

Aliens σε μια σταγόνα νερό: ανάλυση περιβαλλοντικού DNA για την ανίχνευση ξενικών ιχθύων



Παναγιώτα Ξανθοπούλου, Στέλιος Κατσανεβάκης,
Βασίλης Παπαθανασίου, Νικόλαος Καμίδης,
Αντώνιος Μαζάρης, Χρυσούλα Γκουμπίλη



c.gubili@inale.gr; xanthopop@inale.gr



<https://invasion.inale.gr/>



**ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ
ΣΥΝΕΔΡΙΟ
ΟΙΚΟΛΟΓΙΑΣ**
Η ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ ΣΤΗΝ ΑΝΘΡΩΠΟΚΑΙΝΟ ΕΠΟΧΗ
ΠΑΤΡΑ, 4-7 ΟΚΤΩΒΡΙΟΥ 2023

INVASION



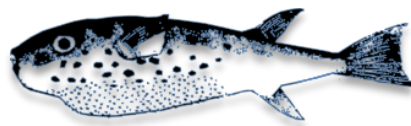
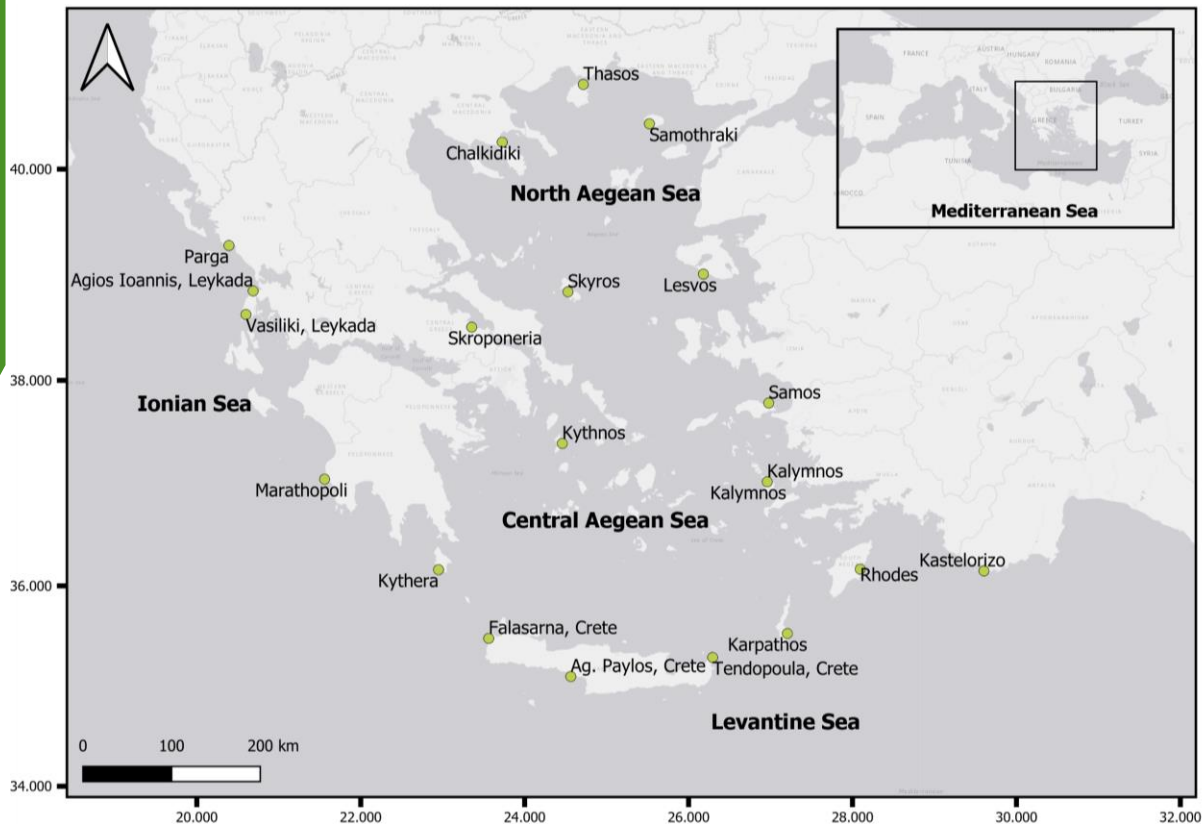
Μέτρο 6.1.18, Άρθρο 40 - Καν (ΕΕ) 508/14

INVASION

“Παρακολούθηση και έλεγχος των Χωροκατακτητικών Ξενικών Ειδών στην Ελλάδα με καινοτόμες τεχνικές υπό τις παρούσες και μελλοντικές κλιματικές συνθήκες”

~250 χωροκατακτητικά ξενικά είδη (ΧΞΕ) στα ελληνικά χωρικά ύδατα

Σοβαρές επιπτώσεις στα τοπικά οικοσυστήματα και οικοσυστημικές υπηρεσίες
 → **Απώλεια βιοποικιλότητας** ←



2020  **EU Biodiversity Strategy for 2030**
 EUROPEAN UNION

2017  **2021-2030** United Nations Decade of Ocean Science for Sustainable Development

Παρακολούθηση θαλάσσιων πληθυσμών



Κλασσικές μέθοδοι →

Υποεκτίμηση μεταβλητών πληθυσμιακής κατάστασης

(Katsanevakis *et al.* 2012)

Πρακτικοί περιορισμοί:

Δυσκολία πρόσβασης, π.χ. βάθος και τύπος υποστρώματος,

Ατμοσφαιρικές συνθήκες,

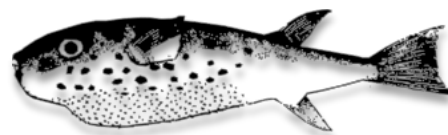
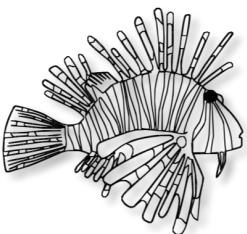
Χρονος, και

Κόστος



SOS Επεμβατικές - Διαταράσσουν τα τοπικά οικοσυστήματα

(Katsanevakis *et al.* 2012, Deiner *et al.* 2017)



Τί είναι το περιβαλλοντικό DNA;



Contents lists available at ScienceDirect

Biological Conservation

journal homepage: www.elsevier.com/locate/biocon



Special Issue Article: Environmental DNA

Environmental DNA – An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity

Philip Francis Thomsen, Eske Willerslev*

Centre for GeoGenetics, Natural History Museum of Denmark, University of Copenhagen, Øster Voldgade 5-7, DK-1350 Copenhagen, Denmark



RESEARCH ARTICLE

Harnessing the power of eDNA metabarcoding for the detection of deep-sea fishes

Beverly McClenaghan¹, Nicole Fahner¹, David Cote², Julek Chawarski³, Avery McCarthy¹, Hoda Rajabi¹, Greg Singer¹, Mehrdad Hajibabaei^{1,4*}

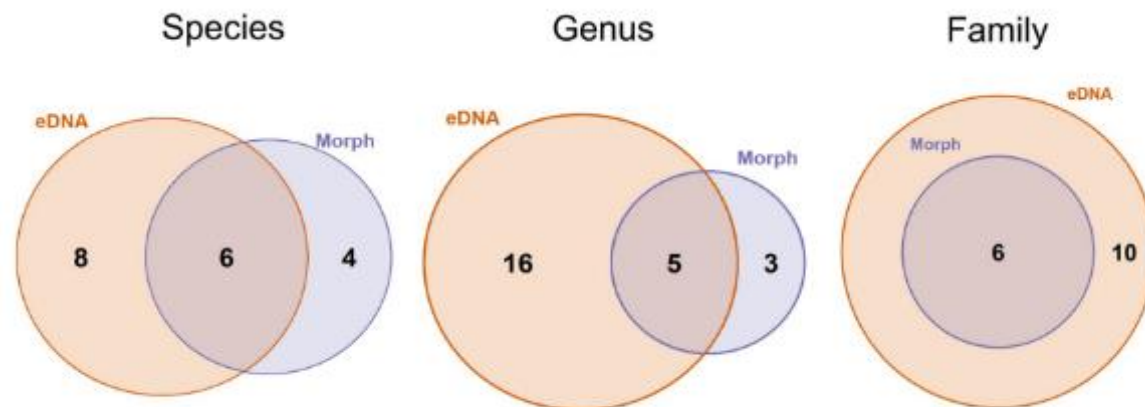
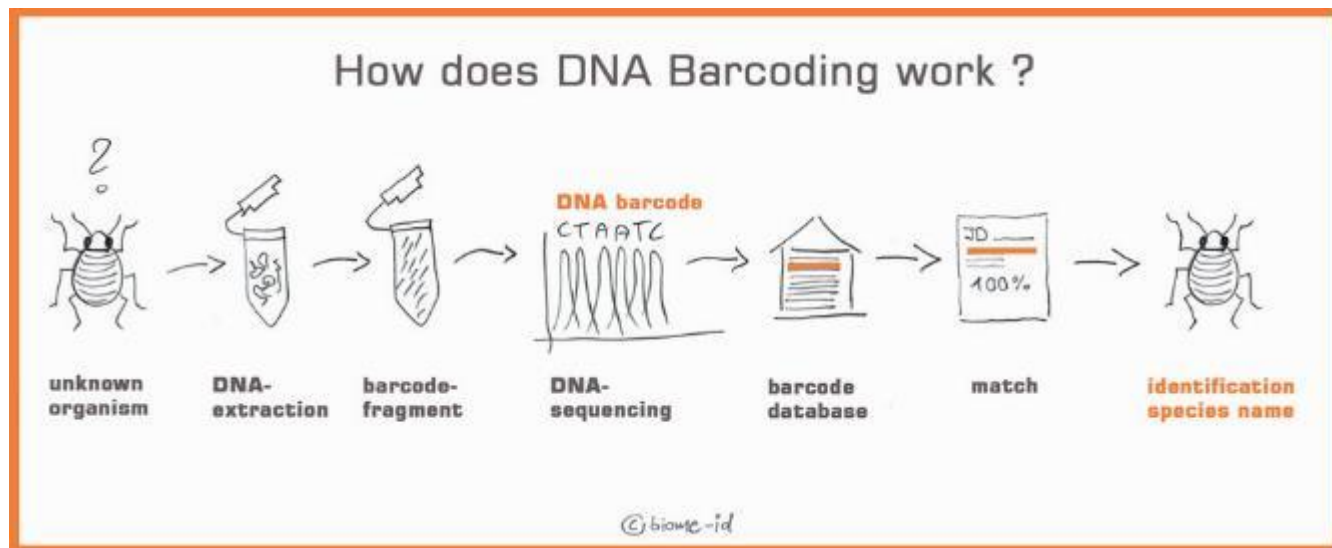


Fig 5. Comparison of the number of fish taxa detected at various taxonomic levels (species, genus, family) between sampling methods (eDNA metabarcoding vs. capture and morphological identification using IKMT pelagic trawls) for a single sampling expedition in 2019. Conventional methods are shown in purple and eDNA is shown in orange.



<https://www.biome-id.com/english-1/molecular-services-1/dna-barcoding/>; retrieved on 03/11/2021

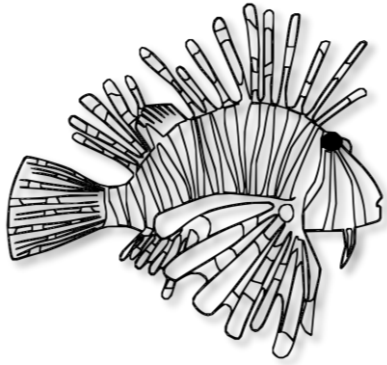


Από που προέρχεται το eDNA;

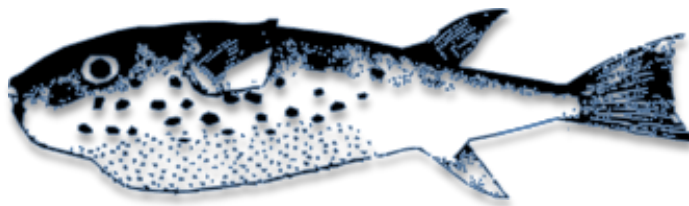
- Δέρμα, μαλλιά, λέπια
- Περιεχόμενο εντερικού σωλήνα
- Σπερματικό υγρό, αυγά,
- Διάφορα υπολείμματα

Πλεονεκτήματα eDNA

- Εύκολη συλλογή δειγμάτων
- Μη επεμβατική (δεν χρειάζεται να θανατωθούν ζώα)
- Μικρότερο κόστος δειγματοληψίας \$\$\$
- Ανίχνευση περισσότερο ειδών ανά δειγματοληψία σε σχέση με τις κλασικές μεθόδους



- 1) Πόσα ΧΞΕ μπορούμε να ανιχνεύσουμε στην Ελλάδα με eDNA;
- 2) Είναι το eDNA αποδοτικότερο από τις κλασικές μεθόδους βιοπαρακολούθησης;

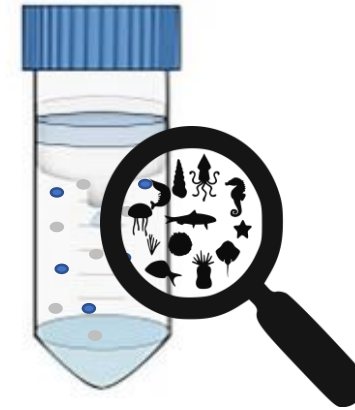
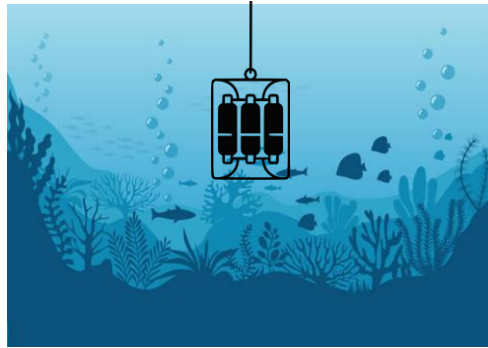




INVASION 🐟



1 Δειγματοληψία



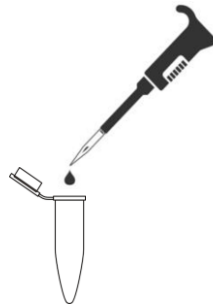
1 L νερού x3

2 Συλλογή κυττάρων



Φίλτρα 0.22 μm

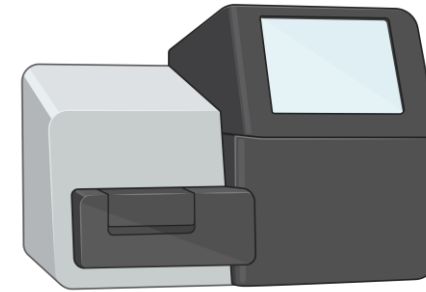
3 Απομόνωση eDNA



Ασηπτικές συνθήκες

Ενίσχυση-PCR

Αλληλούχιση



AGTGCTAGTCATCAGCTACATGCTAGCTA



CTAGTCATCAGCTACATGCTAGCTAAGTG



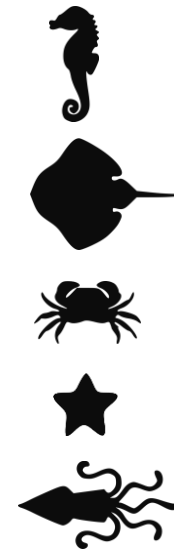
TCATCAGCTACATGCTAGCTAAGTGCTAG



GCTACATGCTAGCTAAGTGCTAGTCATCA



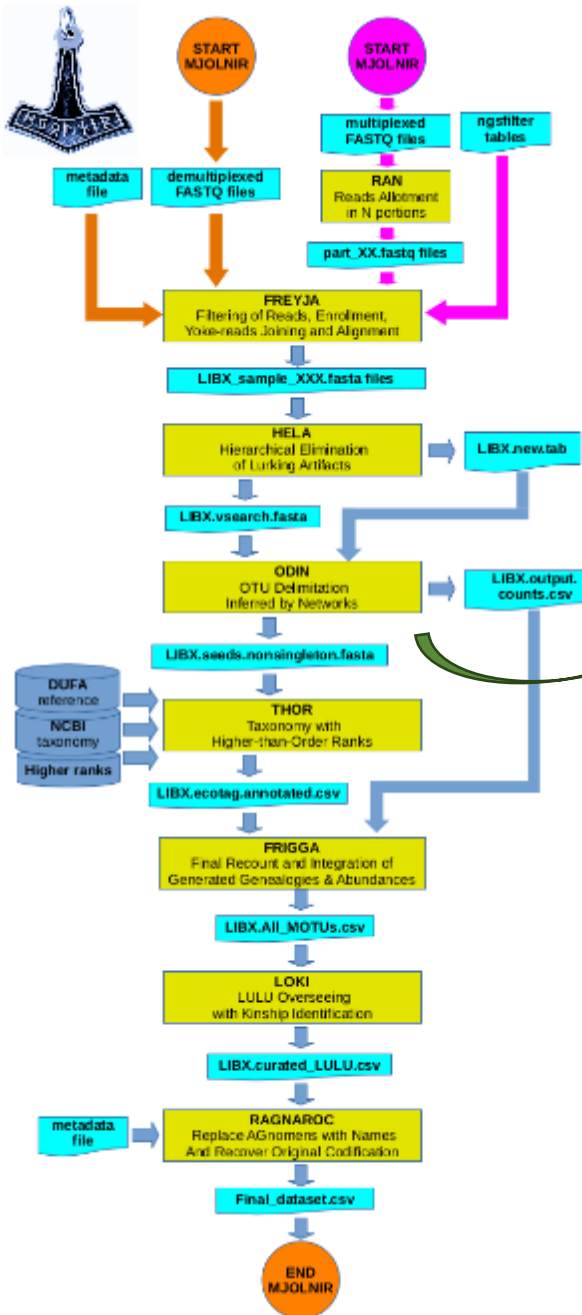
CTAAGTGCTAGTCATCAGCTACATGCTAG



Δύο σετ εκκινητών:

COI **Μετάζωα** 
(Leray-XT, Leray et al. 2013)

12S rRNA **Ψάρια**
(MiFish, Miya et al. 2015)



OBITOOLS

MOLECULAR ECOLOGY RESOURCES

Resource Article

OBITOOLS: a UNIX-inspired software package for DNA metabarcoding

Frédéric Boyer, Céline Mercier, Aurélie Bonin, Yvan Le Bras, Pierre Taberlet, Eric Coissac

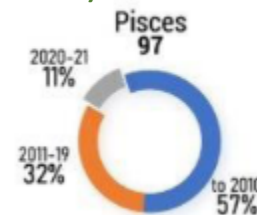
First published: 09 May 2015 | <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12428> | Citations: 528

Μοριακές ταξινομικά λειτουργικές μονάδες (MOTUs)

Mediterranean Marine Science
 Indexed in WoS (Web of Science, ISI Thomson) and SCOPUS
 The journal is available on line at <http://www.medit-mar-sc.net>
www.hcmr.gr
 DOI: <http://doi.org/10.12681/mms.29106>



Review Article



Established non-indigenous species increased by 40% in 11 years in the Mediterranean Sea

Argyro ZENETOS¹, Paolo G. ALBANO², Eduardo LÓPEZ GARCIA³, Nir STERN⁴, Konstantinos TSIAMIS¹ and Marika GALANIDI⁵

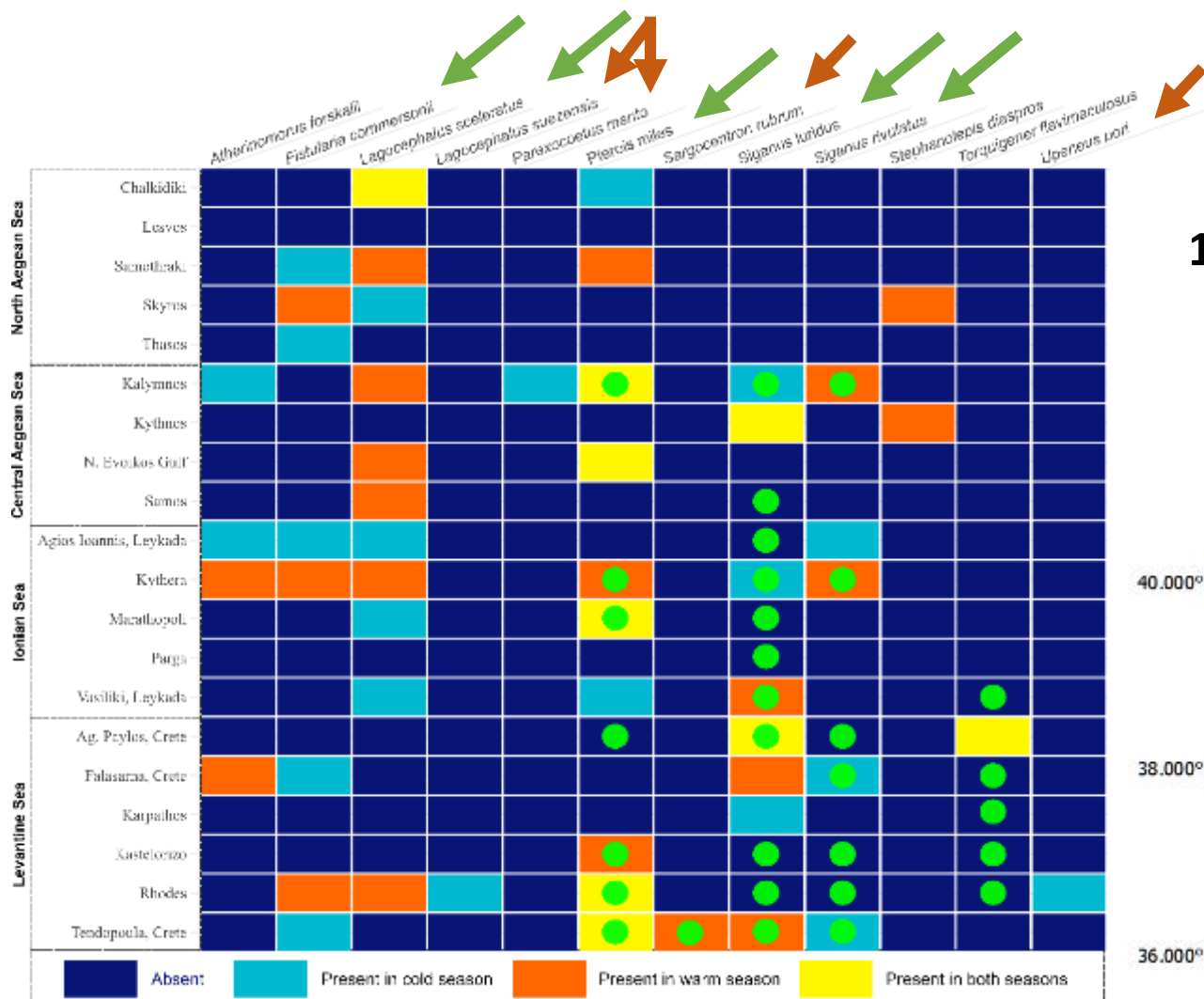
Generalized Additive Models (GAM): $O \sim s(\text{latitude}) + s(\text{longitude}) + s(\text{depth}) + \text{as.factor}(\text{species}) + s(\text{temperature}) + \text{“mgcv” } 1.8-34$ (Wood et al. 2016)

Permutational analysis of variance (PERMANOVA): $O \sim \text{substrate} * \text{season} * \text{area}$

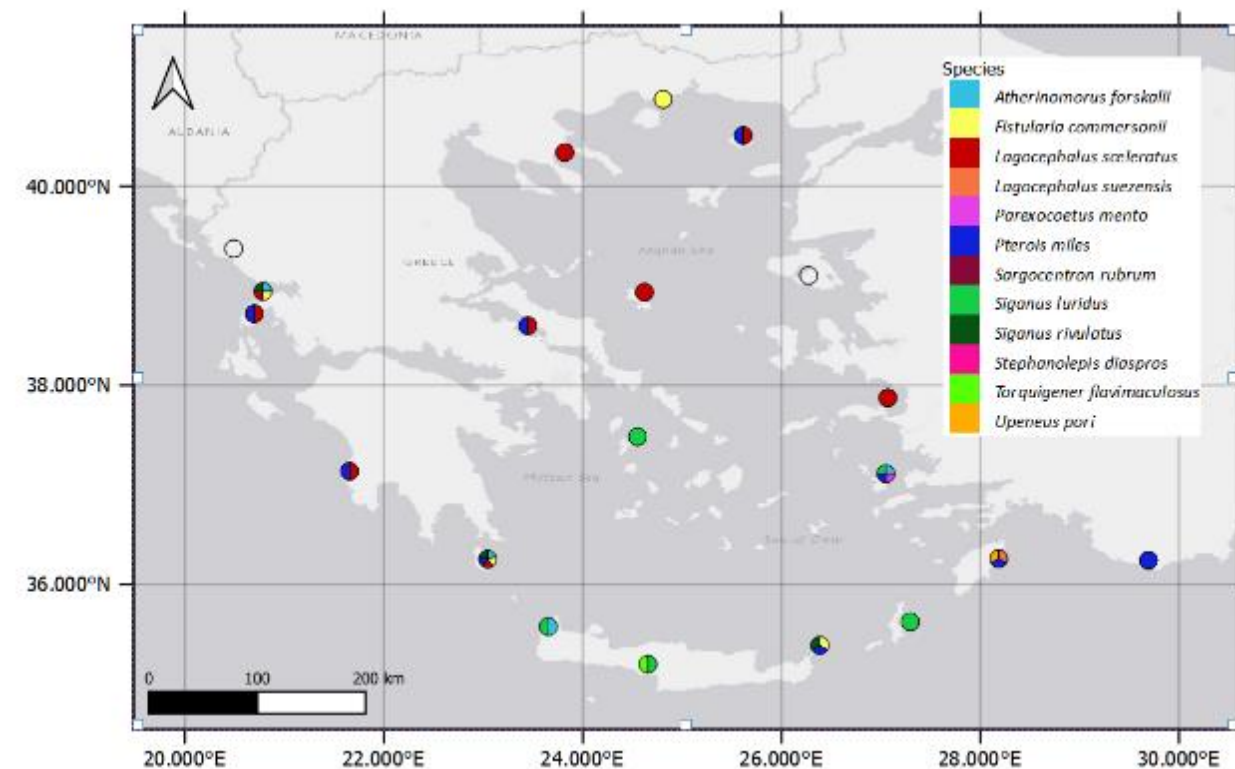
“vegan” 2.6-2, function *metaMDS* (Oksanen et al. 2019)

Non-metric multidimensional scaling (NMDS): community composition $\sim \text{season} / \text{area} / \text{substrate}$

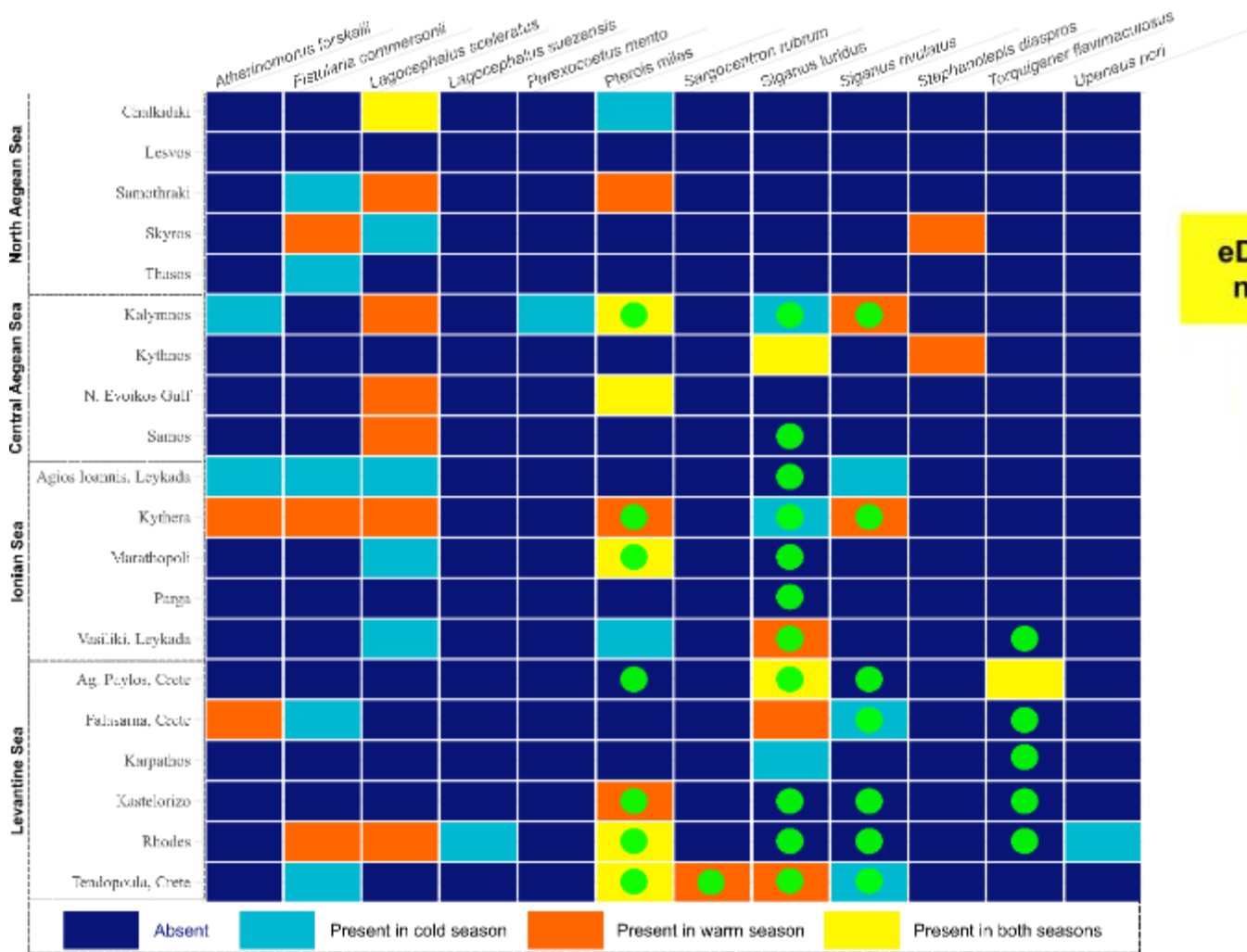
“vegan” 2.6-2, function *adonis2* (Oksanen et al. 2019)



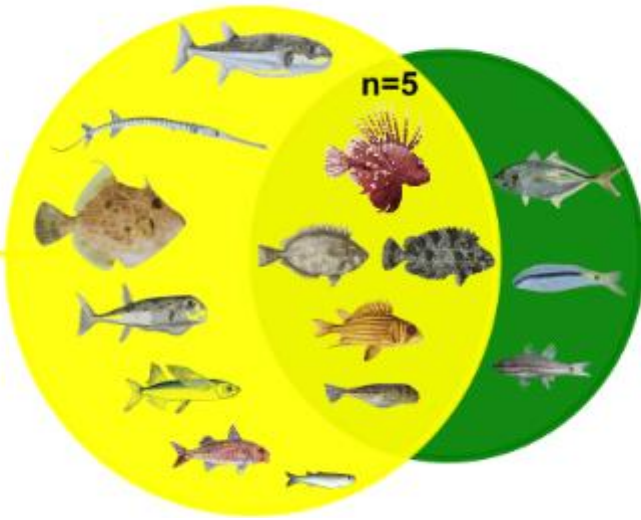
12,348,139 paired-end reads / ~102,901 ανά δείγμα
 → 250 MOTUs



12/40 ξενικά είδη ιχθύων καταγεγραμμένα στην Ελλάδα
 (Zenetos et al. 2018)



eDNA
n=7



SCUBA
n=3

- Pterois miles*
- Sargocentron rubrum*
- Siganus luridus*
- Siganus rivulatus*
- Torquigener flavimaculosus*

- Atherinomorus forskalii*
- Fistularia commersonii*
- Lagocephalus scleratus*
- Lagocephalus suezensis*
- Parexocoetus mento*
- Stephanolepis diaphros*
- Upeneus pori*

- Alepes djedaba*
- Cheilodipterus novemstriatus*
- Parupeneus forsskali*

Occurrence ~ s(latitude)+s(longitude)s(depth)+as.factor(species)+s(temperature)+s(salinity)

Deviance explained = 22.5%

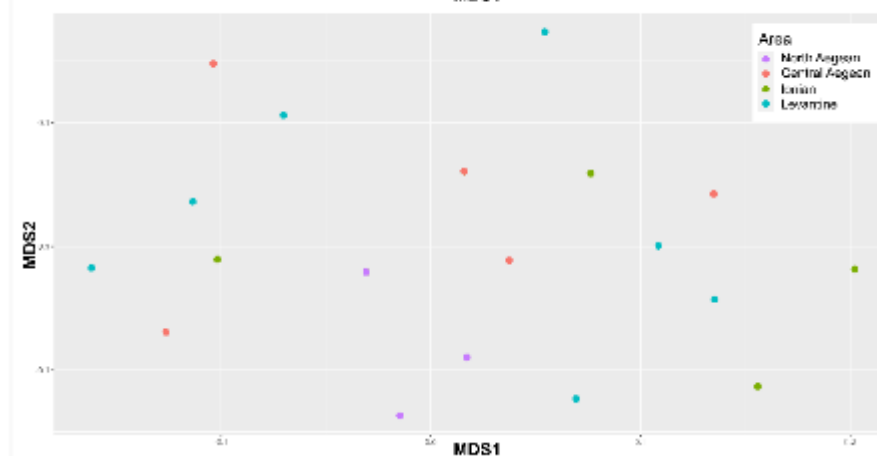
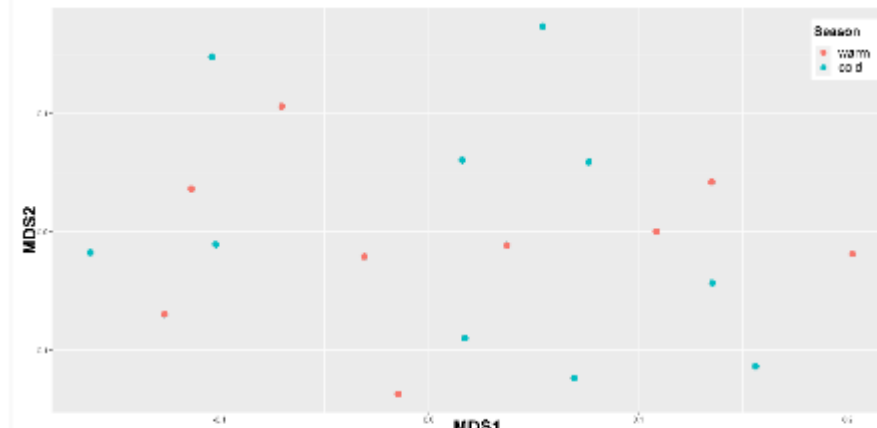
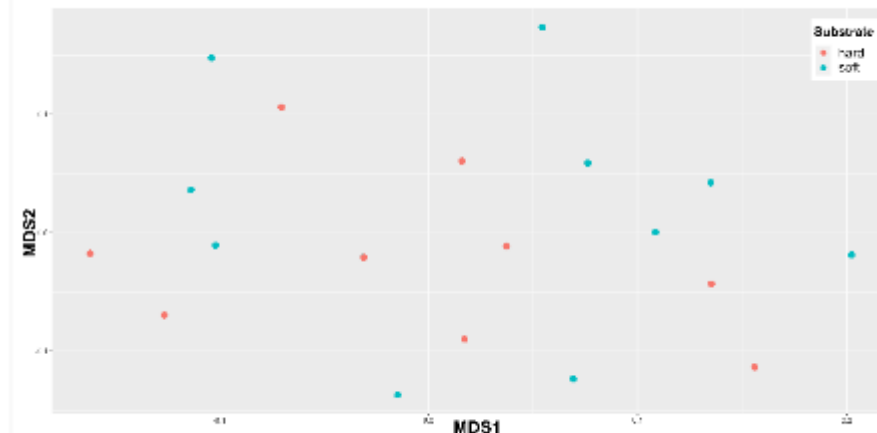
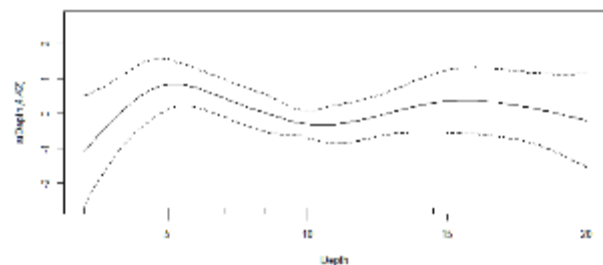
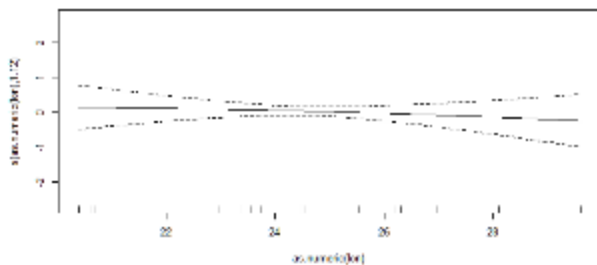
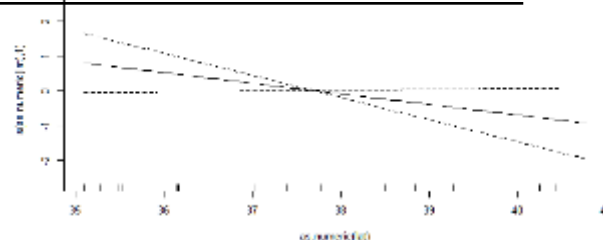
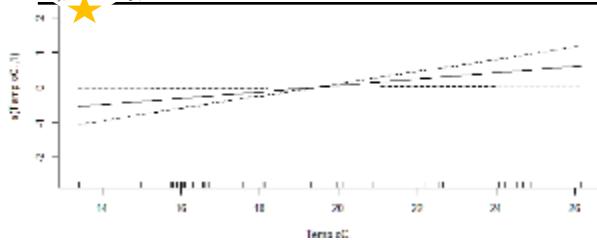
Adjusted R²= 15%

Parametric terms:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
Intercept	-2.3901	0.5453	-4.383	<0.001***
<i>Fistularia commersonii</i>	0.8613	0.678	1.27	0.20401
<i>Lagocephalus scleratus</i>	1.4489	0.6508	2.226	0.02599*
<i>Lagocephalus suezensis</i>	-1.5062	1.1534	-1.306	0.1916
<i>Parexocoetus mento</i>	-1.5062	1.1534	-1.306	0.1916
<i>Pterois miles</i>	1.8214	0.6423	2.836	0.00457**
<i>Sargocentron rubrum</i>	-1.5062	1.1534	-1.306	0.1916
<i>Siganus luridus</i>	1.1734	0.6612	1.775	0.07596
<i>Siganus rivulatus</i>	0.2641	0.7294	0.362	0.71726
<i>Stephanolepis diaspros</i>	-0.7735	0.9114	-0.849	0.39602
<i>Torquigener flavimaculosus</i>	-0.7735	0.9114	-0.849	0.39602
<i>Upeneus pori</i>	-1.5062	1.1534	-1.306	0.1916

Significance of smooth terms:

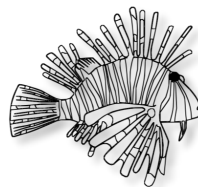
	edf	Ref.df	Chi.sq	p-value
s(latitude)	1	1	3.405	0.065.
s(longitude)	1.121	1.227	0.485	0.6722
s(depth)	4.42	5.026	10.888	0.0568.
s(temperature)	1	1	4.79	0.0286*
s(salinity)	1	1	1.016	0.3134



- Μεγάλο μέρος του ξενικού ιχθυοπληθυσμού μπορεί να ανιχνευθεί με eDNA
- Ξενικά είδη ιχθύων απαντώνται σε ολόκληρη την ελληνική ακτογραμμή
- Η θερμοκρασία επηρεάζει την ανίχνευση ξενικών ιχθύων
- Περισσότερα είδη ανιχνευθήκαν με eDNA σε σχέση με SCUBA
- Περίπου 1/3 των ειδών από SCUBA δεν ανιχνεύθηκαν από eDNA

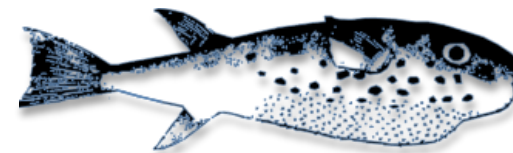
**Ανάγκη για
πληρέστερες
βάσεις
αναφοράς**

Μπορεί το eDNA να φανεί χρήσιμο στη διαχείριση
ξενικών/εισβολικών ειδών;



Ευχαριστούμε!

INVASION 



Ομάδα Έργου:

Χρυσούλα Γκουμπίλη
Βασίλης Παπαθανασίου
Νικόλαος Καμίδης
Στέλιος Κατσανεβάκης
Αντώνιος Μαζάρης
Παναγιώτα Ξανθοπούλου



**ARISTOTLE
UNIVERSITY OF
THESSALONIKI**



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης
και Τροφίμων

**ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ
Ε.Π. ΑΛΙΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΑΛΑΣΣΑΣ**

