

Ανάλυση DNA από κελύφη σαλιγκαριών φέρνει στο φως την ύπαρξη ενός νέου ενδημικού γένους στο νησί της Καρπάθου

Νικόλαος Ψώνης

Εργαστήριο Αρχαίου DNA, Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας, Ίδρυμα Τεχνολογίας και Έρευνας

Τον Ιούλιο του 2022 δημοσιεύτηκε στο επιστημονικό περιοδικό *Molecular Phylogenetics and Evolution* ερευνητική εργασία με αντικείμενο την ανάλυση γενετικού υλικού που βρέθηκε σε ιστορικά κελύφη χερσαίων σαλιγκαριών του είδους *Levantina rechingeri*, ενός ενδημικού είδους της Καρπάθου (Psonis et al. 2022, DOI: 10.1016/j.ympev.2022.107561). Η διαδικασία απομόνωσης, εκχύλισης και ανάλυσης DNA πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Αρχαίου DNA (ομάδα Παλαιογονιδιωμιατικής και Εξελικτικής Γενετικής, ΠΕΓ) του Ινστιτούτου Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας του Ίδρυματος Τεχνολογίας και Έρευνας (IMBB-ITE) της Κρήτης, από τον ερευνητή του εργαστηρίου Δρ Νικόλαο Ψώνη, ο οποίος είχε και την αρχική σύλληψη της ιδέας, σε συνεργασία με τη Δρ Κατερίνα Βαρδινγιάννη, έφορο ασπονδύλων του ΜΦΙΚ, και τον Δρ Νίκο Πουλακάκη, Διευθυντή του ΜΦΙΚ, Καθηγητή στο Τμήμα Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης και υπεύθυνο της ομάδας ΠΕΓ του IMBB-ITE.

Κελύφη γαστεροπόδων απαντώνται συχνά στη φύση και είναι άφθονα στις μουσειακές συλλογές. Ωστόσο, παραμένουν ως ένας ανεκμετάλλετος τύπος βιολογικού υλικού για χρήση σε μελέτες DNA, παρά τα εμφανή πλεονεκτήματά τους, ιδιαίτερα όταν ο οργανισμός μελέτης θεωρείται απειλούμενος με εξαφάνιση. Το γενετικό υλικό που απομονώνεται από άδεια κελύφη σαλιγκαριών αναμένεται να είναι κατεστραμμένο, ιδιαίτερα αν ο θάνατος του ζώου συνέβη πολύ παλιά ή/και αν το κέλυφος βρέθηκε σε περιοχή με υψηλή θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η μεταθανάτια φθορά του DNA περιλαμβάνει τόσο τον κατακερματισμό του όσο και αλλαγές στην αλληλουχία του DNA (π.χ. η κυτοσίνη γίνεται ουρακίλη). Χάρη στις νέες τεχνολογίες αλληλούχησης, οι διαδικασίες φθοράς του DNA έχουν μελετηθεί εκτενώς σε θηλαστικά. Στα χερσαία σαλιγκαρία, όμως, δεν υπάρχει προηγούμενο.

Το είδος *Levantina rechingeri* (Fuchs & Käufel, 1936) είναι γνωστό από λίγες μόνο τοποθεσίες στο νησί της Καρπάθου (ευρύτερη περιοχή Καλής Λίμνης) και δεν έχει βρεθεί ποτέ ζωντανό παρά τις επανειλημμένες προσπάθειες των ερευνητών τα τελευταία 40 έτη. Λόγω της περιορισμένης του κατανομής και επειδή μόνο κελύφη έχουν συλλεχθεί μέχρι στιγμής (τα πιο φρέσκα το 2017), το είδος θεωρείται Κρισίμως Κινδυνεύον σύμφωνα με την IUCN. Απουσία μαλακού ιστού (και άρα αναπαραγωγικού συστήματος, βάσει

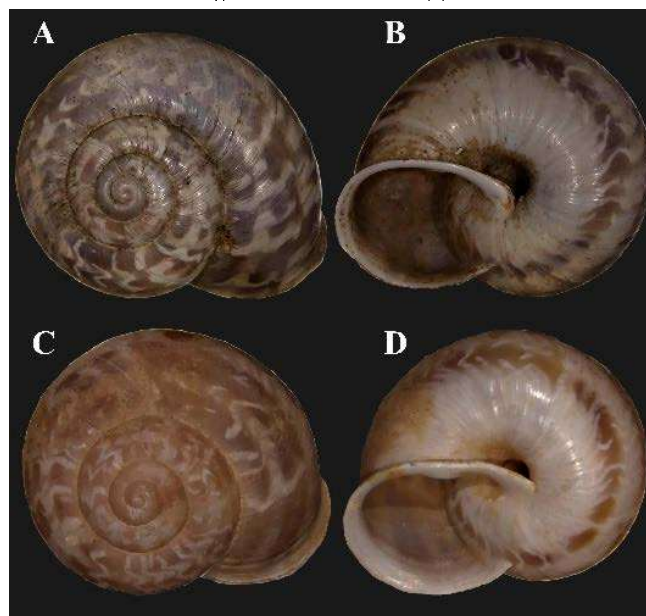
του οποίου γίνεται η αναγνώριση και ταξινόμηση των χερσαίων σαλιγκαριών), η ταξινόμηση του είδους σε επίπεδο γένους βάσει κελυφικών χαρακτήρων είναι ασταθής. Προηγούμενες μελέτες το έχουν εντάξει σε τέσσερα διαφορετικά γένη: *Codringtonia*, *Isaurica*, *Assyriella* και *Levantina*.

Στο πλαίσιο της μελέτης χρησιμοποιήθηκαν κελύφη που προέρχονται από τις συλλογές του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας Κρήτης (ΜΦΙΚ) του Παν/μίου Κρήτης, τα οποία συλλέχθηκαν πριν από περίπου 5 και 30 έτη, αλλά είναι άγνωστο το πότε είχαν πεθάνει τα ζώα (Εικόνα 1).

Χρησιμοποιώντας σύγχρονες προσεγγίσεις και πρωτόκολλα ανάλυσης αρχαίου DNA οι ερευνητές κατάφεραν να ανακτήσουν πολλαπλά γονίδια μιτοχονδριακού και πυρηνικού DNA. Αυτό επέτρεψε τη φυλογενετική σύγκριση του συγκεκριμένου είδους με άλλα συγγενικά είδη, πιο συγκεκριμένα με αντιπροσώπους από όλα τα γένη της ταξινομικής βαθμίδας *Helicini* (Εικόνα 2).

Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι το συγκεκριμένο είδος δεν ανήκει τελικά στο γένος *Levantina*, αφού εντάσσεται σε διαφορετικό κλάδο, πλησιέστερα στα γένη

Εικόνα 1. A-B: Δείγμα ADNA_100125 (συλλογή το 2017), C-D: Δείγμα ADNA_100124 (συλλογή το 1989)

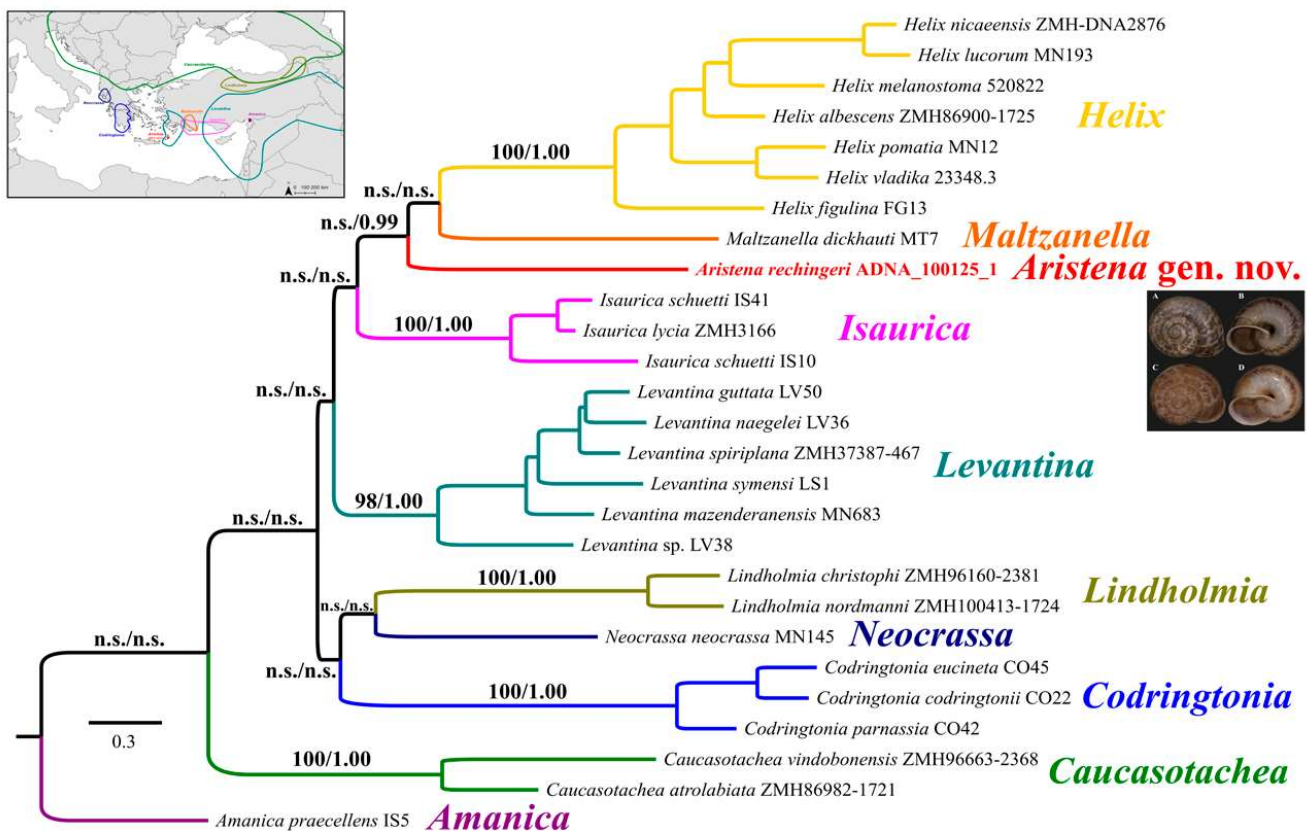


Maltzanella και *Helix*, αλλά ούτε μπορεί να ενταχθεί σε κάποιο άλλο, ήδη περιγεγραμμένο, συγγενικό γένος. Κατά συνέπεια, έπρεπε να δοθεί νέο όνομα γένους για την ορθή περιγραφή της ταξινομικής του κατάστασης. Το νέο όνομα που δόθηκε ήταν το *Aristena* με το είδος πλέον να μετονομάζεται σε *Aristena rechingeri*. Αυτή η ταξινομική αλλαγή έχει ως αποτέλεσμα η Κάρπαθος να αποκτήσει ένα νέο ενδημικό γένος σαλιγκαριών.

Επιπλέον, η ανάλυση των μεταθανάτιων προτύπων κατακερματισμού και τροποποίησης του DNA που προέρχεται από τα κελύφη έδειξε ότι το δριμύ θερμοκρασιακά κλίμα της Ελλάδας μπορεί να επιταχύνει τη διαδικασία υποβάθμισης της ποιότητας του γενετικού υλικού που διατηρείται μετά θάνατον. Οι μετρήσεις αυτές αναμένεται να αποτελέσουν σημείο αναφοράς για αντίστοιχες μελλοντικές μελέτες.

Η ανάλυση DNA από κελύφη χερσαίων σαλιγκαριών αποτελεί έναν νέο, μη επεμβατικό τρόπο αποσαφήνισης της εξελικτικής ιστορίας αυτών των οργανισμών, καθιστώντας τον ιδανικό για τη μελέτη ειδών που είναι δύσκολο να βρεθούν ζωντανά λόγω σπανιότητας, κρυπτικής οικολογίας και στενοενδημισμού, ή για κελύφη που προέρχονται από παλαιές μουσειακές συλλογές και αποτελούν δείγματα αναφοράς.

Αναμένεται οι προσπάθειες εξαγωγής γενετικού υλικού να συνεχιστούν και από άλλα αντίστοιχα είδη σαλιγκαριών της Ελλάδας και της ευρύτερης περιοχής της ανατολικής Μεσογείου, σε μια προσπάθεια να καλυφθούν τα κενά γνώσης, για τα οποία οι συμβατικές προσεγγίσεις ανάλυσης DNA δεν επαρκούν.



Εικόνα 2 Φυλογενετική τοποθέτηση του είδους '*Levantina*' *rechingeri* στο δέντρο των Helicini. Οι αριθμοί στα κλαδιά δηλώνουν τη στατιστική υποστήριξη της τοπολογίας σε επίπεδο σύγκρισης των γενών.