

ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΕΠΕΤΗΡΙΔΑ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΣΠΥΡΙΔΩΝ ΠΑΠΑΚΩΣΤΑΣ
ΒΙΟΛΟΓΟΣ

**ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ
ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΕΙΔΩΝ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *BRACHIONUS*
ΜΕ ΧΡΗΣΗ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΠΟΥ ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ ΣΤΟ ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΟΥ ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2008

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1. Γενικό μέρος.....	1
1.2. Ειδικό μέρος	3
1.2.1. ΤΑΞΙΝΟΜΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΤΟΥ <i>BRACHIONUS</i>	5
1.2.2. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΕΣΩΤΕΡΙΚΗ ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ <i>BRACHIONUS</i>	6
1.2.3. ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ (ΚΥΚΛΙΚΗ ΠΑΡΘΕΝΟΓΕΝΕΣΗ)	10
1.2.4. ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ <i>BRACHIONUS</i>	12
1.2.5. ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ - ΚΑΛΙΕΡΓΕΙΑ ΕΙΔΩΝ <i>BRACHIONUS</i> ΣΤΑ ΕΚΚΟΛΑΠΤΗΡΙΑ	16
1.2.6. ΤΟ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑ <i>B. PLICATILIS</i>	20
1.3. Σκοπός της εργασίας	24
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	26
2.1. Υλικό	26
2.1.1. Βιολογικό υλικό	26
Εργαστηριακοί πληθυσμοί	27
Πληθυσμοί εκκολαπτηρίων	29
Φυσικοί πληθυσμοί	31
2.1.2. ΚΑΤΑΤΕΘΕΙΜΕΝΕΣ ΑΚΟΛΟΥΘΙΕΣ DNA	33
2.2. Μέθοδοι γενετικής ταυτοποίησης.....	33
2.2.1. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ (DNA)	34
2.2.2. ΑΛΥΣΙΔΩΤΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ (PCR)	35
Ενίσχυση της περιοχής COI.....	37
Ενίσχυση της περιοχής 16S.....	38
Ενίσχυση μικροδορυφορικών περιοχών	39
2.2.3. ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΜΗΚΟΥΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ (RFLP).....	40
Κατασκευή «χάρτη περιορισμού» περιοχής COI.....	41
Κατασκευή «χάρτη περιορισμού» περιοχής 16S	43
2.2.4. ΕΥΡΕΣΗ ΓΕΝΟΤΥΠΩΝ ΣΤΟΥΣ ΜΙΚΡΟΔΟΡΥΦΟΡΙΚΟΥΣ ΤΟΠΟΥΣ	44
2.2.5. ΕΥΡΕΣΗ ΠΡΩΤΟΔΙΑΤΑΞΗΣ.....	45
2.3. Γενετικός χαρακτηρισμός πληθυσμών <i>Brachionus</i>	45
Εργαστηριακοί πληθυσμοί	47
Πληθυσμοί εκκολαπτηρίων	47
Φυσικοί πληθυσμοί	48
2.4. Μελέτη φυλογενετικών σχέσεων ειδών/βιοτύπων <i>Brachionus</i> με βάση την πρωτοδιάταξη του DNA.....	49
2.4.1. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΠΟΣΤΑΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	53
2.4.2. ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΣΧΕΣΕΙΣ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΗΝ ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΓΙΣΤΗΣ ΦΕΙΔΩΛΟΤΗΤΑΣ.....	54
2.4.3. ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΣΧΕΣΕΙΣ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΗΝ ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΓΙΣΤΗΣ ΠΙΘΑΝΟΤΗΤΑΣ.....	55
2.4.4. ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΣΧΕΣΕΙΣ ΚΑΤΑ BAYES	56
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	60
3.1. Γενετικοί δείκτες και μοριακές τεχνικές.....	60
3.1.1. ΠΕΡΙΟΧΗ COI - «ΧΑΡΤΗΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ»	60
3.1.2. ΠΕΡΙΟΧΗ 16S - «ΧΑΡΤΗΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ».....	67

3.1.3. ΜΙΚΡΟΔΟΥΦΟΡΙΚΟ DNA	70
3.2. Γενετικός χαρακτηρισμός πληθυσμών <i>Brachionus</i>	72
Εργαστηριακοί πληθυσμοί	72
Πληθυσμοί εκκολαπτηρίων	78
Φυσικοί πληθυσμοί	86
Σχέσεις πληθυσμών εκκολαπτηρίων και φυσικών πληθυσμών με βάση τα αποτελέσματα γενοτύπησης στους μικροδορυφορικούς τόπους	97
3.3. ΜΕΛΕΤΗ ΦΥΛΟΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΣΧΕΣΕΩΝ ΣΤΟ ΓΕΝΟΣ <i>BRACHIONUS</i> ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΗΝ ΠΡΩΤΟΔΙΑΤΑΞΗ ΤΟΥ DNA	99
3.3.1. ΠΕΡΙΟΧΗ COI	100
3.3.2. ΠΕΡΙΟΧΗ 16S	110
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	117
4.1. Η χρησιμότητα των γενετικών δεικτών COI, 16S και του μικροδορυφορικού DNA στη μελέτη των κρυπτικών ειδών <i>Brachionus</i>	119
4.1.1. Η ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΔΕΙΚΤΗ COI ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΚΡΥΠΤΙΚΩΝ ΕΙΔΩΝ <i>BRACHIONUS</i>	119
4.1.2. Η ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΔΕΙΚΤΗ 16S ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΚΡΥΠΤΙΚΩΝ ΕΙΔΩΝ <i>BRACHIONUS</i>	125
4.1.3. Η ΧΡΗΣΙΜΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΔΟΥΦΟΡΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΚΡΥΠΤΙΚΩΝ ΕΙΔΩΝ <i>BRACHIONUS</i>	130
4.2. Καθορισμός της γενετικής σύστασης πληθυσμών <i>Brachionus</i>	133
4.2.1. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΙ ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ	133
Επίδραση του θρεπτικού μέσου στον ανταγωνισμό μεταξύ διαφορετικών κλώνων <i>Brachionus</i>	134
4.2.2. ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ ΕΚΚΟΛΑΠΤΗΡΙΩΝ	137
Γενετική ταυτοποίηση των μαζικών καλλιεργειών του εκκολαπτηρίου MRS	143
4.2.3. ΦΥΣΙΚΟΙ ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ	146
Μελέτη των πληθυσμών <i>Brachionus</i> της λίμνης Κορώνειας	148
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	154
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	157
6.1. Ελληνική Βιβλιογραφία	157
6.2. Διεθνής Βιβλιογραφία	158
7Α. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	180
7Β. ABSTRACT	185
8. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	189
8.1. Ερωτηματολόγιο που διανεμήθηκε στα εκκολαπτήρια	189
8.2. Γενότυποι δειγμάτων	190
8.2.1. <i>B. PLICATILIS</i> S.S.	190
8.2.2. <i>B. SP. AUSTRIA</i>	192