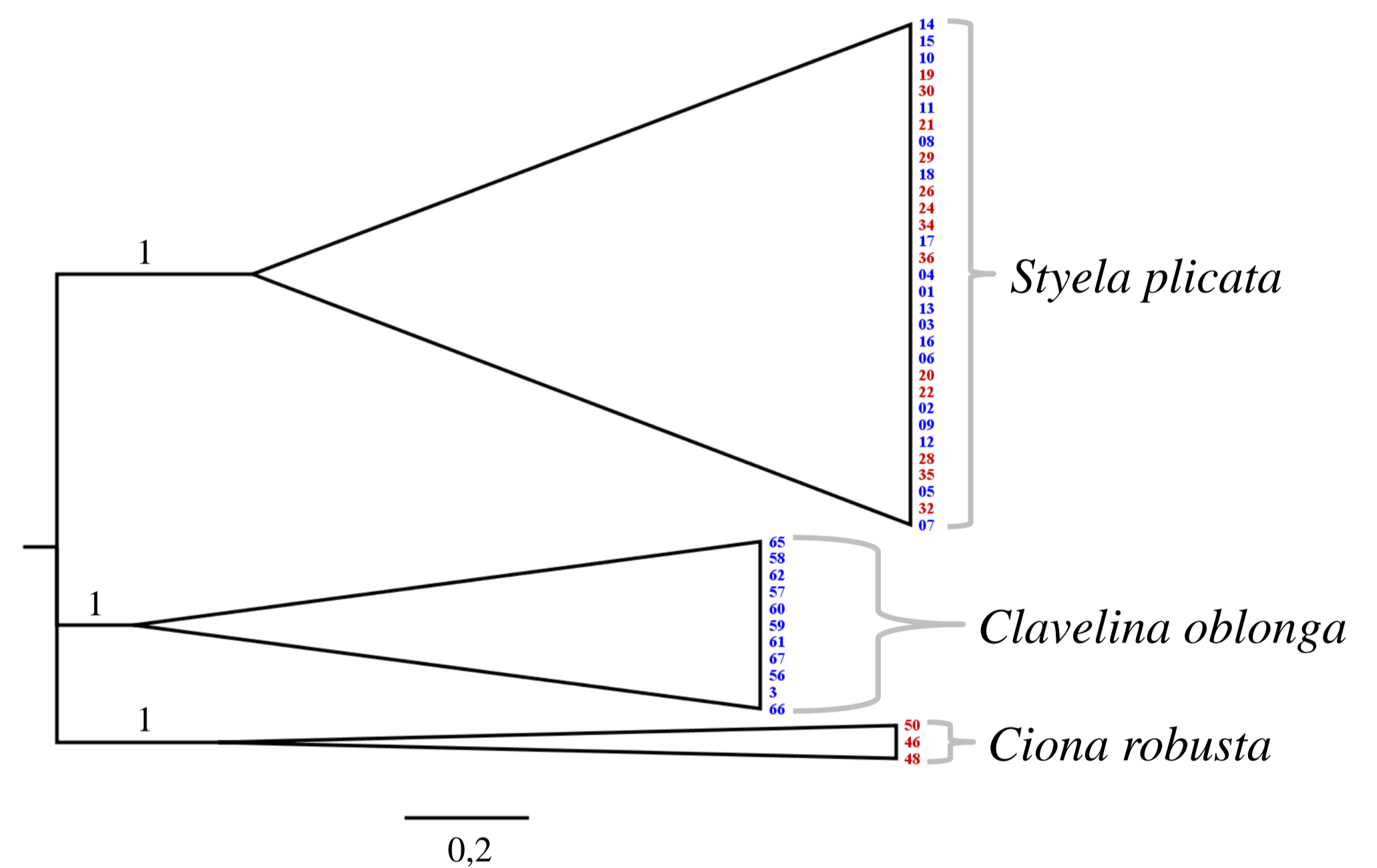
- Aldred N, Clare AS (2014) Mini-review: impact and dynamics of surface fouling by solitary and compound ascidians. *Biofouling* 30 (3): 259–270.
- Antoniadou C, Gerovasileiou V, Bailly N (2016) Ascidiacea (Chordata: Tunicata) of Greece: an updated checklist. *Biodiversity Data Journal* 4: e9273.
- Fitridge I, Dempster T, Guenther J, de Nys R (2012) The impact and control of biofouling in marine aquaculture: a review. *Biofouling* 28 (7): 649–669.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3(5): 294-299.
- Koukouras A, Voultsiadou-Koukoura E, Kevrekidis T, Vafidis D (1995) Ascidian fauna of the Aegean sea with a check list of eastern Mediterranean and Black sea species. *Annales de l'Institut Oceanographique*, Paris 71: 19–34.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### Γενετική ταυτοποίηση 3 ειδών ασκιδίων

Πίνακας 1. Γενετική ταυτοποίηση ειδών Ασκιδίων (ποσοστό κάλυψης και ομολογίας αλληλουχιών >90% και >96%, αντίστοιχα) με βάση το γονιδιακό τμήμα mtCOI ανά περιοχή δειγματοληψίας. n, αριθμός ατόμων που αλληλουχήθηκε με επιτυχία.

Περιοχή	Είδος	n
Ροδόπη	<i>Styela plicata</i>	18
	<i>Clavelina oblonga</i>	11
Θερμαϊκός	<i>Styela plicata</i>	13
	<i>Ciona robusta</i>	3



Εικόνα 2. Φυλογενετικό δέντρο (Maximum Likelihood Tree) βασισμένο στην ανάλυση των αλληλουχιών COI των ατόμων Ασκιδίων μέσω της χρήσης του μοντέλου Tamura 3-p (T92-p). Οι αριθμοί αντιστοιχούν σε άτομα Ασκιδίων. Το χρώμα στους αριθμούς προσδιορίζει την προέλευση, μπλε: Ροδόπη, κόκκινο: Θερμαϊκός. Οι αριθμοί πάνω στους κλάδους αντιστοιχούν σε bootstrap values (50% cut-off).

- ✓ 3 φυλογενετικοί κλάδοι – κάθε ένας αντιστοιχεί σε διαφορετικό είδος Ασκιδίων (Εικόνα 2).
- ✓ η γενετική απόκλιση μεταξύ των ατόμων των διαφορετικών ειδών κυμάνθηκε από 39,4 - 55,7 % (Tamura 3-p model).
- ✓ μικρή γενετική απόκλιση (3,9 %) μεταξύ των ατόμων του είδους *Styela plicata* διαφορετικής γεωγραφικής προέλευσης (Ροδόπης vs Θερμαϊκού).

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Ταυτοποίηση 3 κοσμοπολίτικων ειδών Ασκιδίων σε δύο γεωγραφικά διακριτές μονάδες μυδοκαλλιέργειας του Ελλαδικού χώρου.
- Κυρίαρχη επικράτηση του είδους *Styela plicata* και στις δύο υπό μελέτη περιοχές
- Διαφαινόμενη διαφορετική γεωγραφική εξάπλωση των ειδών *Clavelina oblonga* και *Ciona robusta*

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εργασία είναι μέρος του προγράμματος με τίτλο «Ανάπτυξη βέλτιστων πρακτικών ελέγχου ξενικών ειδών ασκιδίων και λοιπών ειδών (μαλάκια, σπόγγοι) στις εγκαταστάσεις των μυδοκαλλιεργειών και μετριασμό των οικονομικών επιπτώσεων της εισβολής» υποστηριζόμενο (Κωδικός ΟΠΣ 5048463) που χρηματοδοτείται από το Επιχειρησιακό Πρόγραμμα «ΑΛΙΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΑΛΑΣΣΑΣ 2014-2020» στα πλαίσια της πρόσκλησης «Προστασία και αποκατάσταση της Θαλάσσιας βιοποικιλότητας και των οικοσυστημάτων και καθεστάτα αντιμετώπισης στο πλαίσιο των βιώσιμων αλιευτικών δραστηριοτήτων -Δράση: συμμετοχή σε άλλες δράσεις που αποσκοπούν στη διατήρηση και βελτίωση της βιοποικιλότητας και των υπηρεσιών οικοσυστήματος, όπως η αποκατάσταση συγκεκριμένων Θαλάσσιων και παράκτιων οικοτόπων για τη στήριξη βιώσιμων αλιευτικών αποθεμάτων, συμπεριλαμβανομένης της επιστημονικής προετοιμασίας και αξιολόγησής τους - Χωροκατακτητικά Ξένα Είδη».

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης στο πλαίσιο του Ε.Π. Αλιείας και Θάλασσας 2014-2020

