

8° ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΟΙΚΟΛΟΓΙΑΣ
8th CONGRESS OF THE HELLENIC ECOLOGICAL SOCIETY

150+

20-23/10/2016

Α.Π.Θ. ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ
ARISTOTLE UNIVERSITY OF
THESSALONIKI GREECE

 HELE COS

ΧΡΟΝΙΑ ΟΙΚΟΛΟΓΙΑΣ | YEARS OF ECOLOGY

ΔΟΜΕΣ, ΔΕΣΜΟΙ, ΔΥΝΑΜΙΚΕΣ
ΚΑΙ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΕΠΙΒΙΩΣΗΣ | STRUCTURES, DYNAMICS
AND SURVIVAL STRATEGIES

ΠΡΑΚΤΙΚΑ
PROCEEDINGS

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2016
THESSALONIKI 2016

Τίτλος

Πρακτικά 8^{ου} Πανελλήνιου Συνεδρίου Οικολογίας: 150+ Χρόνια Οικολογίας - Δομές, Δεσμοί, Δυναμικές και Στρατηγικές Επιβίωσης

Title

Proceedings of the 8th Congress of the Hellenic Ecological Society: 150+ Years of Ecology - Structures, Dynamics and Survival Strategies

Εκδότης

Ελληνική Οικολογική Εταιρεία

Publisher

Hellenic Ecological Society

Επιμέλεια έκδοσης

Δ. Βώκου

Editor

D. Vokou

ISBN: 978-618-80272-2-0

© Copyright 2016

Ελληνική Οικολογική Εταιρεία – Δέσποινα Βώκου

Hellenic Ecological Society (HELECO) – Despoina Vokou

Website: www.helecos.gr

Email: helecos4@gmail.com

Βιβλιογραφική αναφορά

Βώκου Δ (επιμ. έκδοσης) 2016. Πρακτικά 8^{ου} Πανελλήνιου Συνεδρίου Οικολογίας: 150+ Χρόνια Οικολογίας - Δομές, Δεσμοί, Δυναμικές και Στρατηγικές Επιβίωσης. Ελληνική Οικολογική Εταιρεία, Θεσσαλονίκη

This may be cited as follows

Vokou D (ed) 2016. Proceedings, 8th Congress of the Hellenic Ecological Society: 150+ Years of Ecology - Structures, Dynamics and Survival Strategies. Hellenic Ecological Society, Thessaloniki

DNA METABARCODING ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΑΕΡΑ ΓΙΑ ΤΑΞΙΝΟΜΙΚΗ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ ΤΗΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΗΣ ΓΥΡΗΣ

Λεοντίδου Κ^{1,2}, Vernesi C², De Groeve J², Cristofolini F², Βώκου Δ¹, Cristofori A²

¹Τομέας Οικολογίας, Τμήμα Βιολογίας ΑΠΘ / ²Department of Biodiversity and Molecular Ecology, Research and Innovation Centre, Fondazione Edmund Mach. cleopatra.leontidou@fmach.it

Το DNA metabarcoding είναι μια υποσχόμενη μοριακή μέθοδος για την ταξινομική αναγνώριση αερομεταφερόμενης γύρης περιεχόμενης σε περιβαλλοντικά δείγματα, με πιθανά πλεονεκτήματα έναντι των κλασικών μεθόδων. Η διαδικασία αυτή περιλαμβάνει διάφορα στάδια και το επιτυχές της αποτέλεσμα εξαρτάται από την ποσότητα και ποιότητα DNA που θα χρησιμοποιηθεί ως αρχικό υλικό. Μέχρι τώρα δεν υπάρχει κάποιο συγκεκριμένο πρωτόκολλο για την προετοιμασία των δειγμάτων και την απομόνωση του DNA, ειδικά από παγίδες καθίζησης τύπου Tauber. Εδώ παρουσιάζουμε μια μεθοδολογία για την ανάλυση περιβαλλοντικών δειγμάτων που συλλέχθηκαν με ογκομετρική παγίδα Burkard και παγίδες Tauber. Συγκρίθηκαν διαφορετικά πρωτόκολλα (π.χ. kits απομόνωσης DNA) σε γύρη ενός είδους και ο αποδοτικότερος συνδυασμός ως προς την ποσότητα DNA εφαρμόστηκε σε περιβαλλοντικά δείγματα (μείγματα γύρης διαφορετικών ταχα). Σε αυτά, ένα μικρό τμήμα (περίπου 150 ζεύγη βάσεων) του χλωροπλαστιδικού DNA (cpDNA) ενισχύθηκε με γενικούς εκκινητές για φυτά (trnL), 30 δείγματα αλληλουχήθηκαν και η αναγνώριση έγινε σε σύγκριση με μια βάση δεδομένων αναφοράς που κατασκευάστηκε στο πλαίσιο της μελέτης και περιλαμβάνει ανεμοεπικονιαζόμενα ταχα που υπάρχουν στις Ανατολικές Ιταλικές Άλπεις (περιοχή μελέτης) από 46 οικογένειες. Έχοντας σαν αποτελέσματα αναφοράς αυτά του μικροσκοπίου και διαθέτοντας βελτιωμένα πρωτόκολλα και μια επαρκή βάση δεδομένων, αποδείξαμε ότι η μέθοδος του metabarcoding είναι αποτελεσματική στην αναγνώριση γύρης, ακόμη και σε επίπεδο είδους. Η μεθοδολογία πρόκειται να εφαρμοστεί στην ανάλυση δειγμάτων αέρα με τεχνολογία αλληλούχισης δεύτερης γενιάς, σε διαφορετικούς οικοτόπους Natura 2000 των Άλπεων.

DNA METABARCODING OF AIR SAMPLES FOR THE TAXONOMIC IDENTIFICATION OF AIRBORNE POLLEN

Leontidou K^{1,2}, Vernesi C², De Groeve J², Cristofolini F², Vokou D¹, Cristofori A²

Department of Ecology, School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki / ²Department of Biodiversity and Molecular Ecology, Research and Innovation Centre, Fondazione Edmund Mach. cleopatra.leontidou@fmach.it

Metabarcoding is a promising DNA-based method for identifying airborne pollen from environmental samples, with potential advantages over microscopic methods. This method includes several steps and its successful outcome depends on a good DNA quality and quantity, which will be used as a starting material. Currently, there is no clear protocol for the sample preparation and the DNA extraction, especially for gravitational pollen samplers. Here, we present a methodology to analyze environmental samples collected by both volumetric (Burkard spore trap) and gravitational samplers (Tauber trap). For this, we compared different protocols (e.g. DNA extraction kits) on pure pollen (single species) and the best combination, in terms of DNA yield, was applied to environmental samples (pollen mixtures of different taxa). For the environmental samples, a short fragment (about 150 base pairs) of chloroplast DNA (cpDNA) was amplified by universal primers for plants (trnL), 30 amplicons were Sanger-sequenced and the taxonomic assignment was accomplished through a comparison to a reference custom-made database, including important widespread anemophilous taxa from the study area (Eastern Italian Alps). Having as reference the microscope results, we proved that metabarcoding is efficient in identifying taxa even at the species level, having established improved protocols and a good reference database. We plan to apply a semi-quantitative analysis by Next Generation Sequencing to assess the pollen spectra of different Natura 2000 habitats in the Alps.

This work is funded by Fondazione Edmund Mach, Research and Innovation Centre and FIRST FEM International Research School, Trentino, Italy.