

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ - ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ:

“Η διαφοροποίηση της οικογένειας Enidae (Gastropoda : Pulmonata) στην Κύπρο. Μια συνδυαστική μελέτη κελυφικών χαρακτηριστικών, χαρακτηριστικών του αναπαραγωγικού συστήματος και μοριακής ανάλυσης.”



Υπεύθυνος καθηγητής: Μωυσής Μυλωνάς

Δημητρίου Αντρέας (ΑΜ:1663)

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2012

Ευχαριστίες

Ευχαριστώ τον καθηγητή του Πανεπιστημίου Κρήτης κ. Μωυσή Μυλωνά για την μύηση μου στον χώρο της έρευνας και φυσικά των χερσαίων μαλακίων. Ο θαυμασμός μου στο πρόσωπό του ήδη από το πρώτο έτος ήταν ο παράγοντας που καθόρισε την μετέπειτα πορεία μου στο Πανεπιστήμιο Κρήτης. Τέλος θέλω να τον ευχαριστήσω για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντας μου μια πολύ ενδιαφέρουσα εργασία.

Ιδιαίτερα θέλω να ευχαριστήσω την έφορο του τμήματος Ασπόνδυλων του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας Κρήτης Δρ. Κατερίνα Βαρδινογιάννη για τη βοήθεια της στην περάτωση της εργασίας αυτής καθώς χωρίς αυτήν η εργασία δεν θα υπήρχε ή θα ήτανε κατά πολύ φτωχότερη σε όλους τους τομείς.

Επιπλέον θέλω να ευχαριστήσω την Ελισάβετ Γεωργακοπούλου και τη Μαρία Τζάτζη για την ηθική στήριξη και την πολύτιμη βοήθεια τους στην επίλυση πολλών πρακτικών προβλημάτων που προέκυψαν. Μαζί με την κ. Βαρδινογιάννη η Έλσα και η Μαρία με ενέταξαν στο πραγματικά οικογενειακό κλίμα που επικρατεί στο Εργαστήριο Χερσαίων Μαλακίων και νιώθω τυχερός που είχα την ευκαιρία να δουλέψω μαζί τους κάτω από τέτοιες σπάνιες συνθήκες.

Ευχαριστώ τον επίκουρο καθηγητή του Πανεπιστημίου Κρήτης Νίκο Πουλακάκη για τις συμβουλές του και τη σημαντική συμβολή του για την ολοκλήρωση σημαντικού μέρους της εργασίας αυτής. Επιπλέον θέλω να τον ευχαριστήσω ιδιαίτερα για την βοήθεια του στο υπολογιστικό κομμάτι των μοριακών αναλύσεων.

Θερμά θέλω να ευχαριστήσω τη Δημοπούλου Αγγελική που με καθοδήγησε στα πρώτα μου βήματα στο εργαστήριο Μοριακής συστηματικής και εξέλιξης και ήτανε πάντα δίπλα μου σε ότι χρειάστηκα, πάντα πολύ ευγενική, υπομονετική, βοηθητική και επεξηγηματική. αφιερώνοντας πολύ από τον χρόνο της.

Ακόμα θέλω να ευχαριστήσω τον Ψώνη Νίκο για το πάντα ζωηρό ενδιαφέρον του τις απαραίτητες συμβουλές του την παρέα και την αισιοδοξία που μου ενέπνεε σε πολλά αδιέξοδα.

Την υποψήφια διδάκτορα Καπλή Πασχαλιά θέλω να ευχαριστήσω για τις απαραίτητες συμβουλές και παρεμβάσεις της. Ιδιαίτερα την ευχαριστώ για την βοήθεια στο γραφιστικό κομμάτι επεξεργασίας των αποτελεσμάτων.

Τον Δρ. Α. Τριχά και τη Μίνα Τρικάλη για τις φωτογραφίες και την επεξεργασία τους. Επίσης ευχαριστώ πολύ την Μίνα Τρικάλη για τη βοήθεια της στην εύρεση βιβλιογραφίας.

Ευχαριστήσω τον φίλο μου Αλέξανδρο Βασιλικόπουλο για την πολύτιμη παρέα, συμπαράσταση και στήριξη. Τελος θέλω να ευχαριστήσω τους γονείς μου και τον αδερφό μου για την συνεχή και πολύπλευρη στήριξη.

Περιεχόμενα.

1. Εισαγωγή	6
1.1 Σκοπός της εργασίας	6
1.2 Γεωγραφικά στοιχεία	7
1.3 Γενικά χαρακτηριστικά και ονοματολογία του κελύφους και του αναπαραγωγικού συστήματος των Eridae	7
1.4 Κελυφικά χαρακτηριστικά και χαρακτηριστικά του αναπαραγωγικού συστήματος των γενών της οικογένειας Eridae που αντιπροσωπεύονται στην Κύπρο	9
1.5 Κατανομή (Σύμφωνα με τον A. A. Schileyko, 1998)	12
1.6 Οικολογικές προσαρμογές και επιβίωση σε ξηρό και θερμό περιβάλλον	12
1.7 Ο ρόλος των δοντιών στο άνοιγμα	13
1.8 Ταξινομικά προβλήματα	15
1.9 Μοριακή ανάλυση	17
1.9.1 Συνδυασμένη ή ανεξάρτητα ανάλυση;	17
1.9.2 Μιτοχονδριακό DNA	18
1.9.3 Επιλογή του 16s rRNA	19
1.9.4 Εκτίμηση αποστάσεων νουκλεοτιδικών αλληλουχιών	20
2. Υλικά και Μέθοδοι	22
2.1 Βιβλιογραφική έρευνα	22
2.2 Συλλογή δειγμάτων	22
2.3 Επεξεργασία κελυφικών χαρακτήρων	24
2.4 Επεξεργασία χαρακτήρων του αναπαραγωγικού συστήματος	25

2.5 Μοριακή ανάλυση	29
2.5.1 Εξαγωγή ολικού γενωμικού DNA	30
2.5.2 Πολλαπλασιασμός του γονιδίου στόχου με την διαδικασία της PCR	31
2.5.3 Καθαρισμός – Αλληλούχηση	32
2.5.4 Στοίχιση αλληλουχιών	33
2.5.5 Επιλογή βέλτιστου μοντέλου εξέλιξης	33
2.5.6 Μέθοδοι φυλογενετικής ανάλυσης και στατιστικός έλεγχος των παραγόμενων δέντρων	33
3. Αποτελέσματα	35
3.1 Κελυφος και Αναπαραγωγικό	35
3.1.1 <i>Buliminus carneus</i>	35
3.1.2 <i>Paramastus cyprius</i>	36
3.1.3 <i>Euchondrus ledereri</i>	45
3.1.4 <i>Euchondrus limbodentatus</i>	46
3.1.5 <i>Euchondrus nucifragus</i>	48
3.1.6 <i>Euchondrus parreyssi</i>	51
3.1.7 <i>Euchondrus stylus</i>	56
3.1.8 <i>Bollingeria lamellifera</i>	57
3.1.9 <i>Jaminia loewii</i>	59
3.1.10 <i>Turanena katerinae</i>	61
3.1.11 <i>Zebrina fasciolata</i>	63
3.2 Μοριακές αναλύσεις	65
3.2.1 Υπολογισμός γενετικών αποστάσεων	65

3.2.2 Τοπολογία	66
4. Συζήτηση	69
4.1 <i>Paramastus cyprius</i>	70
4.2 <i>E. limbodentatus</i> Vs. <i>E. nucifragus</i>	70
4.3 <i>E. nucifragus</i> Vs. <i>E. parreyssi</i>	71
4.4 <i>Euchondrus stylus</i>	72
4.5 <i>Bollingeria lamellifera</i>	72
4.6 <i>Turanena katerinae</i>	73
4.7 Συνδιασμός - Συγκλιση – Απόκλιση δεδομένων	73
4.8 Κατανομές	74
5. Συμπεράσματα	75
6. Βιβλιογραφία	76
7. Παραρτήματα	82
7.1 Είδη που αντιπροσωπεύουν την οικογένεια Eridae στην ανατολική μεσόγειο	83
7.2 Συνώνυμα	88
7.3 Το υπόστρωμα στην Κύπρο	93
7.4 Χάρτες κατανομής των Eridae στην Κύπρο	95
7.5 Τα Eridae στην ανατολική μεσόγειο	99

1. Εισαγωγή.

Η παρούσα εργασία άρχισε τον Σεπτέμβριο του 2011 και υλοποιήθηκε στα εργαστήρια Χερσαίων μαλακίων και Μοριακής Συστηματικής & Εξέλιξης του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας Κρήτης. Με την ολοκλήρωση της υποβλήθηκε στο Πανεπιστήμιο Κρήτης. Το θέμα της εργασίας αυτής μου ανατέθηκε από τον καθηγητή του Πανεπιστημίου Κρήτης κ. Μωυσή Μυλωνά . Αρχικά έγινε βιβλιογραφική ανασκόπηση και συγκέντρωση πληροφοριών μέσω επιστημονικών κειμένων και δημοσιεύσεων για όλα τα είδη. Έπειτα πραγματοποιώντας διάφορες μετρήσεις και παρατηρήσεις των κελυφικών χαρακτηριστικών, έγινε μια πρώτη διάκριση των ειδών αυτών ενώ προέκυψαν και κάποιες «προβληματικές» η δυσδιάκριτες μορφές ανάμεσα σε μερικά είδη. Ακολούθως έγιναν ανατομές σε μεγάλο αριθμό ατόμων με σκοπό την παρατήρηση του αναπαραγωγικού συστήματος των διαφόρων ειδών, την καταμέτρηση των επιμέρους παραμέτρων του, τον προσδιορισμό της ενδοειδικής ποικιλοότητας και των πραγματικών δυαειδικών διαφορών μεταξύ των κελυφικά όμοιων ή διαφορετικών ειδών και τον εντοπισμό ή όχι της αναπαραγωγικής απομόνωσης. Μετά και την ολοκλήρωση της αναγνώρισης και της σύγκρισης των αναπαραγωγικών συστημάτων των εξεταζόμενων ειδών πραγματοποιήθηκε εξαγωγή ολικού γενωμικού DNA και έπειτα μετά από μια σειρά διεργασιών έγινε αλληλούχιση μέρους του μιτοχονδριακού γονιδίου 16S rRNA με σκοπό την διερεύνηση των φυλογενετικών σχέσεων ανάμεσα στα είδη που απαρτίζουν την οικογένεια αυτή στην Κύπρο. Επιπλέον από την κατανομή και τις κελυφικές δομές επιχειρείται μια οικολογική προσέγγιση η οποία προσπαθεί να δικαιολογήσει την παρουσία των σχηματισμών αυτών και την κατανομή των ειδών. Σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία (ακολουθώντας την ταξινομική του Schileyko, 1998) η οικογένεια Enidae αντιπροσωπεύεται στην Κύπρο από 7 γένη και 11 είδη εκ των οποίων τα 5 είναι ενδημικά της Κύπρου Τα γένη που αντιπροσωπεύουν την οικογένεια Enidae στην Κύπρο είναι: *Buliminus* (Beck, 1837), *Paramastus* (Hesse, 1933), *Euchondrus* (Böttger, 1883), *Turanena* (Lindholm, 1922), *Jaminia* (Risso, 1826), *Bollingeria* (Forcart, 1940) και *Zebrina* (Held, 1838). Τα είδη *Euchondrus limbodentatus*, *Euchondrus nucifragus*, *Euchondrus parreyssi*, *Euchondrus stylus* και *Paramastus cyprius* είναι σύμφωνα με την βιβλιογραφία, ενδημικά του Κύπρου.

1.1 Σκοπός της εργασίας.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η μελέτη της διαφοροποίησης των χερσαίων μαλακίων της οικογένειας Enidae (Woodward, 1903) καθώς και η αναγνώριση και ο διαχωρισμός των ειδών που αντίπροσωπεύουν την οικογένεια αυτή στην Κύπρο. Στις σελίδες που ακολουθούν γίνεται συγκέντρωση, σύγκριση και σύνθεση πληροφοριών και δεδομένων

που αφορούν κελυφικά χαρακτηριστικά, χαρακτηριστικά του αναπαραγωγικού συστήματος καθώς και μοριακά δεδομένα (αλληλούχιση μέρους του 16S rRNA) με στόχο την όσο το δυνατόν πιο ασφαλή, έμπιστη και εμπειριστατωμένη εξαγωγή συμπερασμάτων. Επιπλέον παρατίθενται χάρτες κατανομών για τα είδη της Κύπρου αλλά και των γύρω περιοχών με βάση τα βιβλιογραφικά στοιχεία.

1.2 Γεωγραφικά στοιχεία.

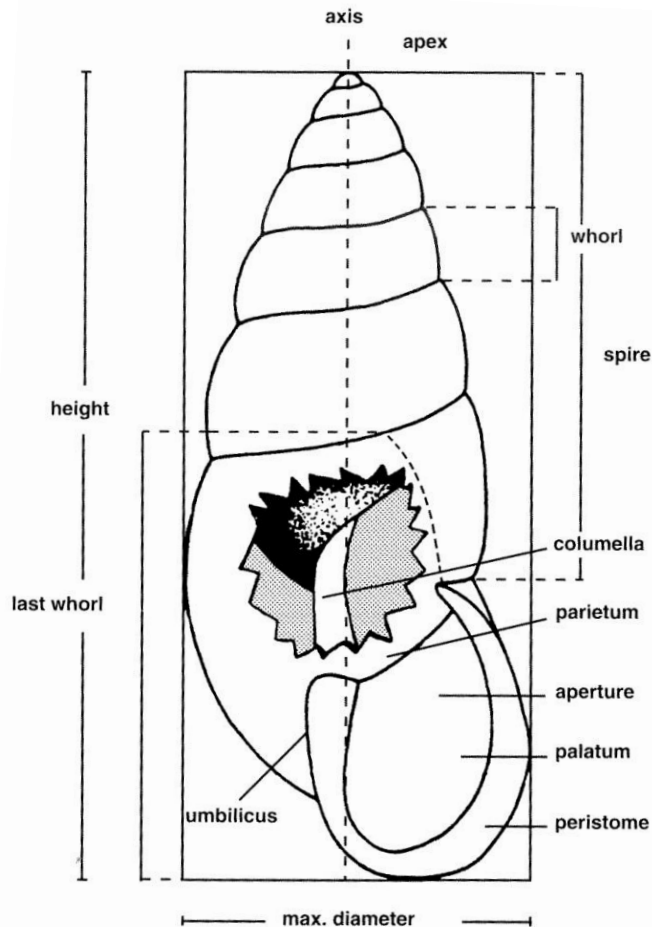
Η Κύπρος γεωγραφικά τοποθετείται μεταξύ των βορείων παραλλήλων 34° και 36° και των ανατολικών μεσημβρινών 32° και 35° και βρίσκεται στην ανατολική μεσόγειο. Στο μεγαλύτερο μήκος της φτάνει τα 240 km, και στο μεγαλύτερο πλάτος τα 100 km. Καλύπτει συνολική έκταση 9251 km². Είναι το 3^ο μεγαλύτερο νησί της μεσογείου τόσο σε πληθυσμό όσο και σε έκταση μετά από την Σικελία και την Σαρδηνία, ενώ είναι το 81^ο μεγαλύτερο νησί στο κόσμο σε έκταση και το 49^ο σε πληθυσμό. Στα ανατολικά της Κύπρου στα 105 km. βρίσκεται η Συρία, στα 108 km. ο Λίβανος και στα 200 km. το Ισραήλ. Στα 380 km. Νοτιοανατολικά βρίσκεται η Αίγυπτος και βορειοδυτικά στα 280 km. Βρίσκεται το πρώτο Ελληνικό νησί το Καστελόριζο, ενώ το αμέσως επόμενο πιο κοντινό Ελληνικό νησί είναι η Ρόδος στα 400 km. Τέλος στα βόρεια περίπου στα km. Βρίσκεται η Τουρκία. Το νησί χαρακτηρίζεται από δύο κύριες οροσειρές την οροσειρά του Τροόδους που βρίσκεται περίπου στο κέντρο του νησιού και η ψηλότερη του κορυφή που ονομάζεται Όλυμπος φτάνει σε υψόμετρο τα 1952 μέτρα, και την οροσειρά του πενταδακτύλου που βρίσκεται στο βόρειο μέρος του νησιού και φτάνει μέχρι τα 1024 μέτρα.

Το κλίμα της Κύπρου είναι μεσογειακό και χαρακτηρίζεται από ήπιους υγρούς χειμώνες και θερμά ξηρά καλοκαίρια.

1.3 Γενικά χαρακτηριστικά και ονοματολογία του κελύφους και του αναπαραγωγικού συστήματος των *Enidae*.

Κελυφος (A. A. Schileyko, 1998):

Ωοειδές, λεπτό, κυλινδρικό κέλυφος. Μπορεί να έχει υπόλευκο, κιτρινωπό, καφέ ή καστανό χρώμα. Απουσία σπιράλ ζωνών με εναλλαγές χρώματος. Σε μερικές περιπτώσεις υπάρχουν ακτινωτές ραβδώσεις οι οποίες σπάνια μπορεί να είναι δίχρωμες. Το άνοιγμα είναι συνήθως απλό, σε μερικές περιπτώσεις όμως μπορεί να φέρει μέχρι και 7 δόντια.

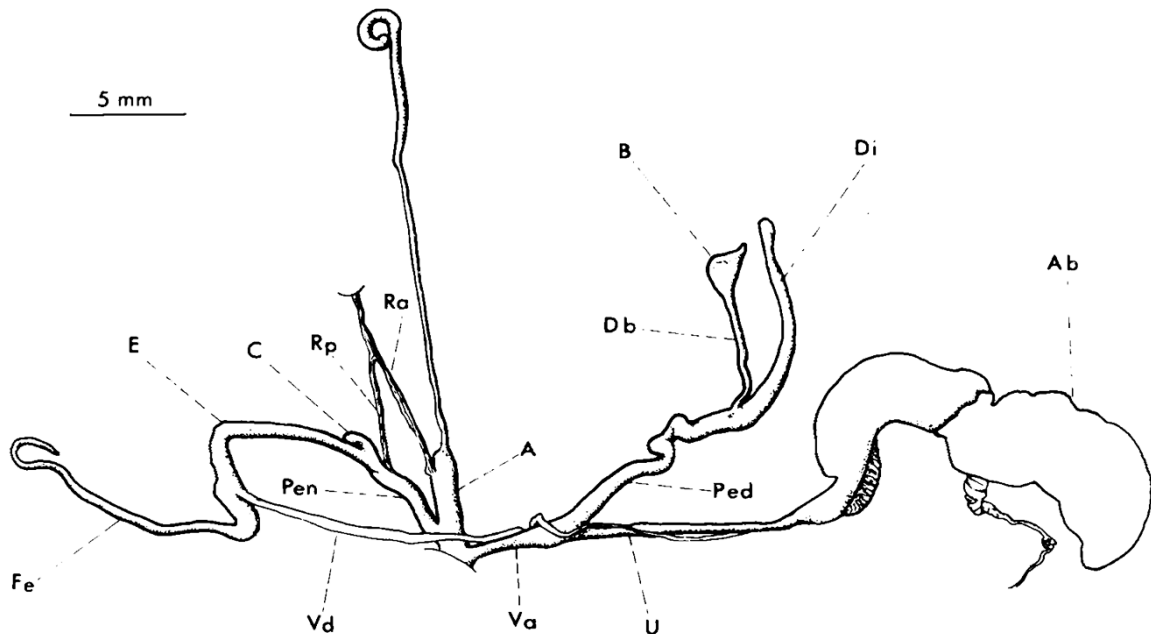


Εικόνα 1.1: Ονοματολογία κελυφικών χαρακτηριστικών και μετρήσεις που πραγματοποιούνται στα κελύφη των πνευμονοφόρων γαστερόποδων (Giusti & Gastagnolo 1982). Axis = άξονας, whorl = σπείρα, height = ύψος, last whorl = τελευταία σπείρα, max diameter = διάμετρος, peristome = Περιστόμιο (εξωτερικό χείλος), columella = στύλος, umbilicus = ομφαλός, aperture = άνοιγμα, parietum = πλευρικό χείλος.

Αναπαραγωγικό σύστημα (A. A. Schileyko, 1998):

Η σπερματοθήκη (vesiculae seminalis) συνήθως διαχωρίζεται από τον ερμαφρόδιτο αγωγό και βρίσκεται περιμετρικά στο εγγύς τμήμα του αγωγού (δεν συμβαίνει στα *Buliminuinae* και *Sprelaeiconchinae*). Συνήθως υπάρχει μαστίγιο, αν απουσιάζει όμως, ο σπερματικός πόρος συνδέεται εξωτερικά με τον επίφαλλο. Ο επίφαλλος, όπου διαμορφώνεται ο σπερματοφόρος, έχει μικρού μήκους τυφλό (caecum). Κατά την γονιμοποίηση δεν συμμετέχει το πέος αλλά το η απόφυση του πέους (appendix). Ο κόλπος δεν είναι πρησμένος και είναι συμπαγές χωρίς χρωστικές ουσίες. Η σπερματοθήκη είναι επίμηκες με "μίσχο" και υπάρχει απόφυση σπερματοθήκης. Οι σπερματοφόροι συνήθως χαρακτηρίζονται από ένα η

δύο (σπάνια κανένα) κύριους σχηματισμούς πολλών κώνων που ενώνονται στην βάση τους σχηματίζοντας αστεροειδή σχήματα (sprurs).



Εικόνα 1.2: Ονοματολογία των οργάνων του αναπαραγωγικού συστήματος των epidae (*Buliminus labrosus* από την Elon στην Γαλιλαία). A = Appendix, B = Σπερματοθήκη, C = Μαστίγιο, Db = Αγωγός σπερματοθήκης, Di = Απόφυση της σπερματοθήκης E = Επίφαλλος, Fe = Επιφαλλικό μαστίγιο (caecum), Ped = Κοινός αγωγός σπερματοθήκης και απόφυσης σπερματοθήκης, Pen= Πέος, Ra = Αποσυρτήρας του appendix, Rp = Αποσυρτήρας του πέους, U = Μήτρα (Uterus), V = κόλπος, Vd = Ελεύθερος αγωγός. (J. Heller, 1975 - Σχήμα 2).

1.4 Κελυφικά χαρακτηριστικά και χαρακτηριστικά του αναπαραγωγικού συστήματος των γενών της οικογένειας Epidae που αντιπροσωπεύονται στην Κύπρο (Σύμφωνα με τον Schileyko, 1998).

Γένος *Buliminus*: Ο σπερματικός πόρος εισέρχεται υπό γωνία στον επίφαλλο. Το πέος διαθέτει κοντή σακουλοειδές εγγύ άκρη ενώ η εσωτερική του επιφάνεια χαρακτηρίζεται από 2 φαρδιές επιμήκης πτυχώσεις. Το κάτω μέρος του πέους συνδέεται με τον συσπειροτήρα του πέους. Το ελεύθερο μέρος της σάλπιγγας είναι κατά πολύ μακρύτερο από τον κόλπο. Η απόφυση της σπερματοθήκης είναι λίγο ή πολύ μπερδεμένη και μακρύτερη από την σπερματοθήκη με τον αγωγό της.

Γένος *Paramastus*: Το μαστίγιο έχει κωνικό σχήμα και είναι κοντό ή πολύ κοντό. Ο επίφαλλος είναι μεσαίου μήκους με μικρό caecum. Η άκρη του πέους είναι σχετικά επίμηκες. Το appendix δεν έχει κάποια δομική ιδιαιτερότητα και είναι προσκολλημένο στο κάτω μέρος του πέους. Το ελεύθερο μέρος της **σάλπιγγας** είναι κάπως μακρύτερο από τον κόλπο. Η απόφυση της σπερματοθήκης είναι μακρύτερη από την σπερματοθήκη με τον αγωγό της.

Γένος *Euchondrus*: Απουσία μαστιγίου, καλοσηματισμένο caecum στον επίφαλλο. Η εσωτερική επιφάνεια του πέους είναι λεία. Το πέος περιέχει ένα κλειστό σφαιρικό χείλος που διατρέχεται από ένα κεντρικό κανάλι. Η εγγύς άκρη του πέους απουσιάζει. Η απόφυση της σπερματοθήκης και η απόφυση του πέους είναι παρών αρχικά αλλά δευτερεύοντος μπορεί να λείπουν.

Γένος *Jaminia* : Η περιγραφή του αναπαραγωγικού είναι η ίδια με αυτήν που αναφέρεται για την υποοικογένεια (Jaminiinae)

Γένος *Bollingeria*: Δυστυχώς δεν βρέθηκε βιβλιογραφική περιγραφή του αναπαραγωγικού συστήματος για το γένος αυτό.

Γένος *Zebrina*: Πολύ κοντό, κωνικό μαστίγιο. Ο επίφαλλος είναι επίσης κοντός και το caecum βρίσκεται κοντά στην είσοδο του σπερματικού πόρου. Το πέος είναι σχετικά μακρύ κυλινδρικό με διάσπαρτα κωνικά πρίσματα. Κατά μήκος του χείλους (verge) υπάρχουν 1 ή 2 αυλάκια. Το appendix του πέους είναι καλοσηματισμένο. Τα άκρα του συσπειροτήρα του πέους ξεπροβάλλουν από το διάφραγμα κοντά το ένα στο άλλο ενώ το άκρο του πέους είναι ενωμένο με το πάνω μέρος του πέους. Το ελεύθερο μέρος της σάλπιγγας είναι μακρύτερο από τον κόλπο. Η σπερματοθήκη είναι κοντή και ευθεία. Η απόφυση της σπερματοθήκης είναι κάπως μακρύτερη και ο μίσχος της σπερματοθήκης (reservoir) είναι σχετικά κοντός.

Γένος *Turanena*: Το μαστίγιο χαρακτηρίζεται ως πολύ κοντό ή κοντό και έχει στρογγυλή η αμβλεία άκρη. Το πέος εσωτερικά δεν είναι καλοσηματισμένο (poorly pronounced), και έχει ακανόνιστο τετράπλευρο V σχήμα.

1.5 Κατανομή των Enidae στον κόσμο (Σύμφωνα με τον A. A. Schileyko, 1998).

Ευρώπη εκτός από βόρειες και βορειοανατολικές περιοχές, Κανάριες νήσοι, Αζόρες, Νησιά του πράσινου ακρωτηρίου, Μικρά Ασία, Αραβία, Καύκασος, κεντρική και νοτιοανατολική Ασία, Ιαπωνία

1.6 Οικολογικές προσαρμογές και επιβίωση σε ξηρό και θερμό περιβάλλον.

Η ικανότητα των σαλιγκαριών να εποικίζουν το χερσαίο περιβάλλον και ιδιαίτερα περιοχές με ψηλές θερμοκρασίες και ξηρασία όπως είναι η Κύπρος και οι γειτονικές της χώρες βασίζεται στην ικανότητα τους να διατηρούν σταθερά επίπεδα νερού, ιόντων και θερμότητας στο σώμα τους ανεξάρτητα από τις περιβαλλοντικές συνθήκες. (Heller, 2009)

Μια προσαρμογή των σαλιγκαριών που εποικίζουν τέτοια ενδιαιτήματα είναι η επιλεκτική δραστηριοποίηση τους μόνο κατά τις εποχές του χρόνου όπου η θερμοκρασία η υγρασία και η επάρκεια νερού είναι ευνοϊκές. Επιπλέον τα σαλιγκάρια μπορούν να επιλέξουν μικροενδιαιτήματα τα οποία διατηρούν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα την υγρασία τους όπως υπόστρωμα με περισσότερες πέτρες απ' ότι χώμα, θάμνους κ.α.

Παρόλα αυτά γενικότερα η αντίσταση στη θερμότητα και την ξηρασία συσχετίζεται άμεσα με τα πρότυπα κατανομής τα οποία καθορίζονται από αβιοτικούς (κλίμα, υπόστρωμα) και βιοτικούς (βλάστηση) περιβαλλοντικούς παράγοντες.

1.7 Ο ρόλος των δοντιών στο άνοιγμα.

Ο αριθμός η μορφολογία ο τύπος και ο τόπος έκφυσης των δοντιών χρησιμοποιήθηκε σαν ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά γνωρίσματα για τον διαχωρισμό των *Euchondrus* της Κύπρου από του διάφορους επιστήμονες που τα προσδιόρισαν ή τα μελέτησαν αργότερα.

Τα είδη με καλά σχηματισμένα δόντια ζούν σε ξηρές, ημίξηρες, υγρές και παροδικά πλημμυρισμένες περιοχές σχεδόν σε όλες τις κλιματικές ζώνες και τις ζώνες βλάστησης οπότε είναι δύσκολο η παρουσία δοντιών να συσχετιστεί με το κλίμα και την βλάστηση. Υπάρχει όμως συσχέτιση στην περιεκτικότητα ασβεστίου στο υπόστρωμα καθώς πολύ λίγα είδη με καλά σχηματισμένα δόντια ζουν σε περιοχές με υπόστρωμα φτωχό σε ασβέστιο (Proschwitz 1993) . Επίσης υπάρχει δυσκολία στον συσχετισμό του μεγέθους του κελύφους και της

ύπαρξης δοντιών ανάμεσα στα διάφορα είδη που φέρουν δόντια. Το μόνο αξιοσημείωτο γεγονός είναι ότι πάνω από ένα συγκεκριμένο μέγεθος (σχετικά μεγάλο) δεν υπάρχουν δόντια (Pokryszko, 1997).

Σύμφωνα με την Pokryszko, (1990) αν και δεν υπάρχει κάποια αρκετά ικανοποιητική εξήγηση για τον λειτουργικό ρόλο των δοντιών φαίνεται ότι η παρουσία τους μειώνει την εξάτμιση καθώς μικραίνει το άνοιγμα του άνοιγματος

Επιπλέον η παρουσία των δοντιών προστατεύει τα σαλιγκάρια από πιθανούς θηρευτές αποτρέποντας τους από το να μπουν στο κέλυφος (Solem 1972,1976).

Ο Shileyko (1984) αναφέρει ότι το collumelaris δόντι ενισχύει την δράση του στυλικού μύ απόσυρσης διευκολύνοντας έτσι τις κινήσεις του ζώου στο κουβάλημα του κελύφους. Το parietalis δόντι κατά την γνώμη του διαχωρίζει την πνευμονική κοιλότητα σε αριστερή και δεξιά οι οποίες έχουν διαφορετικές λειτουργίες. Επίσης ο ρόλος των palatalis δοντιών είναι η προστασία γενικότερα των οργάνων του στοματικού (palatal) συμπλέγματος από την πίεση που ασκούν τα διπλανά όργανα. Επίσης πιστεύεται ότι τα δόντια βοηθούν στην αποβολή της βλέννας όταν το ζώο αποσύρεται στο κέλυφος και η βλέννα που δεν εισάγεται στο κέλυφος φαίνεται ότι βοηθάει στην δημιουργία επιφράγματος.

Η Pokryszko, (1990) αναφέρει επίσης ότι τα δόντια μπορεί να βοηθήσουν στην παγίδευση μιας φυσαλίδας αέρα στο εσωτερικό του κελύφους η οποία ουσιαστικά αποτρέπει την είσοδο νερού και προστατεύει το σαλιγκάρι σε περιπτώσεις πλημμύρας.

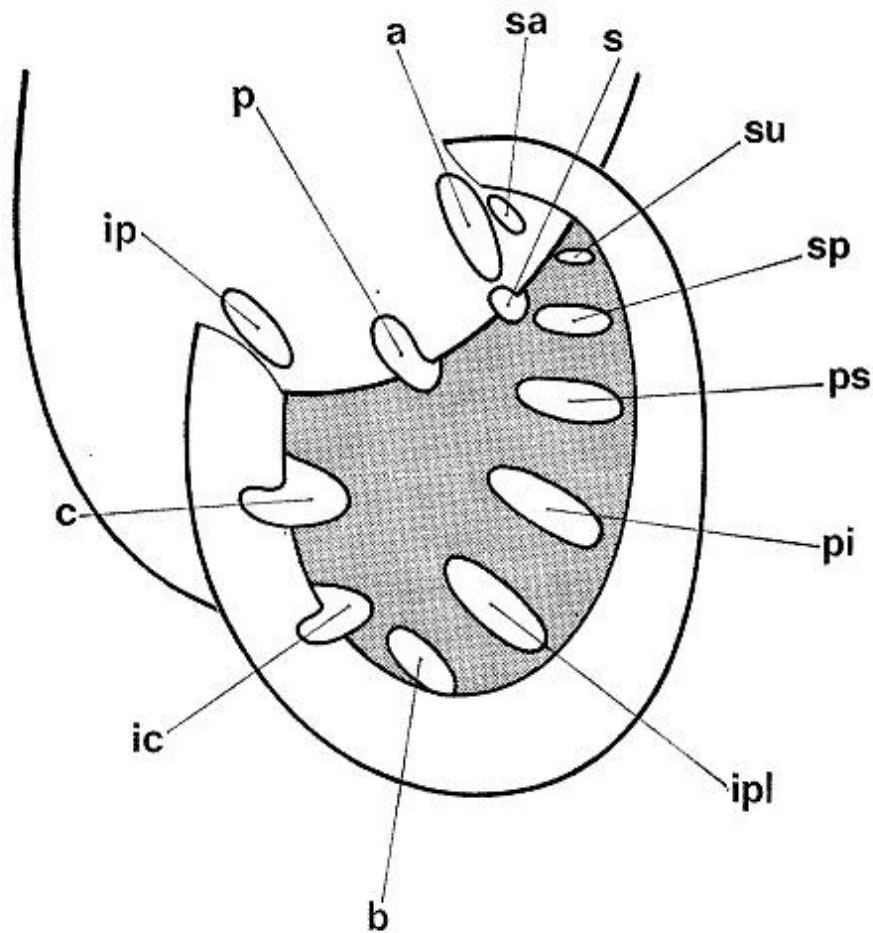
Τα δόντια μπορούν επίσης να ενδυναμώσουν το κέλυφος στην περιοχή όπου εκφύονται ενώ αποτελούν και Επιπλέον σημεία από τα οποία μπορεί να κρατηθεί καλύτερα το επίφραγμα.

Μειονεκτήματα της ύπαρξης των δοντιών:

Πρώτα απ όλα για την κατασκευή των δοντιών υπάρχει περαιτέρω ανάγκη σε ασβέστιο αλλά και μεγαλύτερη ενεργειακή δαπάνη από τον οργανισμό για την κατασκευή των δοντιών. Επιπλέον τα δόντια αυξάνουν το συνολικό βάρος του κελύφους και μειώνουν την ταχύτητα απόσυρσης του σαλιγκαριού μέσα στο κέλυφος (Schileyko, 1984). Επίσης τα δόντια μπορούν να περιορίσουν το μέγεθος των αυγών μερικών ειδών ιδιαίτερα όταν αυτά έχουν σκληρό κέλυφος και δεν μεταβάλλεται εύκολα το σχήμα τους (Pokryszko, 1990). Σίγουρα όλα αυτά που αναφέρθηκαν αποτελούν εξελικτικά μειονεκτήματα για τα σαλιγκάρια που φέρουν δόντια, όμως η λειτουργική προσφορά των δοντιών μπορεί να υπερβαίνει το κόστος των μειονεκτημάτων αυτών.

Το γεγονός ότι τα δόντια προέκυψαν ανεξάρτητα σε τόσα πολλά τάξα (Schileyko 1984, Solem 1972,1976) προϋποθέτει ότι πρέπει να διαδραματίζουν κάποιο σημαντικό ρόλο.

(Pokryszko, 1990). Όμως μέσα στο ίδιο είδος μπορούν να παρατηρηθούν στα πλαίσια της ποικιλομορφίας άτομα με λιγότερα ή λιγότερο καλοσηματισμένα δόντια.



a = Angularis; b = Basalis; c = Columellaris;
 ic = Infracolumellaris; ip = Infraparietalis; ipl = Infrapalatalis; p = Parietalis;
 pi = Palatalis inferior; ps = Palatalis superior; s = Spiralis; sa = Subangularis;
 sp = Suprapalatalis; su = Suturalis.

Εικόνα 1.3: Στο παραπάνω σχήμα φαίνονται όλες οι πιθανές θέσεις έκφυσης δοντιών στο άνοιγμα των σαλιγκαριών και παρατίθεται η ονομασία για το κάθε δόντι ανάλογα με τον σημείο έκφυσης. (Gittenberger, 1978)

1.8 Ταξινομικά προβλήματα.

Με την εισαγωγή των μοριακών δεδομένων στον χώρο της ταξινόμησης προκλήθηκαν πολλές ανακατατάξεις, καθώς σε πολλές περιπτώσεις τα αποτελέσματα των μοριακών

αναλύσεων δεν επιβεβαίωσαν την ήδη υπάρχουσα ταξινόμηση με αποτέλεσμα τον προβληματισμό και την αλλαγή πολλές φορές στην ταξινόμηση η οποία βασιζόταν στα μορφολογικά χαρακτηριστικά ή στην δομή του αναπαραγωγικού συστήματος ή σε συνδυασμό αυτών.

Στην μελέτη τους για τα υπογένη *Naraeinus* και *Naraeus* του γένους *Naraeus* στις Κανάριες νήσους οι Alonso et al (2006) μέσα από τις μοριακές αναλύσεις διέκριναν σαφής διαφορές ανάμεσα στα δύο υπογένη οι οποίες φανερώνουν ότι τα δύο υπογένη δεν είναι μονοφυλετικά παρά το γεγονός ότι μοιράζονται μια σειρά από όμοιους μορφολογικούς χαρακτήρες.

Για την διαφορά αυτή ανάμεσα στα μορφολογικά και τα μοριακά δεδομένα μπορεί να υπάρξουν πολλές εξηγήσεις.

Μια πιθανότητα είναι ότι η προκαταρκτική μοριακή μελέτη, η οποία βασίζεται μόνο ένα μικρό τμήμα DNA από ένα μικρό αριθμό ατόμων, μπορεί να περιέχει ανεπαρκείς φυλογενετικές πληροφορίες για την επίλυση των σχέσεων μεταξύ των διαφορετικών taxa.

Επιπλέον η ανισότητα μεταξύ των μορφολογικών και των μοριακών δεδομένων μπορεί να πηγάζει από την υβριδοποίηση δυο συγγενών εξελικτικά taxa η οποία είτε συνέβηκε στο παρελθόν είτε συμβαίνει ακόμα και σήμερα περιπλέκοντας έτσι την προσπάθεια ταξινόμησης.

Όμως ακόμη και αν αφαιρέσουμε τα μοριακά δεδομένα το αναπαραγωγικό σύστημα και τα κελυφικά γνωρίσματα μπορούν να προκαλέσουν σύγχυση σε πολλές περιπτώσεις. Για παράδειγμα μελετώντας το γένος *Mastus* στην Ελλάδα ο Heller (1976) στηριζόμενος στο κέλυφος και το αναπαραγωγικό σύστημα αναφέρει 2 είδη *Mastus* στην Κρήτη και άλλα 6 στα νησιά του Αιγαίου. Ο Bank (1997) δουλεύοντας με τα *Mastus* στο Αιγαίο στηριζόμενος μόνο σε κελυφικούς χαρακτήρες αυξάνει τα είδη από 6 σε 15. Η Βαρδινογιάννη (1994) στην διδακτορική της διατριβή επίσης στηριζόμενη στο κέλυφος αναφέρει 4 είδη και 6 ενδιάμεσες κελυφικά μορφές στην Κρήτη. Τέλος ο Massen (1995), στηριζόμενος στο αναπαραγωγικό σύστημα και το σπερματοφόρο αναφέρει 14 είδη στην Κρήτη. Ο Παρμακέλλης, 2003 αναφέρει ότι τα *Mastus* της κρήτης διαφοροποιούνται περίπου σε 10 ομάδες ανάλογα με τα μοριακά ή μορφολογικά δεδομένα όμως οι ίδιοι πλυθισμοί μπορούν να ανήκουν σε διαφορετικές ομάδες ανάλογα με το αν χρησιμοποιούμε μεμονομένα τα μοριακά ή μορφολογικά δεδομένα.

Από τα πιο πάνω παραδείγματα γίνεται σαφές ότι και η οικογένεια των Eridae αντιμετωπίζει πολλά ταξινομικά προβλήματα καθώς τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του κελύφους, τα χαρακτηριστικά του αναπαραγωγικού συστήματος αλλά και τα μοριακά δεδομένα δεν συμφωνούν πάντα μεταξύ τους προκαλώντας σύγχυση και απαιτούν περισσότερη σκέψη πριν την ταξινόμηση των ειδών.

1.9 Μοριακή ανάλυση.

Η καλύτερη προσέγγιση της διαφοροποίησης απαιτεί όσο το δυνατό μεγαλύτερο όγκο δεδομένων από τα οποία θα εξαχθούν σημαντικές πληροφορίες. Μετά την εξέταση των διάφορων μορφολογικών παραμέτρων όπως είναι η κελυφική διαφοροποίηση και η διαφοροποίηση του αναπαραγωγικού συστήματος επιχειρείται η εξέταση της διαφοροποίησης σε επίπεδο μιτοχονδριακού γονιδιώματος μέσω της αλληλούχισης ενός τμήματος της μεγάλης ριβοσωμικής υπομονάδας του μιτοχονδρίου (16s rRNA). Η αλληλούχιση του συγκεκριμένου γονιδίου μας παρέχει χρήσιμες πληροφορίες για την προσέγγιση των φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ των πληθυσμών που απαρτίζουν την οικογένεια Epidae στην Κύπρο αλλά και την δυνατότητα να συνδυάσουμε μεταξύ τους τα μορφολογικά, ανατομικά και γενετικά δεδομένα με σκοπό την καλύτερη δυνατή προσέγγιση της διαφοροποίησης.

Σύμφωνα με τους (Michel-Salzat & Bouchon 2000) η σύγκριση τμήματος ή ολόκληρης της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας αποτελεί ένα χρήσιμο εργαλείο για την διερεύνηση των φυλογενετικών σχέσεων που διέπουν τα τάξα.

1.9.1 Συνδυασμένη ή ανεξάρτητα ανάλυση;

Σε πολλές μελέτες υπάρχει η περίπτωση να είναι διαθέσιμα στα χέρια του ερευνητή περισσότερα από ένα σετ δεδομένων είτε από προηγούμενες μελέτες είτε επειδή ο ίδιος ο ερευνητής θέλει να προσεγγίσει με διαφορετικό τρόπο/μέθοδο το ίδιο θέμα. Ο πλουραλισμός και η σωστή διαχείριση των δεδομένων απασχόλησαν αρκετά τους επιστήμονες. Είναι χαρακτηριστικό ότι όλες οι πιθανές λύσεις στον προβληματισμό αυτό βρίσκουν υποστηρικτές. Ο Kluge (1989) υποστηρίζει το συνδυασμό των δεδομένων ανεξαρτήτως από την φύση τους (μοριακά, μορφολογικά κ.τ.λ). Στον αντίποδα οι Miyamoto & Fitch (1995) θεωρούν ότι τα δεδομένα πρέπει να αντιμετωπίζονται ξεχωριστά και τα προκύπτοντα δέντρα να συνδυάζονται προς δέντρα συναποδοχής (consensus trees). Τέλος μπορεί να γίνει και συνδυασμός των δεδομένων κατά περίπτωση (conditional combination), σύμφωνα με την οποία τα δεδομένα πρέπει να συνδυάζονται εκτός και αν το καθένα υποστηρίζει διαφορετικό εξελικτικό σενάριο (Παρμακέλλης 2003). Όλες οι παραπάνω προσεγγίσεις έχουν τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα τους (Huelsenbeck et al., 1996) οπότε η επιλογή εναπόκειται στην κρίση του

ερευνητή αν και είναι γενικά αποδεκτό ότι η επιβεβαίωση ενός σεναρίου από διαφορετικά σετ δεδομένων το ισχυροποιούν και δεν αφήνουν πολλά περιθώρια αμφισβήτησης.

1.9.2 Μιτοχονδριακό DNA.

Το mtDNA χρησιμοποιείται εκτεταμένα σε μελέτες που αφορούν την δομή πληθυσμών και την γονιδιακή ροή, τον υβριδισμό, την βιογεωγραφία και τις φυλογενετικές σχέσεις (Moritz et al. 1987, Avise 1994). Το 70% των φυλογεωγραφικών μελετών στηρίζονται στο μιτοχονδριακό γονιδίωμα (Avise 2000). Στην παρούσα εργασία για την διαλεύκανση των φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ των *Epidae* της Κύπρου χρησιμοποιείται επίσης ένας γενετικός τύπος που προέρχεται από το μιτοχόνδριο (μιτοχονδριακό γονίδιο το 16s rDNA).

Μια σειρά χαρακτηριστικών και ιδιαιτεροτήτων του mtDNA το καθιστούν δημοφιλές εργαλείο στην διερεύνηση γενετικών ενδοειδικών και δυαιδικών διαφορών. Τα χαρακτηριστικά αυτά είναι τα εξής:

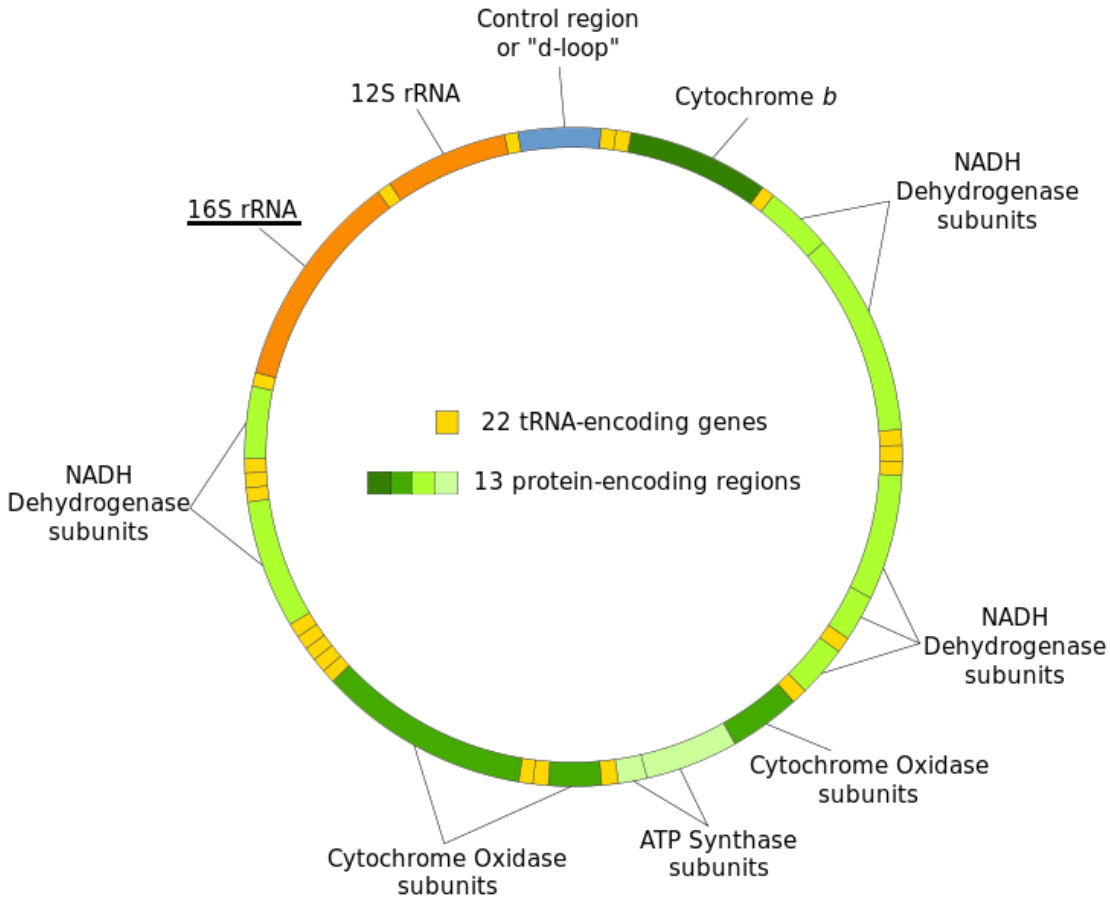
- Μεγάλος αριθμός αντιγράφων mtDNA (εκατοντάδες έως χιλιάδες) σε κάθε κύτταρο σε αντίθεση με το πυρηνικό DNA που βρίσκεται σε ένα αντίγραφο στους απλοειδείς οργανισμούς και δύο στους διπλοειδείς οργανισμούς (Futuyama 1991).
- Το mtDNA είναι καλά χαρακτηρισμένο σε σχέση με το πυρηνικό. Το μέγεθός του κυμαίνεται από 16000 – 20000 bp (Brown 1983, Moritz et al. 1987) και σε όλα τα πολυκύτταρα ζώα καθώς και σε μερικά πρωτόζωα που έχουν μελετηθεί αποτελείται από 37 γονίδια (22 γονίδια μεταφορικών RNA – tRNA, 13 πρωτεϊνικά γονίδια, 2 ριβοσωμικά RNA – rRNA, και την περιοχή ελέγχου αντιγραφής του DNA και μετάφρασης του RNA - D-loop) (Avise et al. 1987).
- Κληρονομείται μόνο από την μητέρα στους απογόνους, εκτός από λίγες εξαιρέσεις (π.χ μύδια). Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι μόνο ένας τύπος μιτοχονδρίου είναι παρών σε κάθε άτομο και αυτός είναι όμοιος με της μητέρας του και οι πιθανές διαφορές που παρατηρούνται είναι αποτέλεσμα μεταλλαγών αφού πέρα από μερικές εξαιρέσεις (Zouros et al. 1994, Ladoukakis & Zouros 2001) δεν πραγματοποιούνται ανασυνδυασμοί στο μιτοχονδριακό γονιδίωμα όπως στο πυρηνικό (Hagelberg 1994).
- Είναι απλοειδές.
- Έχει απλή γενετική δομή.
- Δεν χαρακτηρίζεται από μεταθετά στοιχεία, ψευδογονίδια, ιντρόνια και επαναληπτικό DNA όπως συμβαίνει στο πυρηνικό (Avise et al. 1987).

- Γρήγορος ρυθμός εξέλιξης. Το mtDNA φαίνεται να εξελίσσεται 5 -10 φορές ταχύτερα από το πυρηνικό μη επαναλαμβανόμενο DNA (Brown et al. 1979, 1982). Από διάφορες μελέτες κυρίως σε θηλαστικά, βρέθηκε ότι ο μέσος ρυθμός απόκλισης του mtDNA είναι 2% αν ένα εκατομμύριο χρόνια (Wilson et al. 1985). Μεγαλύτερος ρυθμός νουκλεοτιδικών αντικαταστάσεων παρατηρείται σε θέσεις σιωπηλών αντικαταστάσεων μέσα σε κωδικοποιούσες περιοχές, στις διαγονιδιακές αλληλουχίες και στην ρυθμιστική περιοχή, ενώ χαμηλότερος ρυθμός αντικαταστάσεων παρατηρούνται στα γονίδια tRNA, rRNA και σε κωδικοποιούσες περιοχές οι οποίες βρίσκονται κάτω από υψηλή εξελικτική πίεση (Moritz et al.1987). Σε κάθε περίπτωση όμως ο ρυθμός αντικαταστάσεων μειώνεται πάνω από ένα ποσοστό διαφοροποίησης (Moritz et al.1987).

1.9.3 Επιλογή του 16s rRNA.

Στην αναζήτηση ενός δείκτη που θα είναι ικανός να επιλύσει τις φυλογενετικές διαφορές ανάμεσα στα διαφορετικά είδη αλλά και ανάμεσα σε άτομα του ίδιου είδους που απαρτίζουν την οικογένεια Epidae στην Κύπρο επιλέχθηκε το μιτοχονδριακό γονίδιο 16s rRNA. Το συγκεκριμένο γονίδιο είναι από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα σε φυλογενετικές αναλύσεις γονίδια, ανεξάρτητα από ζωική ομάδα ή ταξινομική βαθμίδα, κυρίως γιατί φέρει περιοχές που εξελίσσονται ταχύτατα και εξυπηρετεί την διερεύνηση των φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ πρόσφατα διαχωρισμένων ειδών, αλλά παράλληλα φέρει περιοχές αρκετά συντηρημένες που εξυπηρετούν στη διερεύνηση σχέσεων μεταξύ ταξινομικών μονάδων που έχουν διαχωριστεί εδώ και 200 εκ. χρόνια (Desalle, 1987, 1992).

Τα ριβοσωμικά γονίδια παρά το ότι απαντώνται σε πολλά αντίγραφα, θεωρείται ότι συνήθως ακολουθούν εναρμονισμένη εξέλιξη (concerted evolution) και ουσιαστικά όλα τα αντίγραφα έχουν την ίδια αλληλουχία (Graur & Li, 1999; Zhang & Hewitt, 2003), χωρίς αυτό να σημαίνει ότι δεν υπάρχουν περιπτώσεις όπου έχει καταγραφεί μη εναρμονισμένη εξέλιξη στις rDNA αλληλουχίες (Culver et al., 2001). Η ευρεία χρήση των ριβοσωμικών γονιδίων σε εξελικτικές μελέτες αποδίδεται και στο γεγονός ότι διαθέτουν μια σειρά από ελκυστικά γνωρίσματα, όπως είναι η δευτεροταγής δομή τους, οι διαφορετικοί ρυθμοί εξέλιξης των περιοχών τους και ο τυχαίος αριθμός επαναλήψεών τους (Gebri, 1985) που εξυπηρετούν στην αντιμετώπιση διαφόρων ερωτημάτων εξελικτικής υφής.



Εικόνα 1.4 : Μιτοχονδριακό γονιδίωμα. (www.wikipedia.org)

1.9.4 Εκτίμηση αποστάσεων νουκλεοτιδικών αλληλουχιών.

Έχοντας πάρει κάποιες αλληλουχίες ο πρώτος έλεγχος που μπορεί να κάνει κανείς είναι να τις ευθυγραμμίσει με την χρήση διαφόρων υπολογιστικών προγραμμάτων έτσι ώστε να υπάρχει όσο το δυνατόν μεγαλύτερη ταύτιση ανάμεσα στις συγκρινόμενες αλληλουχίες. Μετρώντας τον αριθμό των νουκλεοτιδικών θέσεων στις οποίες διαφέρουν δύο αλληλουχίες υπολογίζεται η γενετική απόσταση (p – distance) ή η γενετική ποικιλότητα (p –genetic diversity) ανάμεσα στις δύο αλληλουχίες. Για αλληλουχίες οι οποίες διαφέρουν κατά πολύ μεταξύ τους, υπάρχει ο κίνδυνος υποεκτίμησης της γενετικής απόστασης καθώς όσο αυξάνει ο βαθμός διαφοροποίησης, αυξάνει και η πιθανότητα μια συγκεκριμένη νουκλεοτιδική θέση να έχει υποστεί πολλαπλές αλλαγές επαναφέροντας την συγκεκριμένη θέση στην αρχική της κατάσταση αποκρύπτοντας με αυτό τον τρόπο μεγάλο βαθμό διαφοροποίησης ανάμεσα στις υπό εξέταση αλληλουχίες (Nei & Kumar, 2000). Θεωρώντας δεδομένο ότι οι παρατηρούμενες αποστάσεις μεταξύ των αλληλουχιών υποεκτιμούν τον βαθμό διαφοροποίησης μεταξύ των

αλληλουχιών έχουν αναπτυχθεί πολλές μέθοδοι, οι οποίες αποσκοπούν στην διόρθωση των παρατηρούμενων αποστάσεων εκτιμώντας το ποσοστό της γενετικής διαφοροποίησης που έχει καλυφθεί λόγω πολλαπλών αλλαγών σε μια νουκλεοτιδική θέση (Page & Holmes, 1998). Όλες αυτές οι μέθοδοι έχουν σαν δεδομένες μερικές κοινές εκδοχές οι οποίες λένε ότι : α) Όλες οι νουκλεοτιδικές θέσεις αλλάζουν ανεξάρτητα η μία από την άλλη, β) Ο ρυθμός υποκατάστασης είναι σταθερός μέσα στο χρόνο και σε όλες τις γενεαλογικές γραμμές, γ) Η συχνότητα των νουκλεοτιδίων είναι σε ισορροπία, δ) Ο ρυθμός υποκατάστασης σε μια νουκλεοτιδική θέση είναι ο ίδιος για όλες τις νουκλεοτιδικές θέσεις και δεν αλλάζει με το χρόνο.

Οι εκδοχές αυτές όμως δεν μπορούν να είναι καθολικές για όλους τους γενετικούς τύπους και σίγουρα σε πολλές περιπτώσεις δεν ανταποκρίνονται στην πραγματικότητα. Για παράδειγμα η πρώτη εκδοχή αμφισβητείται στην περίπτωση των ριβοσωμικών γονιδίων καθώς το μεταγραφόμενο RNA αναδιπλώνεται στο χώρο παίρνοντας μια συγκεκριμένη μορφή που χαρακτηρίζεται από «στελέχη» και «θηλιές» με τα στελέχη να διατηρούν τη σταθερότητα τους με ζεύγη βάσεων. Η αλλαγή μιας βάσης σε ένα στέλεχος, μπορεί να οδηγήσει σε αποσταθεροποίηση της αναδίπλωσης και να προκαλέσει μια επιπλέον αλλαγή, σε ένα άλλο σχετικά μακρινό μέρος της αλληλουχίας, που σαν στόχο θα έχει να αποκαταστήσει το ζευγάρι των βάσεων (συμπληρωματική αλλαγή, compensatory change), (Page & Holmes, 1998). Επιπλέον στατιστικές αναλύσεις του ρυθμού υποκατάστασης σε διάφορες νουκλεοτιδικές θέσεις έδειξαν ότι ο ρυθμός ποικίλει και ακολουθεί την κατανομή γάμμα (Yang, 1996). Επίσης, η παραδοχή της όμοιας νουκλεοτιδικής σύστασης όλων των μελετούμενων αλληλουχιών, επίσης παραβιάζεται πολύ συχνά και οδηγεί σε λανθασμένα φυλογενετικά συμπεράσματα όπως έχει ήδη παρατηρηθεί (Galtier & Gouy, 1995).

Για την αντιμετώπιση των πιο πάνω προβλημάτων έχει αναπτυχθεί μια σειρά από μοντέλα(π.χ. Tamura-Nei, Kimura-2-parameter, General Time Reversible models).

2. Υλικά και Μέθοδοι.

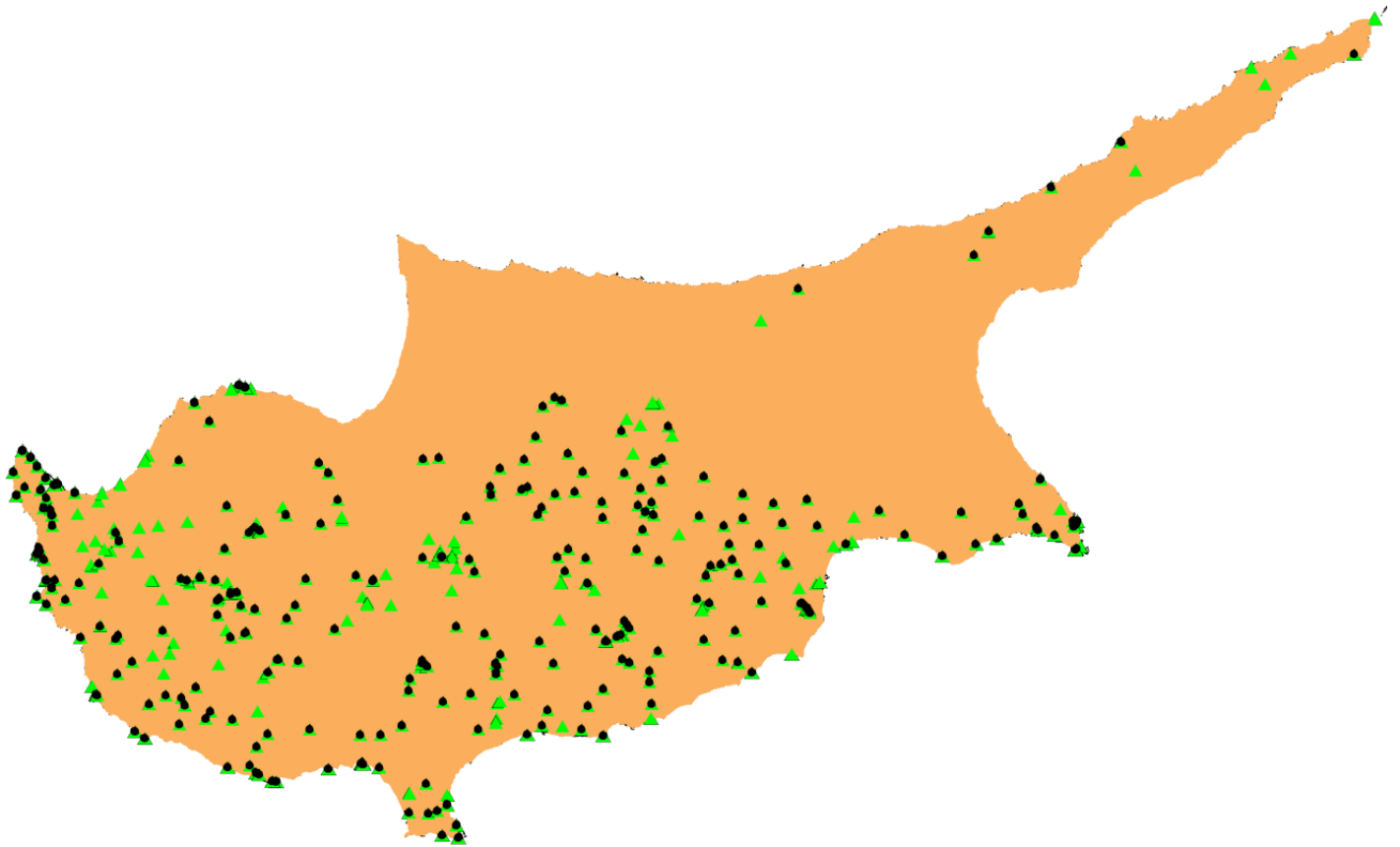
2.1 Βιβλιογραφική έρευνα.

Αρχικά επιχειρείται μια έρευνα στην υπάρχουσα βιβλιογραφία ώστε να συγκεντρωθούν όσο το δυνατόν περισσότερες πληροφορίες για αυτή την οικογένεια χερσαίων μαλακίων οι οποίες θα μας βοηθήσουν να κατανοήσουμε την υπάρχουσα ταξινομική. Οι πληροφορίες που αναφέρονται πιο πάνω για το αναπαραγωγικό σύστημα τα κελυφικά χαρακτηριστικά αλλά και την ταξινομική προέκυψαν κυρίως από την βιβλιογραφική έρευνα

2.2 Συλλογή δειγμάτων.

Το υλικό που μελετήθηκε στους χώρους του Μουσείο Φυσικής Ιστορίας Κρήτης (Μ.Φ.Ι.Κ.) συλλέχθηκε μετά από δειγματοληψίες που πραγματοποίησε το Μ.Φ.Ι.Κ. στα πλαίσια των προγραμμάτων «Μελέτη των χερσαίων σαλιγκαριών στις περιοχές NATURA 2000 της Κύπρου» (2004 -2007) και «Μελέτη των χερσαίων μαλακίων της Κύπρου» (2011) και στα πλαίσια εκδρομής του Μ.Φ.Ι.Κ. στην Κύπρο το 2000. Οι δειγματοληψίες καλύπτουν ένα πολύ μεγάλο μέρος του νησιού, κυρίως της ελεύθερης Κύπρου καθώς οι δειγματοληψίες από το παρανόμως τουρκοκρατούμενο μέρος του νησιού από το 1974 είναι πολύ λίγες.

Συνολικά πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες σε 411 σταθμούς από τους οποίους στους 297 συλλέχθηκαν τουλάχιστον ένα άτομο (κέλυφος ή ζωντανό) ενός είδους της οικογένειας Epidae. Οι χώροι που πραγματοποιήθηκαν οι δειγματοληψίες φαίνονται στον παρακάτω (χάρτης χάρτης 1).



Χάρτης 1: Με πράσινο τρίγωνο συμβολίζονται όλες οι περιοχές όπου πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες και με μαύρη κουκίδα οι περιοχές όπου κατά τη δειγματοληψία και βρέθηκαν Eridae.

Στη εργασία αυτή ακολουθήθηκε η ταξινόμηση του Schileyko (1998). Η μελέτη των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Ασπονδύλων του Μ.Φ.Ι.Κ. με την βοήθεια της υπάρχουσας βιβλιογραφίας, των εγκαταστάσεων του εργαστηρίου και την επίβλεψη – βοήθεια της Δρ. Κ. Βαρδινογιάννη της Ε. Γεωργοπούλου και της Μ. Τζάτζη.

Συνολικά μετρήθηκαν 334 κελύφη και πραγματοποιήθηκαν 80 ανατομές. Οι 9 ανήκουν σε ανώριμα άτομα και ήταν δύσκολο να παρατηρηθούν μερικά ή όλα τα χαρακτηριστικά του αναπαραγωγικού συστήματος. Επίσης λήφθηκε κομμάτι ιστού από 27 άτομα για την αλληλούχιση μέρους του 16S rRNA.

Πίνακας 2.1: Αριθμός Μελετημένων ατόμων ανά είδος.

Είδος	Αριθμός ατόμων		
	Κελύφη	Ανατομές	Αλληλούχιση 16S rRNA
<i>Buliminus carneus</i>	0	0	0
<i>Paramastus cyprius</i>	30	25	5
<i>Euchondrus ledereri</i>	0	0	0
<i>Euchondrus limbodentatus</i>	40	5	4
<i>Euchondrus nucifragus</i>	65	16	5
<i>Euchondrus parreyssi</i>	79	19	5
<i>Euchondrus stylus</i>	45	12	4
<i>Bollingeria lamellifera</i>	0	0	0
<i>Jaminia loewii</i>	0	0	0
<i>Turanena katerinae</i>	52	2	0
<i>Zebrina fasciolata</i>	23	1	2
<i>Paramastus cyprius</i> (Από Ισραήλ)			2
Σύνολο	334	80	27

Οι φωτογραφίες των κελυφών λήφθηκαν με την βοήθεια του Δρ. Α. Τριχά και της κας Μίνας Τρικάλη. Για την δημιουργία των χαρτών εργάστηκε η Δρ. Κ. Βαρδινογιάννη χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα ArcMap σε συνδιασμό με δεδομένα από την βάση δεδομένων του Μ.Φ.Ι.Κ. που βρίσκονται καταχωρημένα σε Microsoft office Access 2007.

2.3 Επεξεργασία κελυφικών χαρακτήρων.

Αρχικά έγινε η επεξεργασία των κελυφικών χαρακτηριστικών όπου μετρήθηκαν συγκεκριμένοι χαρακτήρες από κάθε είδος οι οποίοι σε κάποιες περιπτώσεις είναι διακριτοί και προσδιορίζουν τις διαφορές ανάμεσα στα διαφορετικά είδη ενώ σε άλλες όχι.

Πίνακας 2.2: Κελυφικές παράμετροι που μετρήθηκαν ή παρατηρήθηκαν στα κελύφη

Χαρακτήρες	
Ποσοτικοί	Ποιοτικοί
Υψος κελύφους(SH)	Σχήμα κελύφους
Διάμετρος κελύφους.....(SD)	Χρωματισμός
Υψος περιστομίου(MH)	Ανάγλυφο
Διάμετρος περιστομίου.....(MD)	Σχήμα ομφαλού
Αριθμός σπειρών.....(W)	Κλήση ραφών
Μήκος τελευταίας σπείρας(W1)	Σχήμα περιστομίου & χείλους
Μήκος προτελευταίας σπείρας....(W2)	Πάχος περιστομίου & χείλους
	Παρουσία δοντιών στο στόμιο
	Χρώμα περιστομίου και χείλους

2.4 Επεξεργασία χαρακτήρων του αναπαραγωγικού συστήματος.

Στη συνέχεια μελετήθηκε η δομή του αναπαραγωγικού συστήματος η οποία ήτανε διακριτή ανάμεσα στα διαφορετικά γένη. Για τα είδη όμως των γενών *Euchondrus*, *Paramastus* και *Turanena* πραγματοποιήθηκαν και οι απόλυτες μετρήσεις μερικών παραμέτρων με την βοήθεια του προγράμματος Image J αφού πρώτα προηγήθηκαν οι απαραίτητες φωτογραφήσεις των ανατομών. Οι φωτογραφήσεις έγιναν με την βοήθεια φωτογραφικής μηχανής τύπου JVC Color video camera (digital ½ inch CCD) η οποία ήταν ειδικά προσαρμοσμένη σε στερεοσκόπιο τύπου Leica MZ6. Σε όλες τις φωτογραφίες που ακολουθούν υπάρχει κλίμακα 1 mm.

Ποιοτικοί χαρακτήρες που παρατηρήθηκαν στις ανατομές του αναπαραγωγικού συστήματος

- Σημείο έκφυσης μυών.
- Σημείο πρόσφυσης μυών.
- Σημείο έκφυσης caecum.
- Σχήμα, σχηματισμός caecum
- Παρουσία, απουσία και μορφή μαστιγίου.

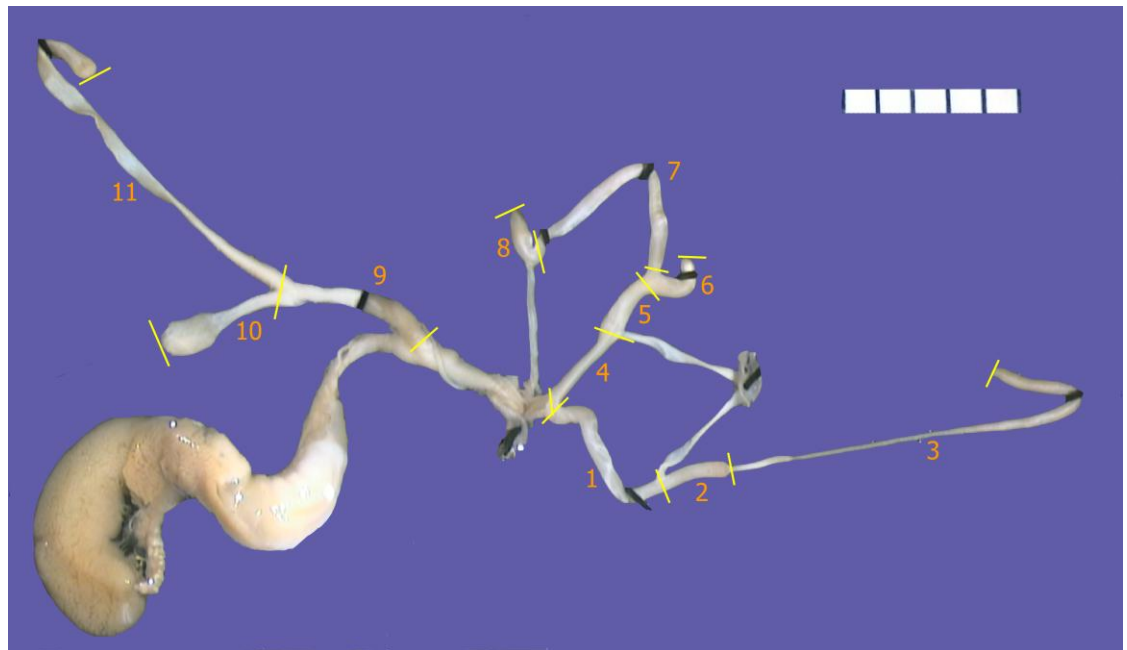
Ποσοτικοί χαρακτήρες που μετρήθηκαν:

Για τα *Paramastus* μετρήθηκαν επίσης τα απόλυτα μεγέθη για τις αποστάσεις:

1. Αρχή απόφυσης πέους μέχρι το σημείο έκφυσης του μύ.
2. Από το σημείο έκφυσης του μυ της απόφυσης πέους μέχρι το τέλος του πιο χοντρού τμήματος (δηλαδή μέχρι το σημείο όπου η διάμετρος του αγωγού αλλάζει σημαντικά
3. Από την αρχή του λεπτού μέρους της απόφυσης του πέους μέχρι το τέλος.
4. Μήκος πέους μέχρι το σημείο έκφυσης του μύ.
5. Μήκος πέους από το σημείο έκφυσης του μυ μέχρι την αρχή του επίφαλου.
6. Μήκος Caecum
7. Μήκος Επίφαλλου μέχρι το σημείο έκφυσης του μαστιγίου
8. Μήκος μαστιγίου.
9. Από το σημείο έκφυσης του αγωγού του λευκωματογόνου αδένα μέχρι τον χώρο έκφυσης του αγωγού της σπερματοθήκης (Μήκος κοινού αγωγού σπερματοθήκης και απόφυσης σπερματοθήκης).
10. Μήκος σπερματοθήκης (με τον μίσχο).
11. Μήκος απόφυσης σπερματοθήκης.

Έπειτα υπολογίστηκαν οι λόγοι:

- 1/2
- 1/3
- 2/3
- (2+3)/1
- 4/5
- (4+5)/6
- (4+5)/7
- 6/8
- 8/7
- 10/9
- 11/9
- 11/10



Εικόνα 2.1: Το αναπαραγωγικό σύστημα του *Paramastus cyprius*, από τον φράκτη Ξυλιάτη, με τις παραμέτρους που μετρήθηκαν.

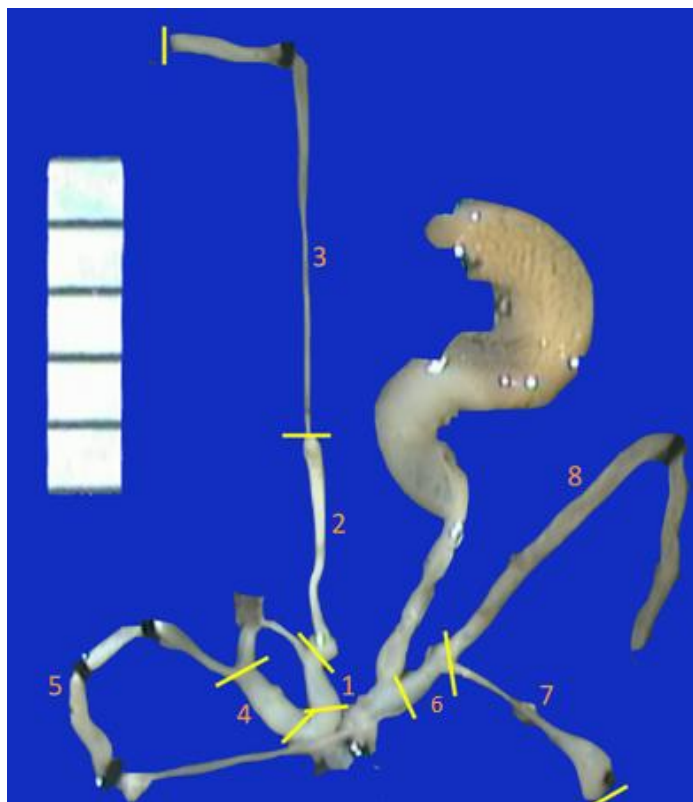
Για τα *Euchondrus* μετρήθηκαν επίσης τα απόλυτα μεγέθη για τις αποστάσεις:

1. Αρχή απόφυσης πέους μέχρι τον σημείο έκφυσης του μυ.
2. Από το σημείο έκφυσης του μυ της απόφυσης πέους μέχρι το τέλος του πιο χοντρού τμήματος (δηλαδή μέχρι το σημείο όπου η διάμετρος του αγωγού αλλάζει σημαντικά
3. Από την αρχή του λεπτού μέρους της απόφυσης του πέους μέχρι το τέλος.
4. Μήκος πέους (ο μυς εκφύεται στο τέλος του πέους)
5. Μήκος Επίφαλλου
6. Από το σημείο έκφυσης του αγωγού του λευκωματογόνου αδένα μέχρι τον σημείο έκφυσης του αγωγού της σπερματοθήκης (Μήκος κοινού αγωγού σπερματοθήκης και απόφυσης σπερματοθήκης).
7. Μήκος σπερματοθήκης (με τον μίσχο).
8. Μήκος απόφυσης σπερματοθήκης.

Έπειτα υπολογίστηκαν οι λόγοι:

- $1/2$
- $2/3$
- $(1+2)/3$
- $4/5$
- $6/7$
- $7/8$
- $8/6$

Εικόνα 2.2: Το αναπαραγωγικό σύστημα ατόμου *Euchondrus parreyssi*, από την Πέτρα του Ρωμιού, με τις παραμέτρους που μετρήθηκαν για το αναπαραγωγικό σύστημα των ειδών *Euchondrus parreyssi*, *Euchondrus nucifragus* και *Euchondrus limbodentatus*.



Για την *Turanena katerinae* της Κύπρου και της Κρήτης μετρήθηκαν τα απόλυτα μεγέθη για τις αποστάσεις:

1. Γεννητικός πόρος μέχρι το σημείο έκφυσης της απόφυσης του πέους
2. Αρχή απόφυσης πέους μέχρι τον σημείο έκφυσης του μυ
3. Από το σημείο έκφυσης του μυ της απόφυσης πέους μέχρι το τέλος της απόφυσης
4. Από το σημείο έκφυσης της απόφυσης του πέους μέχρι το caecum.
5. Από το caecum μέχρι το σημείο έκφυσης του μαστιγίου.
6. Από τον γεννητικό πόρο μέχρι τον σημείο έκφυσης του αγωγού του λευκοματογόνου αδένου.
7. Από το σημείο έκφυσης του αγωγού του λευκοματογόνου αδένου μέχρι τον σημείο έκφυσης του αγωγού της σπερματοθήκης (μήκος κοινού αγωγού σπερματοθήκης και απόφυσης σπερματοθήκης.)
8. Μήκος σπερματοθήκης (με τον μίσχο).
9. Μήκος απόφυσης σπερματοθήκης.

Έπειτα υπολογίστηκαν οι λόγοι:

- 1/2
- 1/3
- 2/3
- 4/5
- 6/7
- 8/9



Εικόνα 2.3: Το αναπαραγωγικό σύστημα του *Turanena katerinae*, από το Τρόδος, με τις παραμέτρους που μετρήθηκαν.

2.5 Μοριακή ανάλυση.

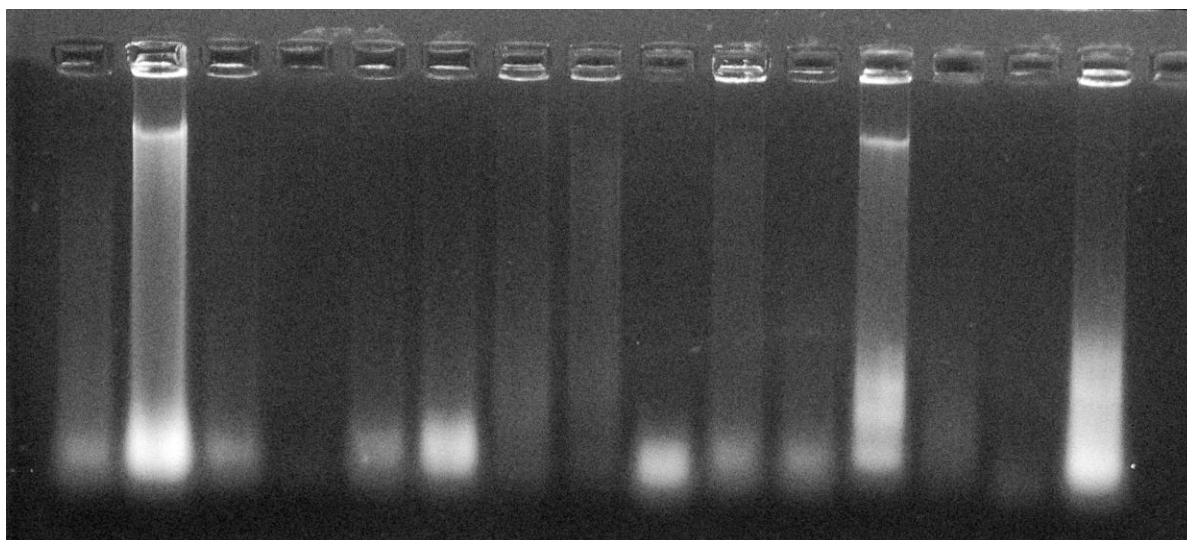
Πίνακας 2.3: Γεωγραφική τοποθεσία όπου βρέθηκαν τα άτομα που συμπεριλήφθηκαν στις μοριακές αναλύσεις. (*) Η αλληλουχία του *Zebrina detrita* λήφθηκε από την βάση ncbi (AY485907) ενώ για το *Turanena katerinae* και το *Eobania vermiculata* οι αλληλουχίες προήλθαν από τους Mylonas et al 2011, και Pswnis, 2011 αντίστοιχα.

Αρ. δείγματος	NHMC Κωδικός	Είδος	Που βρέθηκε
1	1087	<i>Euchondrus limbodentatus</i>	Geronisos Beach
2	7433	<i>Euchondrus limbodentatus</i>	Asgata
3	12465	<i>Euchondrus limbodentatus</i>	Ag. Georgios Alamanou
4	13273	<i>Euchondrus limbodentatus</i>	Lefkara
5	7237	<i>Euchondrus nucifragus</i>	Cavo Greco
6	7260	<i>Euchondrus nucifragus</i>	Mammari
7	9265	<i>Euchondrus nucifragus</i>	Kourion
8	7431	<i>Euchondrus nucifragus</i>	Mitsero
9	12451	<i>Euchondrus nucifragus</i>	Engomi
10	13203	<i>Euchondrus parreyssi</i>	Kouris Dam
11	13171	<i>Euchondrus parreyssi</i>	Potima
12	7231	<i>Euchondrus parreyssi</i>	Petra tou Romiou
13	7285	<i>Euchondrus nucifragus</i>	Asprokremmos
14	13196	<i>Euchondrus parreyssi</i>	Fassoula
15	13203	<i>Paramastus cyprius</i>	Kouris Dam
16	7141	<i>Paramastus (sp) cyprius</i>	Kedron Valley
17	12434	<i>Paramastus cyprius</i>	Kafizides
18	7487	<i>Paramastus (sp) cyprius</i>	Xyliati Dam
19	7256	<i>Paramastus cyprius</i>	Lefkara
20	7270	<i>Euchondrus stylus</i>	Geronisos Beach
21	12433	<i>Euchondrus stylus</i>	Deneia
22	12435	<i>Euchondrus stylus</i>	Akrotiri
23	11929	<i>Euchondrus stylus</i>	Derynia
24	---	<i>Paramastus episomus</i>	Israel
25	7292	<i>Zebrina fasciolata</i>	Finikas
26	7128	<i>Zebrina fasciolata</i>	Xiron Valley
27	---	<i>Paramastus episomus</i>	Israel
-	---	<i>Zebrina detrita</i> (*)	Syria
-	---	<i>Turanena katerinae</i> (*)	Troodos
Outgroup		<i>Eobania vermiculata</i> (*)	Greece

2.5.1 Εξαγωγή ολικού γενωμικού DNA.

Για την εξαγωγή ολικού γενωμικού DNA χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο εξαγωγής με Ammonium acetate. Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αποθηκευμένα σε 75% αλκοόλη. Από τα δείγματα αφαιρέθηκε μικρό κομμάτι ιστού κυρίως από τον πόδα. Τα κομμάτια από το κάθε άτομο τοποθετήθηκαν σε διαφορετικά erpendorfs 1,5 ml και ακολούθως σύμφωνα με το πρωτόκολλο προστέθηκαν 700 μl από το set buffer και 19 μl πρωτεΐνασης K. Ακολούθως με την χρήση Ammonium Acetate αιθανόλης και με την υποβολή των δειγμάτων σε 2 φυγοκεντρίσεις έγινε απομάκρυνση των διαφόρων κυτταρικών μορίων και δομών που προέκυψαν από την διαδικασία της εξαγωγής του DNA.

Με την ολοκλήρωση της εξαγωγής 1 μl από το προϊόν υφίστατο ηλεκτροφόρηση για 45 λεπτά σε τάση 90 Volt σε πήκτωμα αγαρόζης 1% που περιείχε 7% βρωμιούχο αιθίδιο. Έπειτα το πήκτωμα εκτέθηκε σε υπεριώδη ακτινοβολία ώστε να είναι ορατά τα μόρια του DNA και φωτογραφήθηκε. Σε μερικά δείγματα παρατηρήθηκε μια μικρή μπάντα, σε άλλα μικρού η μεγάλου μήκους smear και σε 2 δείγματα δεν παρατηρήθηκε απολύτως τίποτα. Από την εικόνα του κάθε δείγματος έγιναν εκτιμήσεις της ποιότητας και της ποσότητας του εξαγόμενου DNA και τελικά έγιναν οι κατάλληλες αραιώσεις όπου κρίθηκε αναγκαίο, για να είναι αποδοτικότερη η διαδικασία της PCR. Ακόμα και τα 2 δείγματα που στην εικόνα εξαγωγής δεν έδειξαν κάτι συμπεριλήφθησαν στις παρακάτω διαδικασίες καθώς και από την διεθνή βιβλιογραφία είναι παραδεκτό ότι σε μερικά «δύσκολα» δείγματα (π.χ. aDNA) είναι δυνατόν να υπάρχουν πολύ μικρές ποσότητες DNA που δεν μπορούν να εντοπιστούν από την ηλεκτροφόρηση παρ' όλα αυτά όμως μπορεί να είναι επαρκής για τον πολλαπλασιασμό της αλληλουχίας στόχου με την PCR.



Εικόνα 2.4: Εκόνα από τζέλ ηλεκτροφόρησης 1μl από το προϊόν που προέκυψε από την εξαγωγή για τα δείγματα 13-27.

2.5.2 Πολλαπλασιασμός του γονιδίου στόχου με την διαδικασία της PCR.

Για τον πολλαπλασιασμό μέρους του 16s rRNA χρησιμοποιήθηκαν μια **σειρά** από ζευγάρια εκκινητών ξεκινώντας από τους εκκινητές που πολλαπλασιάζουν μεγαλύτερο τμήμα DNA και συνεχίζοντας με αυτούς που πολλαπλασιάζουν μικρότερο τμήμα μέχρι να καταλήξουμε σε κάποιο ζεύγος που να είναι ικανό να υβριδοποιηθεί με το DNA που πήραμε από τη εξαγωγή και να γίνει πολλαπλασιασμός μέρους του συγκεκριμένου γονιδίου. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν κατά χρονολογική σειρά τα παρακάτω ζεύγη εκκινητών:

- 16S Ar L – 16S Br H (universal) ~530bp
- 16Siar – 16Sibr (specific for *Mastus*) ~500bp
- 16S-1 – 16 S-2 (specific for *Albinaria*) ~420bp
- PYR16SFOR – PYR16SREV1 (specific for *Pyramidula*) ~320bp

Τελικά τα δύο πρώτα ζεύγη εκκινητών αποδείχτηκαν αναποτελεσματικά στην προσπάθεια πολλαπλασιασμού της αλληλουχίας στόχου των δειγμάτων που είχα στην διάθεση μου και έτσι χρησιμοποιήθηκαν τα 2 τελευταία ζεύγη εκκινητών για τον πολλαπλασιασμό της αλληλουχίας στόχου. Οι αλληλουχίες των εκκινητών που τελικά επιλέχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν αλλά και το μέγεθος της αλληλουχίας που πολλαπλασιάζουν φαίνεται στον παρακάτω πίνακα:

Όνομα Εκκινητή	Αλληλουχία εκκινητή	Μέγεθος Προϊόντος	Αναφορά
----------------	---------------------	-------------------	---------

16s-1 (universal)	5' - CGACTGTTTA(AT)CAAAAACAT - 3'	~420bp	Hatzoglou et al., 1995
16s-2 (universal)	5' - GGTCTGAACTCAGATCATGT - 3'		
PYR16SFOR (Specific for Pyramidula)	5' - GCCTTAATCCAACATCGAGGT - 3'	~320bp	Kornilios et al., 2009
PYR16SREV1 (Specific for Pyramidula)	5' - GCCGCAGTACATTGACTGTGC - 3'		

Πίνακας 2.4: Αλληλουχίες των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν, το μέγεθος των προϊόντων τους και η πηγή προέλευσης τους.

Οι συνθήκες για την διεξαγωγή της PCR προέκυψαν από βιβλιογραφικές αναφορές παρόμοιων εργασιών με άτομα της οικογένειας Epidae (Παρμακέλης, 2003) άλλα και μετά από αντιδράσεις PCR με διαβαθμίσεις θερμοκρασίας και συγκέντρωσης MgCl₂. Τελικά οι συνθήκες που επιλέχθηκαν φαίνονται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 2.5: Συνθήκες αντιδράσεων P.C.R.

Γενετικός τόπος 16s r RNA - Συνθήκες PCR				
Εκκινητές	Στάδιο	Θ --> °C	Χρόνος	Συγκέντρωση MgCl ₂
16s-1 16s-2	Προ-επώαση	94	10'	3 mM
	Αποδιάταξη	94	30''- 1'	
	Υβριδοποίηση	52,9	1'	
	Επιμήκυνση	72	1'	
	Επιπλέον βήμα	72	10'	
PYR16SFOR PYR16SREV1	Προ-επώαση	94	10'	3 mM
	Αποδιάταξη	94	1'	
	Υβριδοποίηση	47	1'	
	Επιμήκυνση	72	1'	
	Επιπλέον βήμα	72	10'	

2.5.3 Καθαρισμός - Αλληλούχιση

Το προϊόν της PCR υποβλήθηκε σε διαδικασία καθαρισμού ακολουθώντας ειδικό πρωτόκολλο που περιλαμβάνει την χρήση NH₄Ac και αιθανόλης έτσι ώστε να απομακρυνθούν τα υπολείμματα εκκινητών, νουκλεοτιδίων (dNTPs) και πολυμεράσης. Μετά και τον καθαρισμό

πραγματοποιήθηκε ξανά ηλεκτροφόρηση με την χρήση ειδικού μάρτυρα (ladder) ώστε να προσδιοριστεί η ποσότητα και το μέγεθος του προϊόντος.

Το προϊόν του καθαρισμού χρησιμοποιήθηκε για την διαδικασία του “cycle sequencing” κατά την οποία με την χρήση εξειδικευμένης Taq πολυμεράσης (ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit v. 3.1 της Applied Biosystems), σημασμένων διδεοξυνουκλεοτιδίων και των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν στην αντίδραση της PCR συντίθενται νέες αλληλουχίες τις οποίες έχει την δυνατότητα να αναγνώσει η συσκευή αλληλούχισης (ABI 377s) μετά από ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα πολυακρυλαμίδης. Οι νέες αυτές αλληλουχίες που παράγονται από την διαδικασία του “cycle sequencing” μπορούν να έχουν όλα τα πιθανά μήκη από +1 νουκλεοτίδιο από το μήκος του εκκινητή έως 320 ή 420 νουκλεοτίδια ανάλογα με τους εκκινητές. Ο πολυμερισμός των εκκινητών γίνεται κανονικά μέχρι ένα φωσφορίζον διδεόξυνουκλεοτίδιο να προστεθεί στην αλληλουχία και να σταματήσει ο πολυμερισμός.

2.5.4 Στοίχιση αλληλουχιών.

Η διαδικασία που ακολουθεί την αλληλούχιση είναι η ευθυγράμμιση. Με την στοίχιση προσπαθούμε να εντοπίσουμε τις ομόλογες θέσεις μεταξύ των μελετώμενων αλληλουχιών και με βάση τις διαφορές να εκτιμήσουμε τις εξελικτικές τους σχέσεις. Όπως γίνεται κατανοητό η ευθυγράμμιση είναι μια διαδικασία εξέχουσας σημασίας για την εξαγωγή των σωστών συμπερασμάτων όσο αφορά τις φυλογενετικές σχέσεις των μελετούμενων ταξινομικών μονάδων (Collins et al., 1994; Gatesy et al., 1994). Για τον λόγο αυτό έχουν αναπτυχθεί μια σειρά υπολογιστικών προγραμμάτων το οποία όμως ανάλογα με τις παραμέτρους που θα οριστούν εξ'αρχής, μπορούν να οδηγήσουν σε διαφορετικά αποτελέσματα (McClure et al., 1994). Οι Hickson et al. (2000) υποστηρίζουν ότι ιδιαίτερη σημασία στην ευθυγράμμιση έχει η παράμετρος του «κόστους κενού» (gap penalty) (Page & Holmes, 1998). Όμως αφού δεν είναι δυνατόν να υπολογιστεί εκ των προτέρων το κόστος της εισαγωγής κενού σε μία στοίχιση, οι Hickson et al. (2000) υποστηρίζουν ότι κατά την ευθυγράμμιση αλληλουχιών ριβοσωμικών γονιδίων πρέπει να λαμβάνονται υπόψη η δευτεροταγής δομή των μορίων καθώς και τα συντηρημένα τμήματά τους. Χρησιμοποιώντας τις πιο πάνω παραμέτρους στην ευθυγράμμιση των αλληλουχιών το πρόγραμμα CLUSTAL W (Thompson et al., 1994) κρίθηκε ως ένα από τα καταλληλότερα για την ευθυγράμμιση ριβοσωμικών αλληλουχιών σύμφωνα με τους Hickson et al. (2000). Νεότερη έκδοση του CLUSTAL W αποτελεί το CLUSTAL X (Thompson et al., 1997).

2.5.5 Επιλογή βέλτιστου μοντέλου εξέλιξης.

Για την επιλογή του πιο κατάλληλου μοντέλου νουκλεοτιδικής υποκατάστασης χρησιμοποιήθηκε το jModeltest (Posada, 2008). Το jModeltest είναι ένα εργαλείο διεξαγωγής στατιστικών για την επιλογή του βέλτιστου μοντέλου νουκλεοτιδικής υποκατάστασης. Κατά την διαδικασία επιλογής του καταλληλότερου μοντέλου εφαρμόζει πέντε κριτήρια: Ιεραρχικά και δυναμικά τεστ του λόγου της πιθανοφάνειας (hLRT and dLRT), Akaike Information Criteria και Bayesian Informative Criteria (AIC και BIC) και μια θεωρία αποφάσεων (DT).

2.5.6 Μέθοδοι φυλογενετικής ανάλυσης και στατιστικός έλεγχος των παραγόμενων δέντρων.

Τα δεδομένα που προέκυψαν από την αλληλούχιση της αλληλουχίας στόχου υποβλήθηκαν σε ανάλυση **1** «Σύνδεσης Γειτόνων» (Neighbor-Joining, NJ) (Saitou & Nei, 1987), **2** «Μέγιστης Πιθανοφάνειας» (RAxML) (v.7.2.8, Stamatakis 2010) και **3** «Μπεϋζιανής Συμπερασματολογίας» (Bayesian Inference, BI) (Mau et al, 1999; Rannala & Yang, 1996; Yang & Rannala, 1997). Για τα φυλογενετικά δένδρα της ανάλυσης NJ χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα MEGA (Tamura et al, 2007) και η στατιστική του ισχύς εξετάστηκε με τη δοκιμασία 1000 bootstraps (Felsenstein, 1985). Η ML έγινε διαδικτυακά στο black box της RAxML (<http://phylobench.vital-it.ch/raxml-bb/>) (Stamatakis et al, 2008) με στατιστική ισχύ των 100 bootstraps. Η BI, όπως και η ML, βασίστηκε στο μοντέλο υποκατάστασης που προέκυψε από το Modeltest και έγινε πραγματοποιώντας 4 ανεξάρτητα τρεξίματα (runs) και σε καθένα από αυτό 8 ανεξάρτητες αλυσίδες (chains) για 10^7 επαναλήψεις (γενεές), ενώ το τρέχον δέντρο αποθηκευόταν κάθε 100 γενεές από την «κρύα» αλυσίδα. Από τα αποθηκευμένα δέντρα απορρίφθηκαν τα πρώτα 10^5 ως περίοδος burn in που αντιστοιχεί στο διάστημα μέχρι να σταθεροποιηθεί η τιμή της πιθανότητας $-lnL$. Ακολουθώντας τον κανόνα της 50% πλειονότητας (50% majority rule), το συναινετικό δέντρο εκτιμήθηκε από την εκ των υστέρων κατανομή των δέντρων, ενώ οι εκ των υστέρων πιθανότητες υπολογίστηκαν ως το ποσοστό των «δέντρων» που υποστηρίζουν ένα κλάδο (Huelsenbeck & Ronquist, 2001).

3. Αποτελέσματα

3.1 Κελυφος και Αναπαραγωγικό.

3.1.1 *Buliminus carneus*



(www.animalbase.org)

Κέλυφος: Το κέλυφος είναι συμπαγές και σχεδόν καθόλου διαφανές ενώ ο ομφαλός έχει σχήμα σχισμής. Διαθέτει 7 έως 8,75 σπείρες. Η κορυφή του κελύφους είναι αμβλύα. Χαρακτηρίζεται από ελαφρός κυρτές σπείρες οι οποίες διαχωρίζονται από λευκές ραφές στα όρια τους. Το κέλυφος έχει χρώμα σάρκας ή καφέ χρώμα, η πρωτοκόγχη είναι πιο σκουρόχρωμη. Η επιφάνεια χαρακτηρίζεται από καλοσηματισμένες ακανόνιστης απόστασης μεταξύ τους πλάγιες ακτινωτές ραβδώσεις. Σε κάποια σημεία στο στερεοσκόπιο μπορεί να είναι ορατές σπειράλ ραβδώσεις. Το άνοιγμα έχει γωνιακό οβάλ σχήμα το οποίο κάπως πλάγια έρχεται σε επαφή με τις σπείρες του σώματος και χωρίζεται κατά 1/5 από την

τελευταία σπείρα του σώματος. Το πλευρικό το στυλικό και το basalís μέρος του χείλους είναι έντονα και προεξέχουν το χείλους. Το εξωτερικό χείλος στην συμβολή του με το πλευρικό χείλος είναι ευδιάκριτα κυρτό. Το πλευρικό και το εξωτερικό χείλος ενώνονται στο εξωτερικό μέρος του χείλους από ένα λεπτό διαφανή κάλλο. Η περιγραφή αυτή του κελύφους αλλά και οι διαστάσεις των κελυφικών χαρακτηριστικών προέρχονται καθαρά από βιβλιογραφικές αναφορές (Bank R. A. & Hovestadt, 1991, [animalbase.org](http://www.animalbase.org)).

Κατανομή: Νότια Τουρκία (Λυκία), Παλαιστίνη, Κύπρος (Πηγή: <http://www.animalbase.org/>)

Πίνακας 3.1: Μετρήσεις κελυφικών παραμέτρων του *Buliminus carneus* (n= αριθμός ατόμων, p = πληθυσμοί).

n=2, p=?	SH	SD	MH	MD	W
Average	22.75	8.05	8.25	6.95	8.60
Min	21.90	7.90	7.80	6.90	8.40
Max	23.60	8.20	8.70	7.00	8.80

Πηγή: Bank & Hovestadt, 1991

Δυστυχώς δεν βρέθηκαν ζωντανά άτομα ή κελύφη από το συγκεκριμένο είδος αν και έγιναν δειγματοληψίες στην περιοχή Ορμήδειας όπου αναφέρεται στην βιβλιογραφία (Boettger, 1898) ότι βρέθηκε. Επιπλέον δεν βρέθηκαν στην βιβλιογραφία σκίτσα ή πληροφορίες για το αναπαραγωγικό του σύστημα.

3.1.2 *Paramastus cyprius*



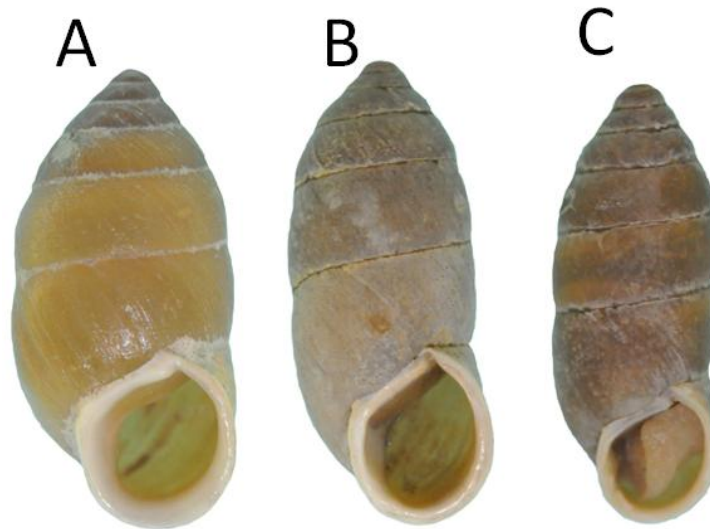
Κέλυφος: Κυλινδρικό ή οβάλ κέλυφος με τον ομφαλό να έχει σχήμα σχισμής. Το κέλυφος μάλλον ομοιογενές και καθόλου διαφανές. Οι 7-8 σπείρες είναι αρχικά μέτρια κυρτές ενώ όσο κατευθύνονται προς το άνοιγμα γίνονται λιγότερο κυρτές ή επίπεδες. Οι ραφές χαρακτηρίζονται από ένα εντυπωσιακό λευκό όριο. Η πρωτογρόνη και το πρώτο μέρος της τελοκόγχης έχουν έντονο καφεκόκκινο χρώμα, ενώ οι υπόλοιπες σπείρες έχουν γκριζοκαφέ ή υπόλευκο χρώμα. Τα χρώματα έχουν μια σατέν λάμψη. Η δομή της επιφάνειας του κελύφους που αποτελείται από ακανόνιστες λοξές ακτινωτές ραβδώσεις, με λεπτές αλλά ευδιάκριτες γραμμές σπειρών δίνουν στο κέλυφος μια εντυπωσιακή καρό εμφάνιση. Το άνοιγμα έχει στρογγυλό σχήμα ή σχήμα διαμαντιού και κάπως λοξά έρχεται σε επαφή με τις σπείρες του κελύφους διακόπτοντας την τελευταία σπείρα στα $\frac{3}{4}$ της πριν προλάβει να ολοκληρωθεί. Το χείλος είναι φαρδύ και προεξέχει του υπόλοιπου κελύφους. Το εξωτερικό χείλος στην συμβολή του με το πλευρικό χείλος είναι κυρτό. Στην είσοδο του πλευρικού μέρους του χείλους το χείλος είναι χοντρό σαν κόμπος.

Η επιφάνεια του *Paramastus cyprius* χαρακτηρίζεται από πιο απαλές ραβδώσεις σε σχέση με αυτήν του *Paramastus episomus* (Heller, 1971). Επιπλέον σύμφωνα με τον Zilch (1951) τα *P. cyprius* διαφέρουν με τα *P. episomus* ως προς τον λόγο Ύψος ανοίγματος/Διάμετρος ανοίγματος αλλά και το περίγραμμα του ανοίγματος κυρίως στο εξωτερικό χείλος, όμως οι χαρακτήρες αυτοί ποικίλουν και παρουσιάζουν επικάλυψη ανάμεσα στα δύο είδη (Heller, 1971). Επιπλέον διαφέρουν στο γεγονός ότι στην περιοχή του ομφαλού

στα *P. cypricus* το κέλυφος είναι λείο χωρίς ραβδώσεις όπως συμβαίνει στο *P. episomus* (Hesse, 1933).

Κατανομή: Ενδημικό της Κύπρου

Τα κυπριακά *Paramastus* (Εικόνα 3.1) διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους ως προς την παράμετρο SD του κελύφους. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα άτομα του ίδιου πληθυσμού δεν παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλομορφία ως προς την συγκεκριμένη παράμετρο.

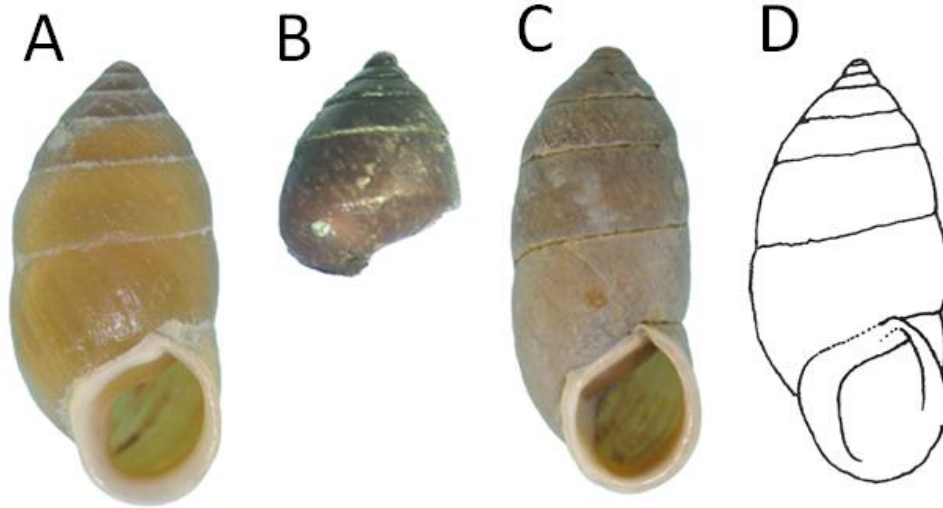


Εικόνα 3.1: *Paramastus cypricus* A - από τα Λεύκαρα, B – από τον Ξυλιάτη , C – Από τους Καφιζίδες.

Πίνακας 3.2: Μετρήσεις κελυφικών παραμέτρων του *Paramastus cypricus* (n= αριθμός ατόμων, ρ = πληθυσμοί).

n=30, ρ=6	SH	SD	MH	MD	W
Average	18.65	8.17	7.14	5.81	7
Min	16.8	7.32	5.8	5.26	6.5
Max	20.96	9.4	8.49	6.37	7.5

Στην διάθεση μας είχαμε και 4 νεαρά άτομα *Paramastus episomus* από το Ισραήλ. Παρατηρώντας το κέλυφος των ατόμων αυτών φαίνεται ότι η πρωτοκόγχη των 4 ατόμων από το Ισραήλ διαφέρει από τα άτομα στην Κύπρο καθώς ξεχωρίζει από το υπόλοιπο κέλυφος. Αντίθετα στα άτομα από την Κύπρο η πρωτοκόγχη δεν ξεχωρίζει από το υπόλοιπο κέλυφος και δημιουργείται μια ομαλή αψίδα στην άκρη του κελύφους.

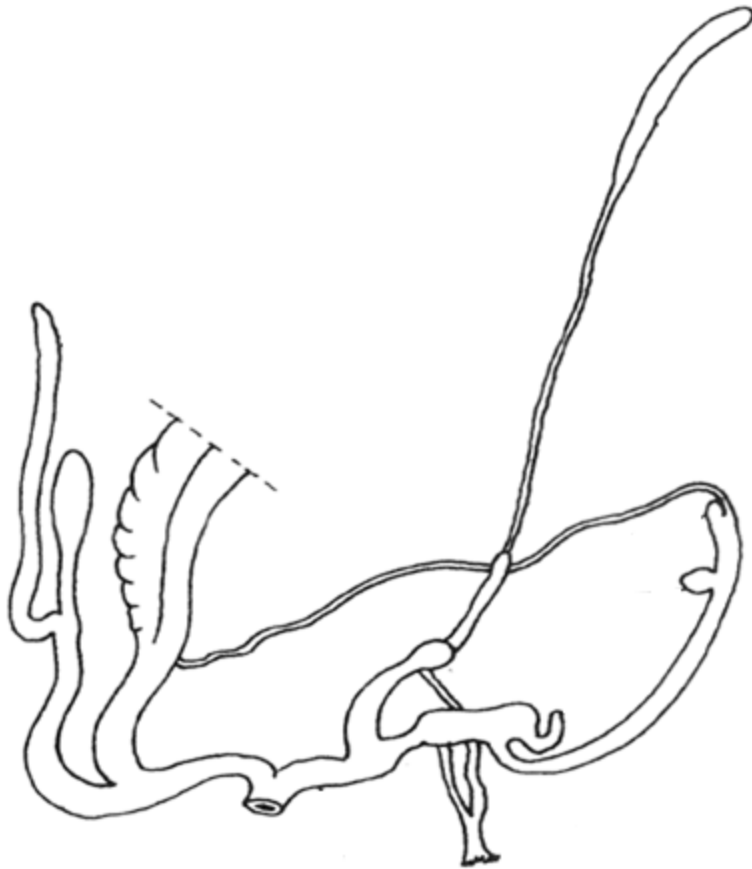


Εικόνα 3.2: A – *P. cyprius* από τα Λεύκαρα, B – *P. episomus* από το Ισραήλ, C – *P. cyprius* από τον Ξυλιάτη, D - *P. cyprius* (Bourguignant, 1857)

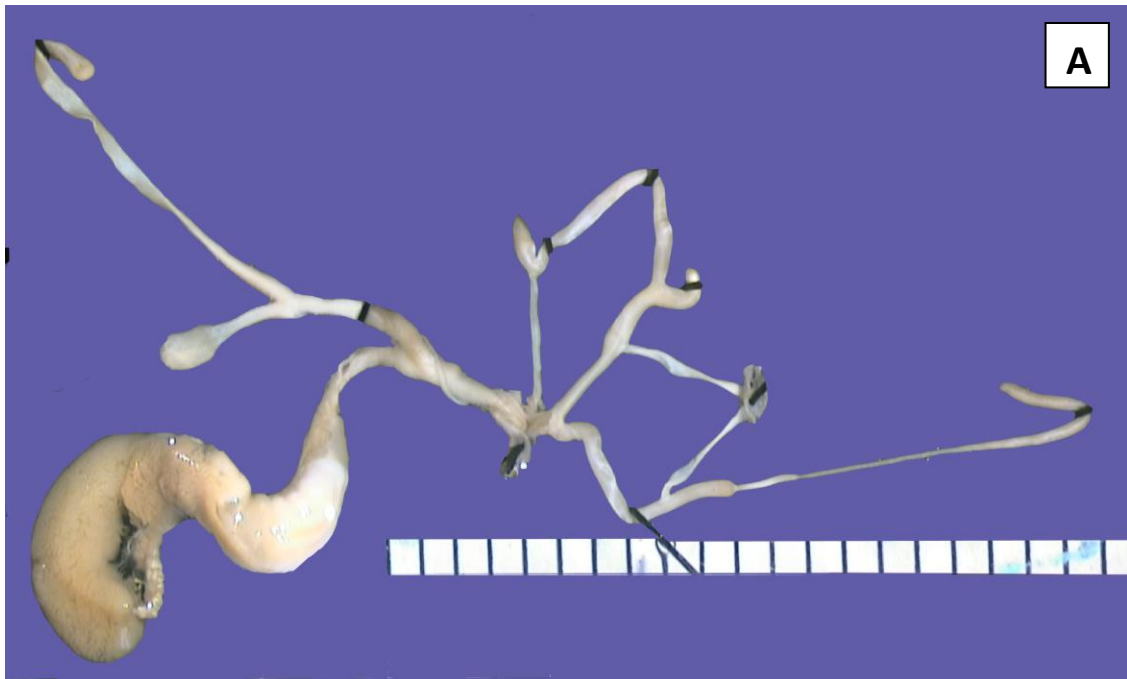
Αναπαραγωγικό σύστημα: Το αναπαραγωγικό σύστημα του *P. cyprius* δίνεται για πρώτη φορά από τον Hesse, (1933) και αναφέρεται ως *Epa episoma* το οποίο μετονομάστηκε αργότερα σε *P. episomus* αφού μέχρι τότε δεν είχε ακόμα θεωρηθεί ξεχωριστό είδος το *P. cyprius* το οποίο θεωρείτο υποείδος (*Paramastus episomus cyprius*). Επομένως πέραν του Hesse δεν υπάρχει στην βιβλιογραφία κάποια άλλη πρωτογενής αναφορά και όχι αναδημοσίευση της δομής του αναπαραγωγικού συστήματος του *P. cyprius*.

Σύμφωνα με τον Hesse το αναπαραγωγικό σύστημα του *P. cyprius* διαφέρει από αυτό του *P. episomus* στα παρακάτω σημεία:

- Το *P. cyprius* χαρακτηρίζεται από την παρουσία ενός caecum στον επίφαλλο (eriphallian caecum) που απουσιάζει στο *P. episomus*.
- Το επιφαλλικό μαστίγιο (eriphallian flagellum) είναι υπολειμματικό στο *P. cyprius*, δεν είναι καλοσηματισμένο και παχύ όπως στα *Paramastus episomus*.
- Το caecum του πέους (penial caecum) είναι μικρότερο στο *P. cyprius* σε σχέση με αυτό του *P. episomus*.



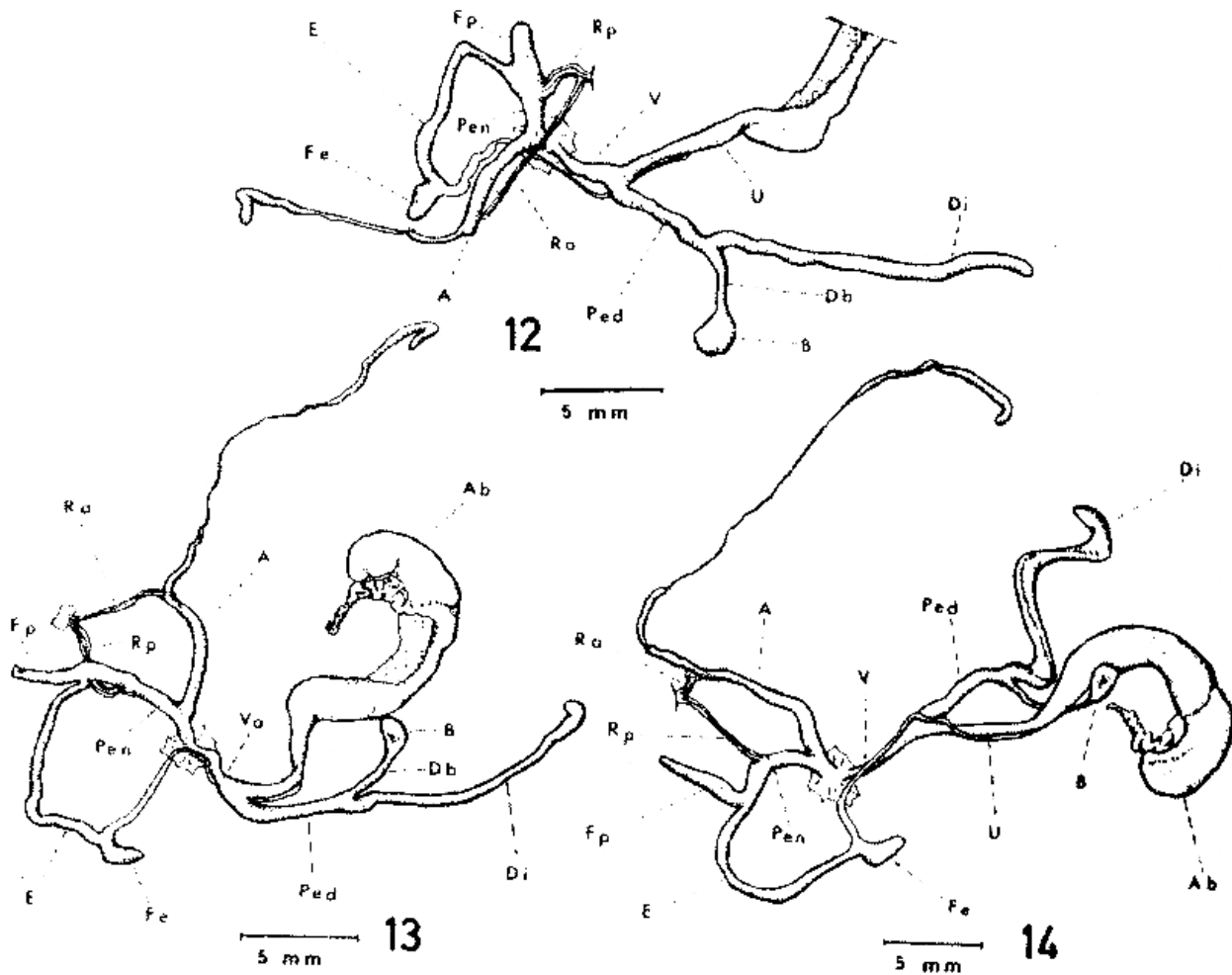
Εικόνα 3.3: Το αναπαραγωγικό σύστημα του *Paramastus cyprius* (Hesse, 1933).



Εικόνα 3.4: Το αναπαραγωγικό σύστημα του *Paramastus cyrius* από άτομα από Α)Φράγμα Ξυλιάτη Β)Σταυρός της Ψώκας.

Στην εικόνα 3.4 φαίνεται το αναπαραγωγικό σύστημα από δείγματα στην Κύπρο. Γενικά πραγματοποιήθηκαν 24 ανατομές από 11 πληθυσμούς. Συγκρίνοντας την ανατομή του Hesse και των Κυπριακών φαίνεται ότι δεν υπάρχουν διαφορές και δεν πληρούνται καμία από τις 3 προϋποθέσεις του Hesse που διαφοροποιούν τα Κυπριακά *Paramastus* από τα Ισραηλίτικα.

Επιπλέον φαίνεται ότι τα δείγματα από την Κύπρο μοιάζουν περισσότερο με τα *P. Episomus* από την εικόνα 3,5 παρά με το *P. cyrius* από τον Hesse (1933).



Εικόνα 3.5: Το αναπαραγωγικό σύστημα του *Paramastus episomus* (Heller, 1971- σχήμα 12-14) από άτομα από το Ισραήλ – 12) από το βουνό Μερών (Merón) , 13) από το βουνό Καρμेल (Carmel), 14) από το Ουμ ελ Φαχμ (Umm el Fahm) - συντομογραφίες : A=Appendix του πέους, B=Σπερματοθήκη, D= Απόφυση της σπερματοθήκης, E = Επίφαλλος, Fe = Επιφαλλικό

μαστίγιο(caecum), Fr = Μαστίγιο του πέους, Ped = Κοινός αγωγός σπερματοθήκης και απόφυσης σπερματοθήκης, Pen= Πέος, Ra = Αποσυρτήρας του arrendix, Rr = Αποσυρτήρας του πέους, U = Μήτρα, V = κόλπος.

Όπως φαίνεται στο παραπάνω σχήμα υπάρχει μια ποικιλόμορφία στο αναπαραγωγικό σύστημα του *Paramastus epismus* όσον αφορά το σχήμα το μέγεθος και τον σημείο έκφυσης του caecum σε σχέση με τους μύες. Επιπλέον φαίνεται ότι το μήκος του arrendix μπορεί να διαφέρει αρκετά ανάμεσα στους διαφορετικούς πλυθισμούς. Οι ανατομές από τα κυπριακά *Paramastus* φαίνεται να μοιάζουν παραπάνω με τα άτομα 13 και 14 ως προς το σημείο έκφυσης του caecum και των μυών ενώ το άτομο B της εικόνας 3.4 φαίνεται να μοιάζει περισσότερο με το άτομο 12 από το Ισραήλ ως προς το μήκος του arrendix.

Για το αναπαραγωγικό σύστημα των *Paramastus* πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις για τις παραμέτρους 1-11 και υπολογίστηκαν οι λόγοι που αναφέρονται στα υλικά και μέθοδοι. Από τις μετρήσεις αυτές που πραγματοποιήθηκαν και φαίνονται στους πίνακες που ακολουθούν τα άτομα τριών πλυθισμών παρουσίασαν σημαντική διαφορά ως προς τον λόγο των παραμέτρων 1/2 (Αρχή απόφυσης πέους μέχρι το σημείο έκφυσης του μύ/ σημείο έκφυσης του μυ της απόφυσης πέους μέχρι το τέλος του πιο χοντρού τμήματος (δηλαδή μέχρι το σημείο όπου η διάμετρος του αγωγού αλλάζει σημαντικά).

Πίνακας 3.3: Πίνακας μετρήσεων των παραμέτρων του αναπαραγωγικού του *Paramastus cyrius*. Με διακεκομμένες οριζόντιες γραμμές στον πίνακα διαχωρίζονται άτομα του ίδιου πληθυσμού.

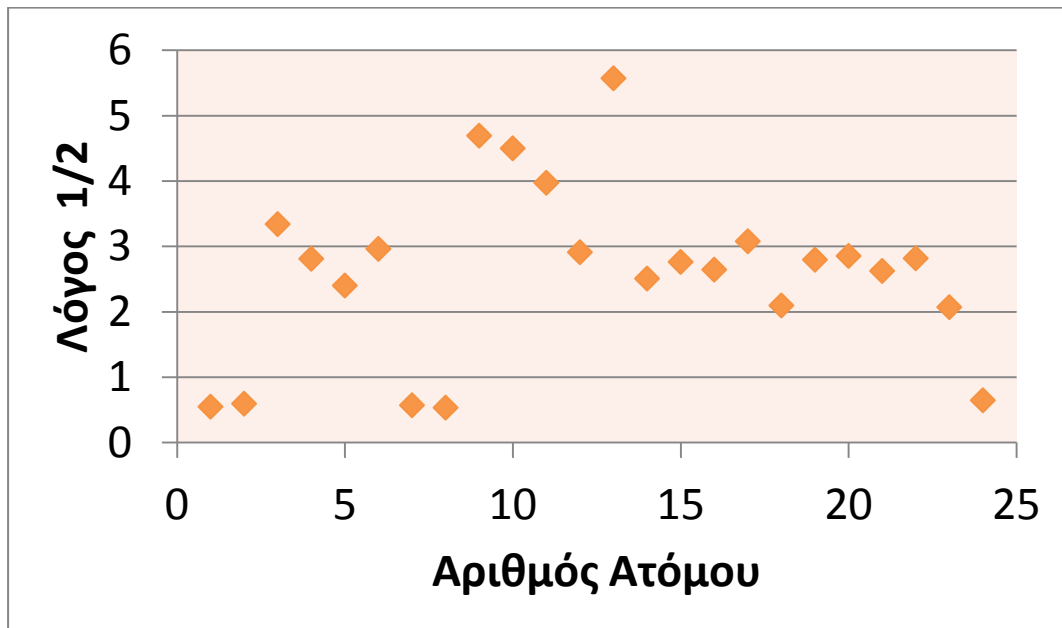
Αρ. Ατόμου	Παράμετρος										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	1,32	2,41	6,44	2,24	1,82	2,21	5,79	1,56	3,65	5,00	12,76
2	1,38	2,32	9,26	2,35	2,15	2,38	6,74	1,76	5,29	4,85	14,82
3	4,32	1,29	14,29	2,97	2,47	2,71	10,21	2,24	4,15	5,53	13,03
4	4,66	1,66	18,56	2,59	2,47	2,38	10,06	1,78	5,28	4,97	15,81
5	7,42	3,09	22,06	2,91	2,24	1,52	14,30	2,24	5,12	4,58	9,12
6	4,76	1,61	19,45	3,09	2,64	2,30	10,06	1,76	5,94	5,48	13,18
7	1,55	2,71	11,26	1,65	1,90	2,58	8,48	1,42	4,71	5,13	11,97
8	1,35	2,53	11,03	2,24	1,97	2,38	9,24	2,59	5,06	4,85	9,79
9	6,97	1,48	15,52	2,67	2,39	2,76	7,85	2,18	6,06	4,06	11,27
10	5,56	1,24	14,00	2,62	1,91	1,91	8,85	1,97	6,15	4,18	13,09
11	4,32	1,09	14,62	2,38	1,50	1,59	9,91	2,62	5,41	5,00	21,18
12	3,74	1,29	10,23	1,91	0,60	2,34	8,23	1,40	4,69	3,83	9,49
13	4,59	0,82	15,91	2,00	2,50	1,91	7,21	1,62	1,91	4,44	12,06
14	4,50	1,79	21,24	3,12	2,56	2,24	9,68	1,85	6,12	4,82	10,82

15	4,79	1,74	20,68	3,06	1,71	2,12	10,74	1,59	6,91	5,26	23,68
16	2,41	0,91	9,35	2,29	2,06	1,68	5,53	1,26	4,03	4,79	10,94
17	4,62	1,50	9,68	2,76	2,26	1,91	6,88	1,12	3,85	3,53	10,29
18	3,33	1,59	14,62	2,54	1,74	1,79	5,72	1,18	4,08	6,18	13,77
19	4,71	1,68	18,44	2,37	2,07	2,02	7,61	1,54	4,02	5,73	10,95
20	4,91	1,72	14,00	2,97	2,16	2,66	8,78	1,63	4,34	3,84	12,13
21	4,94	1,88	12,76	2,65	1,74	1,82	6,97	1,41	4,56	3,71	11,50
22	6,38	2,26	13,44	2,82	2,21	1,50	5,47	1,76	3,65	3,79	11,44
23	3,52	1,70	13,94	2,94	2,24	1,94	6,00	2,18	5,12	4,33	12,82
24	1,67	2,58	10,30	2,70	1,61	1,24	4,91	1,21	4,12	4,52	11,39

Πίνακας 3.4: Πίνακας μετρήσεων των λόγων των παραμέτρων του αναπαραγωγικού του *Paramastus cyprius*. Με διακεκομμένες οριζόντιες γραμμές στον πίνακα διαχωρίζονται άτομα του ίδιου πληθυσμού.

Αρ. Ατόμου	Υπολογισμός Λόγων											
	10/9	11/10	11/9	2/3	1/2	1/3	2+3/1	4/5	4+5/6	4+5/7	8/7	6/8
1	1,37	2,55	3,50	0,37	0,55	0,21	6,69	1,23	1,84	0,70	0,27	1,42
2	0,92	3,05	2,80	0,25	0,59	0,15	8,38	1,10	1,89	0,67	0,26	1,35
3	1,33	2,36	3,14	0,09	3,34	0,30	3,61	1,20	2,01	0,53	0,22	1,21
4	0,94	3,18	2,99	0,09	2,81	0,25	4,34	1,05	2,13	0,50	0,18	1,33
5	0,89	1,99	1,78	0,14	2,40	0,34	3,39	1,30	3,40	0,36	0,16	0,68
6	0,92	2,40	2,22	0,08	2,96	0,24	4,43	1,17	2,49	0,57	0,17	1,31
7	1,09	2,33	2,54	0,24	0,57	0,14	9,02	0,86	1,38	0,42	0,17	1,82
8	0,96	2,02	1,94	0,23	0,53	0,12	10,02	1,13	1,77	0,46	0,28	0,92
9	0,67	2,78	1,86	0,10	4,69	0,45	2,44	1,11	1,84	0,64	0,28	1,26
10	0,68	3,13	2,13	0,09	4,50	0,40	2,74	1,37	2,37	0,51	0,22	0,97
11	0,92	4,24	3,91	0,07	3,97	0,30	3,63	1,59	2,44	0,39	0,26	0,61
12	0,82	2,48	2,02	0,13	2,91	0,37	3,08	3,19	1,07	0,31	0,17	1,67
13	2,32	2,72	6,31	0,05	5,57	0,29	3,65	0,80	2,35	0,62	0,22	1,18
14	0,79	2,24	1,77	0,08	2,51	0,21	5,12	1,22	2,54	0,59	0,19	1,21
15	0,76	4,50	3,43	0,08	2,76	0,23	4,67	1,79	2,25	0,44	0,15	1,33
16	1,19	2,28	2,72	0,10	2,65	0,26	4,26	1,11	2,60	0,79	0,23	1,33
17	0,92	2,92	2,67	0,16	3,08	0,48	2,42	1,22	2,63	0,73	0,16	1,71
18	1,52	2,23	3,38	0,11	2,10	0,23	4,86	1,46	2,39	0,75	0,21	1,52
19	1,42	1,91	2,72	0,09	2,80	0,26	4,27	1,14	2,19	0,58	0,20	1,32
20	0,88	3,15	2,79	0,12	2,85	0,35	3,20	1,38	1,93	0,58	0,19	1,63
21	0,81	3,10	2,52	0,15	2,63	0,39	2,96	1,53	2,40	0,63	0,20	1,29
22	1,04	3,02	3,14	0,17	2,82	0,47	2,46	1,28	3,35	0,92	0,32	0,85
23	0,85	2,96	2,50	0,12	2,07	0,25	4,45	1,31	2,67	0,86	0,36	0,89
24	1,10	2,52	2,76	0,25	0,65	0,16	7,73	1,68	3,46	0,88	0,25	1,03

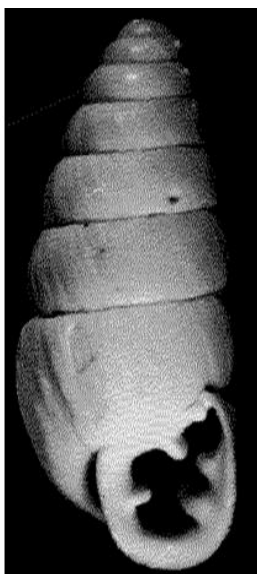
Το μέγεθος της απόφυσης της σπερματοθήκης μερικών ατόμων φαίνεται να είναι αρκετά μεγάλο σε σχέση με τα υπόλοιπα άτομα. Το γεγονός αυτό δικαιολογείται από την παρουσία ή την απουσία σπερματοφόρων στην απόφυση της σπερματοθήκης.



Γράφημα 1: Γραφική παράσταση του λόγου των παραμέτρων 1 προς 2.

Τα άτομα τα οποία διαφέρουν ως προς τον λόγο των παραμέτρων 1/2 έχουν κέλυφος με μικρότερο πλάτος (SD) και μοιάζουν με τα άτομα Β και C της εικόνας 3.1.

3.1.3 *Euchondrus ledereri*



Κέλυφος: Κωνικό σχήμα κελύφους με τον ομφαλό σε σχήμα σχισμής. Στην επιφάνεια του κελύφους παρατηρούνται καλοσχηματισμένες λοξές ραβδώσεις αλλά όχι σπειροειδής. Το κέλυφος είναι συμπαγές και κυρίως ημιδιαφανές. Έχει χλωμό υποκίτρινο χρώμα με μια λευκή μπάνα πίσω από το χείλος. Το χείλος προεξέχει. Το άνοιγμα είναι στρογγυλό ή έχει σχήμα U. Στην συμβολή του στυλικού και του πλευρικού χείλους υπάρχει ένας λεπτός κάλλος. Το ελεύθερο μέρος του χείλους (εξωτερικό χείλος) είναι έντονα πεπλατυσμένο. Συνήθως μεταξύ του εξωτερικού και του πλευρικού χείλους δημιουργείται μια

καλοσηματισμένη γωνία στην οποία παρατηρείται ένας χοντρός κάλλος ανάμεσα στα δύο χείλη. Το collumelaris εκφύεται κάθετα του στυλικού χείλους. Τα δόντια palatalis inferior και το palatalis superior είναι ευδιάκριτα. Απουσιάζουν τα Basalis και Suturalis. Η περιγραφή αυτή του κελύφους αλλά και οι διαστάσεις των κελυφικών χαρακτηριστικών προέρχονται από βιβλιογραφικές αναφορές (Bank & Hovestadt, 1919, animalbase.org).

Κατανομή: Τουρκία, Ισραήλ, Κύπρος. (animalbase.org)

Πίνακας 3.5: Μετρήσεις κελυφικών παραμέτρων του *Euchondrus ledereri* (n= αριθμός ατόμων, p = πληθυσμοί).

n=4, p=?	SH	SD	MH	MD	W
Average	7.85	2.85	2.50	1.95	7.50
Min	6.90	2.60	2.30	1.90	7.00
Max	8.40	3.10	2.70	2.00	8.00

Πηγή:Bank & Hovestadt, 1991

Δυστυχώς δεν βρέθηκαν ζωντανά άτομα ή κελύφη από το συγκεκριμένο είδος. Επιπλέον δεν βρέθηκαν στην βιβλιογραφία σκίτσα ή πληροφορίες για το αναπαραγωγικό του σύστημα.

3.1.4 *Euchondrus limbodentatus*



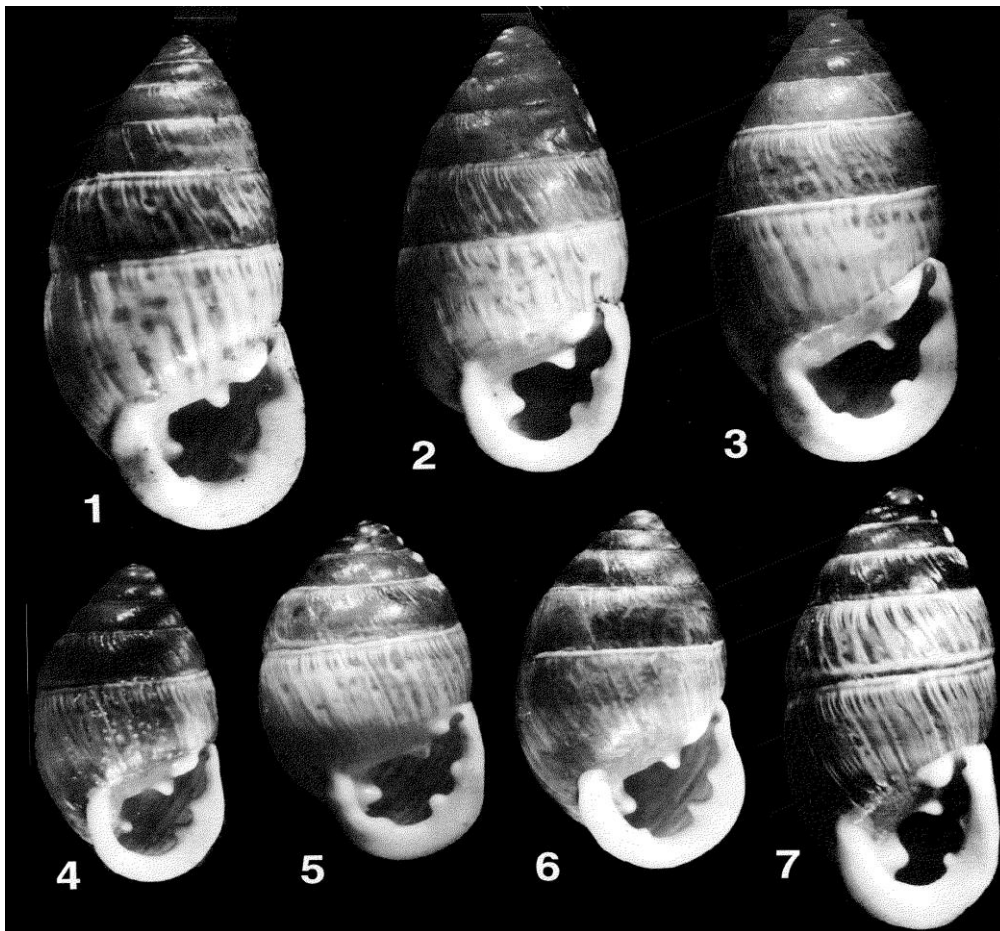
Κέλυφος: Επίμηκες ωοειδές σχήμα κελύφους ενώ ο ομφαλός έχει σχήμα σχισμής. Στην επιφάνεια του κελύφους παρατηρούνται καλοσηματισμένες λοξές ραβδώσεις αλλά όχι σπειροειδής. Το κέλυφος είναι μαλλον ομοιογενές και όχι διαφανές. Το μισό πάνω μέρος του κελύφους είναι πιο σκουρόχρωμο από το κάτω μισό που είναι υπόλευκο, ενώ πίσω από το χείλος υπάρχει μια λευκή ζώνη. Οι τελευταίες δύο σπείρες είναι καθαρά πεπλατυσμένες. Το χείλος προεξέχει. Το άνοιγμα είναι κάθετο ως προς το υπόλοιπο κέλυφος και το μισό έχει σχήμα αυγοειδές. Στην συμβολή του στυλικού και του πλευρικού χείλους υπάρχει ένας πολύ λεπτός κάλλος. Το ελεύθερο μέρος του χείλους (εξωτερικό χείλος) είναι έντονα πεπλατυσμένο, το στυλικό χείλος είναι πιο έντονα πεπλατυσμένο από τα άλλα. Συνήθως μεταξύ του εξωτερικού και

του πλευρικού χείλους δημιουργείται μια καλοσχηματισμένη γωνία στην οποία παρατηρείται ένας χοντρός κάλλος ανάμεσα στα δύο χείλη. Το collumelaris εκφύεται κάθετα του στυλικού χείλους. Τα δόντια palatalis inferior και palatalis superior είναι περίπου ίσα. Το Basalis είναι πολύ μικρό και συνήθως απουσιάζει ενώ το suturalis είναι συνήθως ευδιάκριτο.

Κατανομή: Ενδημικό της Κύπρου

Πίνακας 3.6: Μετρήσεις κελυφικών παραμέτρων του *Euchondrus limbodontatus* (n= αριθμός ατόμων, p = πληθυσμοί).

n=40,p=7	SH	SD	MH	MD	W
Average	11.21	5.28	4.89	4.10	6.50
Min	9.14	4.33	3.81	3.26	6
Max	14.38	6.65	6.14	5.51	7



Εικόνα 3.6: Κελυφικές μορφές του είδους *Euchondrus limbodontatus* (Bank R. A. & Hovestadt, 1991).

Αναπαραγωγικό σύστημα: Για το συγκεκριμένο είδος δεν βρέθηκαν βιβλιογραφικές αναφορές που να παρουσιάζουν την δομή του αναπαραγωγικού συστήματος. Μετά από ανατομή σε 5 άτομα δεν φαίνεται να έχει σημαντικές διαφορές από αυτή του *E.nucifragus*, *E.parreyssi*.



Εικόνα 3.7: Το αναπαραγωγικό σύστημα του *E.limbodentatus*. (Χοιροκίτσια)

3.1.5 *Euchondrus nucifragus*



Κέλυφος: Ελλειπτικό αυγοειδές κέλυφος με στενό έως ανοικτό ομφαλό. Στην επιφάνεια του κελύφους παρατηρούνται καλοσηματισμένες λοξές ραβδώσεις αλλά όχι σπειροειδής. Το κέλυφος είναι λεπτό ομοιογενές και καθόλου ή σπάνια ημιδιαφανές.

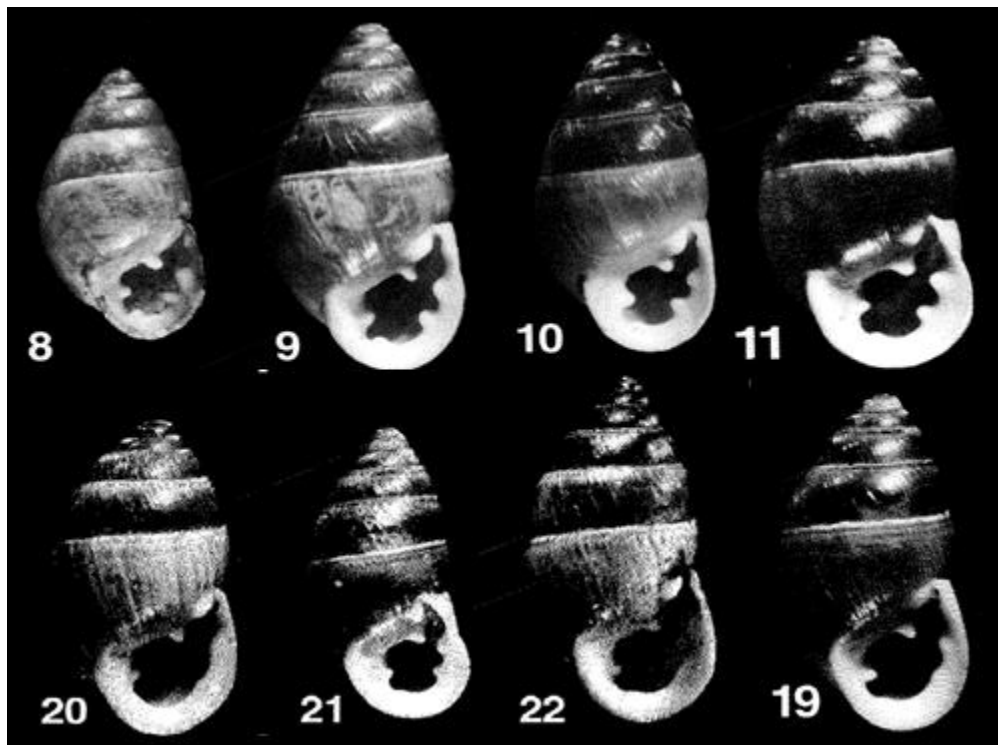
Έχει κίτρινο χρώμα με μια λευκή μπάντα πίσω από το χείλος ενώ συχνά η τελευταία σπείρα είναι υπόλευκη. Στις ραφές υπάρχει μια λευκή ζώνη με άσπρα όρια που ξεχωρίζει από το υπόλοιπο κέλυφος. Το χείλος προεξέχει. Το μισό άνοιγμα έχει ωσειδές σχήμα. Στην συμβολή του

στυλικού και του πλευρικού χείλους υπάρχει ένας πολύ λεπτός κάλλος. Το ελεύθερο μέρος του χείλους (εξωτερικό χείλος) είναι έντονα πεπλατυσμένο, το στυλικό χείλος συνήθως προεξέχει. Καλοσηματισμένα parietalis και angularis δόντια. Το parietalis δεν βρίσκεται σε επαφή με το angularis. Το angularis έχει ευθύ σχήμα ή σχήμα κόμματος και είναι τοποθετημένο με φορά προς τα κάτω ή οριζόντια. Το collumelaris εκφύεται κάθετα του στυλικού χείλους. Το basalis και το palatalis inferior είναι ευδιάκριτα. Το πρώτο είναι πιο ασθενέστερο από το δεύτερο. Το suturalis δεν είναι καλοσηματισμένο.

Κατανομή: Ενδημικό της Κύπρου

Πίνακας 3.7: Μετρήσεις κελυφικών παραμέτρων του *Euchondrus nucifragus* (n= αριθμός ατόμων, p = πληθυσμοί).

n=65, p=14	SH	SD	MH	MD	W
Average	8.05	3.91	3.5	2.95	5.85
Min	6.24	3.19	2.62	2.17	5.00
Max	10.63	4.72	4.78	4.16	7.00



Εικόνα 3.8: Κελυφικές μορφές του είδους *Euchondrus nucifragus* (Bank & Hovestadt, 1991).

Αναπαραγωγικό σύστημα: Για το αναπαραγωγικό σύστημα του *Euchondrus nucifragus* πραγματοποιήσα 16 ανατομές.



Εικόνα 3.9: Αναπαραγωγικό σύστημα *Euchondrus nucifragus*. (Αγία Άννα)

***Euchondrus nucifragus* - *Euchondrus limbodentatus*: Συγκριση κελυφικών χαρακτηριστικών και χαρακτηριστικών του αναπαραγωγικού συστήματος.**

Δεδομένου ότι το ύψος και πλάτος των διαστάσεων των *Euchondrus limbodentatus* και *Euchondrus nucifragus* συμπίπτουν σε ένα μεγάλο εύρος τιμών (βλ. πίνακες 3.6 & 3.7) οι διαστάσεις του κελύφους δεν μπορούν να είναι ειδοδιακριτικές. Επίσης τα δόντια, οι κάλλοι και η δομή του άνοιγματος παρουσιάζει μεγάλη ομοιότητα που δεν μας επιτρέπει να ξεχωρίσουμε τα δύο είδη. Όπως προκύπτει από τα τις ανατομές που έγιναν σε άτομα των δύο ειδών και παρατίθενται παραπάνω, δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στο αναπαραγωγικό σύστημα των *Euchondrus limbodentatus* και *Euchondrus nucifragus*. Όπως γίνεται κατανοητό υπάρχει ένα πρόβλημα διαχωρισμού αρκετών ατόμων που αντιπροσωπεύουν τα δύο είδη. Με δεδομένα τα προβλήματα αυτά η διάκριση και κατάταξη μεγάλου αριθμού ατόμων με κριτήριο τα κελυφικά χαρακτηριστικά ή το αναπαραγωγικό σύστημα στο ένα ή το άλλο είδος είναι υποκειμενική και έγκειται στον παρατηρητή.

3.1.6 *Euchondrus parreyssi*



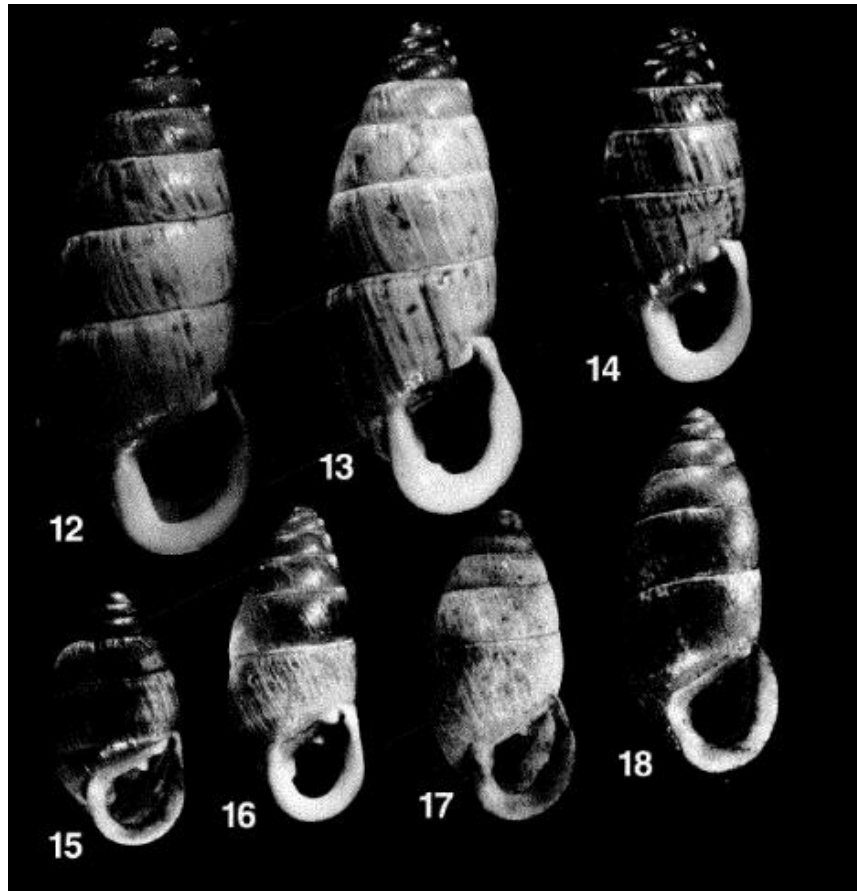
Κέλυφος: Επιμήκης ελλειπτικό σχήμα κελύφους ενώ ο ομφαλός έχει σχήμα σχισμής. Στην επιφάνεια του κελύφους παρατηρούνται καλοσχηματισμένες λοξές ραβδώσεις. Το κέλυφος είναι μαλλον ομοιογενές και όχι ημιδιαφανές. Το πάνω μέρος του κελύφους είναι κιτρινωπό ενώ το κάτω μέρος του είναι υπόλευκο ή γκριζόλευκο, ενώ πίσω από το χείλος υπάρχει μια λευκή ζώνη με άσπρα όρια που ξεχωρίζει από το υπόλοιπο κέλυφος. Στην τελευταία σπείρα προς τα κάτω το γκριζόλευκο χρώμα σχηματίζεται λιγότερο και έτσι φαίνεται πιο σκουρόχρωμη. Οι τελευταίες δύο σπείρες είναι καθαρά πεπλατυσμένες. Το χείλος είναι λίγο ή καθόλου reflected. Το άνοιγμα είναι κάθετα ως προς το υπόλοιπο κέλυφος και το μισό έχει σχήμα αυγοειδές. Στην συμβολή του στυλικού και του πλευρικού χείλους υπάρχει ένας πολύ λεπτός κάλλος. Το ελεύθερο μέρος του χείλους (εξωτερικό χείλος) είναι έντονα πεπλατυσμένο. Μη καλοσχηματισμένο paretialis (κάποτε απουσιάζει εντελώς) και angularis. Το angularis είναι ενωμένο με το πλευρικό χείλος. Το collumelaris έχει

υποχωρήσει μακριά και είναι λοξά τραβηγμένο, με το μακρινό άκρο να είναι ξεκάθαρα αποκομμένο κάποτε με ένα μικρό κάλλο. Το πλευρικό χείλος είναι πεπλατισμένο σε 1 ή 2 σημεία (το Palatalis inferior είναι πάντα παρών αλλά είναι πολύ αδύναμο) χωρίς την παρουσία δοντιών. Το basalis απουσιάζει ή υπάρχουν ενδείξεις μόνο. Το suturalis συνήθως είναι παρών. Το collumelaris απουσιάζει η δεν είναι καλοσχηματισμένο.

Κατανομή: Ενδημικό της Κύπρου

Πίνακας 3.8: Μετρήσεις κελυφικών παραμέτρων του *Euchondrus parreyssi* (n= αριθμός ατόμων, p = πληθυσμοί).

n=79,p=14	SH	SD	MH	MD	W
Average	9.75	4.27	3.83	3.24	6.28
Min	5.79	3.22	2.46	2.14	5,00
Max	15.12	6.31	5.85	4.98	8.5



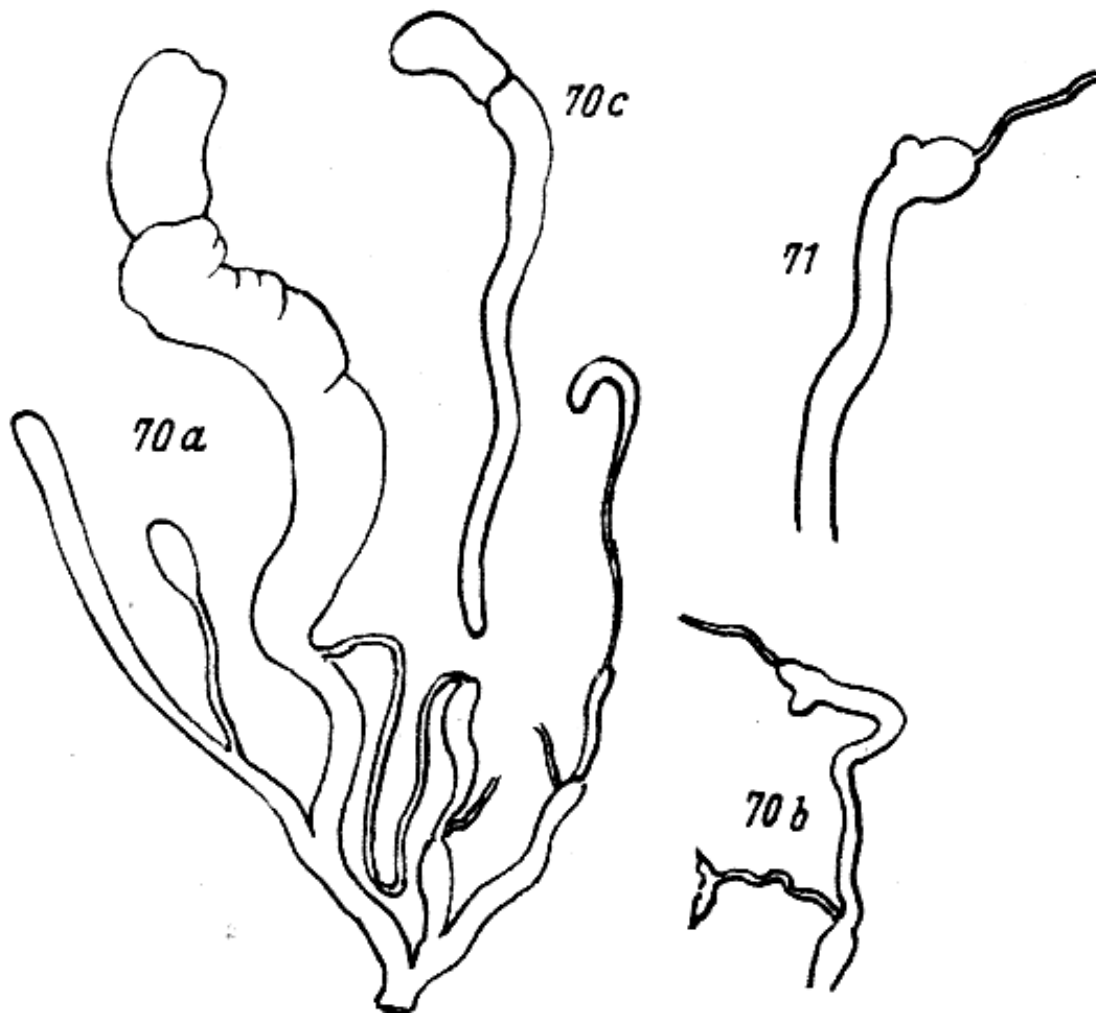
Εικόνα 3.10: Κελυφικές μορφές του είδους *Euchondrus parreyssi* (Bank & Hovestadt, 1991).

Αναπαραγωγικό σύστημα: Για το αναπαραγωγικό σύστημα του *Euchondrus parreyssi* πραγματοποιήσα 19 ανατομές.



Εικόνα 3.11: Αναπαραγωγικό σύστημα *Euchondrus parreyssi* από την Πέτρα του Ρωμιού.

Αναπαραγωγικό σύστημα *Euchondrus nucifragus* - *Euchondrus parreyssi* : Σύμφωνα με τον Hesse (1934) (εικόνα 3.12) τα *E. nucifragus* και *E. parreyssi* διαφέρουν μόνο στο μέγεθος του caecum. Ο Hesse παραθέτει τα πιο κάτω σχήματα:



Εικόνα 3.12: 70 a-c Αναπαραγωγικό σύστημα *Euchondrus nucifragus*, 70 ;71 Αναπαραγωγικό σύστημα *Euchondrus parreyssi* (Hesse, 1934 - σχήματα 70 -71)

Μετρήθηκαν 8 παράμετροι του αναπαραγωγικού συστήματος των *Euchondrus nucifragus*, *Euchondrus parreyssi* και *Euchondrus limbodentatus* με σκοπό να ελέγξουμε αν οι παράμετροι αυτοί διαφέρουν σημαντικά ανάμεσα στα τρία είδη του γένους *Euchondrus*. Οι μετρήσεις των παραμέτρων αυτών του αναπαραγωγικού συστήματος δεν έδειξαν κάποια διαφορά ανάμεσα στα τρία είδη που εξετάστηκαν.

Παρόλα αυτά μέσα από τις ανατομές που πραγματοποιήθηκαν παρατηρούμε ότι υπάρχει μια διαφορά ως προς το σημείο έκφυσης του caecum. Στα *E. nucifragus* και *E. limbodentatus* φαίνεται να εκφύεται λίγο πριν από την έναρξη του ελεύθερου αγωγού ενώ στα *E. parreyssi* εκφύεται ακριβώς στο τέλος του ελεύθερου αγωγού όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα (εικόνα 3.13). Η διαφορά αυτή που αφορά το σημείο έκφυσης του caecum

είναι εμφανής και στα σχήματα που παρατίθενται ήδη πιο πάνω. Η διαφορά αυτή όμως δεν είναι πάντα τόσο ξεκάθαρη ή απόλυτη σε όλες τις περιπτώσεις καθώς δεν συμβαδίζει πάντα με τα κελυφικά χαρακτηριστικά του κάθε είδους.



Εικόνα 3.13: Σημείος έκφυσης του caecum σε άτομα του είδους *Euchondrus nucifragus*, *Euchondrus parreyssi*.

Μετά και τον υπολογισμό των απόλυτων μετρήσεων των παραμέτρων και των λόγων που αναφέρονται στα υλικά και μέθοδοι για τα *Euchondrus*, δεν βρέθηκε καμία σημαντική διαφορά ανάμεσα στα τρία είδη (*E.limbodentatus*, *E. nucifragus*, *E. parreyssi*). Επομένως για την επιλογή κριτηρίων και την διάκριση ή όχι των τριών αυτών ειδών δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν δεδομένα που προκύπτουν από το αναπαραγωγικό σύστημα

3.1.7 *Euchondrus stylus*



Κέλυφος: Φουσκομένο αυγοειδές σχήμα κελύφους με ανοικτό ομφαλό. Στην επιφάνεια του κελύφους παρατηρούνται καλοσηματισμένες λοξές ραβδώσεις αλλά όχι σπειροειδείς. Το κέλυφος είναι συμπαγές και ημιδιαφανές. Έχει ανοικτό καφέ χρώμα με μια λευκή μπάντα πίσω από το χείλος. Το χείλος προεξέχει. Το άνοιγμα είναι σχεδόν στρογγυλό. Στην συμβολή του στυλικού και του πλευρικού χείλους υπάρχει ένας πολύ λεπτός κάλλος. Το ελεύθερο μέρος του χείλους (εξωτερικό χείλος) είναι έντονα πεπλατυσμένο. Μη καλοσηματισμένα suturalis και angularis. Το parietalis και το λιγότερο σχηματισμένο spiralis ενώνονται μεταξύ τους.

Το angularis είναι αδύνατο αλλά ευδιάκριτο. Ανάμεσα στο angularis και το spiralis συχνά υπάρχει μια σημειακή πάχυνση. Μερικές φορές η πάχυνση αυτή είναι ενωμένη με το spiralis. Το spiralis και το angularis δεν είναι ποτέ ενωμένα. Καλοσηματισμένα basalis, palatalis inferior and palatalis superior, ειδικά το palatalis inferior. Πάνω από το palatalis superior υπάρχει μια γλωσσόσχημη πάχυνση που είναι ορατή σαν μια λευκή τελεία στο εξωτερικό μέρος του ανοιγματος. Το suturalis είναι ασθενές ή απουσιάζει.

Κατανομή: Ενδημικό της Κύπρου

Πίνακας 3.9: Μετρήσεις κελυφικών παραμέτρων του *Euchondrus stylus* (n= αριθμός ατόμων, p = πληθυσμοί).

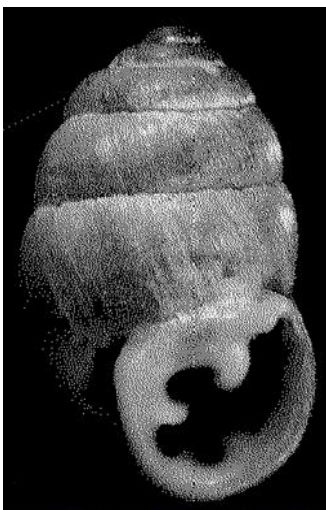
n=42, p=11	SH	SD	MH	MD	W
Average	5,16	3,44	2,62	2,40	4,89
Min	4,42	2,98	2,17	2,00	4,00
Max	5,78	3,88	3,07	2,99	5,00

Αναπαραγωγικό σύστημα: Το αναπαραγωγικό σύστημα του *Euchondrus stylus* δεν βρέθηκε στην βιβλιογραφία. Για το συγκεκριμένο είδος πραγματοποιήσα 12 ανατομές (Εικόνα 3.14)



Εικόνα 3.14: Το αναπαραγωγικό σύστημα του *Euchondrus stylus*. (Ακρωτήρι)

3.1.8 *Bollingeria lamellifera*



(Bank R. A. & Hovestadt, 1991)

Κέλυφος: Στρογγυλό, ωσειδές με ανοικτό ομφαλό. Στην επιφάνεια του κελύφους παρατηρούνται καλοσηματισμένες λοξές ραβδώσεις αλλά όχι σπειροειδής. Το κέλυφος μάλλον ομοιογενές και κάπως ημιδιαφανές με κιτρινωπό χρώμα και μια λευκή μπάντα πίσω από το χείλος. Το χείλος προεξέχει και είναι τετραγωνικό. Στην συμβολή του στυλικού και του πλευρικού χείλους υπάρχει ένας πολύ λεπτός κάλλος. Το ελεύθερο μέρος του χείλους (εξωτερικό χείλος) είναι έντονα πεπλατυσμένο. Μή καλοσηματισμένο suturalis και angularis. Το πολύ δυνατό και μακρινό καμπυλωτό parietalis ενώνεται με το angularis. Το collumelaris εκφύεται κάθετα του στυλικού χείλους. Καλοσηματισμένα basalis, palatalis inferior και palatalis superior

ειδικά το *palatalis inferior*. Υπάρχει ένα ασθενές αλλά καθαρά ορατό *suprapalatalis* και ένα συνήθως πιο ασθενές *suturalis*.

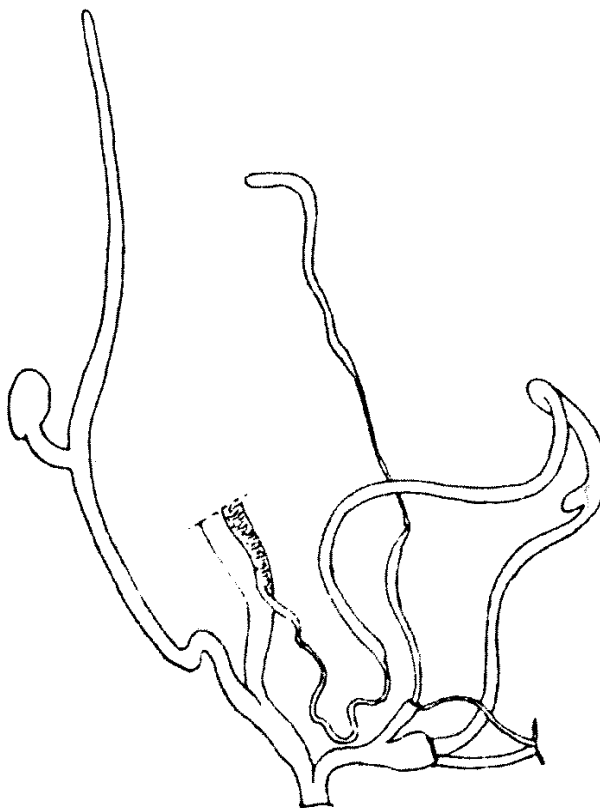
Η περιγραφή αυτή του κελύφους αλλά και οι διαστάσεις των κελυφικών χαρακτηριστικών προέρχονται από βιβλιογραφικές αναφορές (Bank R. A. & Hovestadt, 1999, www.animalbase.org).

Πίνακας 3.10: Μετρήσεις κελυφικών παραμέτρων του *Bollingeria lamellifera* (n= αριθμός ατόμων, ρ = πληθυσμοί).

n=2, ρ=?	SH	SD	MH	MD	W
Average	4.75	2.90	1.80	1.95	5.45
Min	4.10	2.60	1.30	1.70	5.20
Max	5.40	3.20	2.30	2.20	5.70

Πηγή: Bank. & Hovestadt, 1991

Αναπαραγωγικό σύστημα: Για το συγκεκριμένο είδος δεν πραγματοποιήθηκαν ανατομές καθώς δεν υπήρχαν δείγματα. Το αναπαραγωγικό του σύστημα παρατίθεται από την εργασία του Hesse το 1933 μετά από ανατομή σε άτομο από την Τουρκία (Villayet Tokar).



Εικόνα 3.15: Το αναπαραγωγικό σύστημα του *Bollingeria lamellifera* (Hesse, 1933).

Δεν βρέθηκαν ζωντανά άτομα ή κελύφη από το συγκεκριμένο είδος. Δεν πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες στις περιοχές που αναφέρεται στην βιβλιογραφία ότι βρέθηκε (Bank R. A. & Hovestadt, 1991) γιατί αυτές βρίσκονται στο κατεχόμενο τμήμα του νησιού ενώ δεν βρέθηκε σε κάποιο άλλο σταθμό δειγματοληψίας.

3.1.9 *Jaminia loewii*

Κέλυφος: Αριστερόστροφο κυλινδρικό κέλυφος με κωνική πρωτοκόνχη. Ο ομφαλός έχει σχήμα σχισμής. Διαθέτει 8,5 έως 9.5 ελάχιστα κυρτές σπείρες με αβαθής ραφές. Ολο το κέλυφος έχει καφέ χρώμα. Η πρωτοκόνχη είναι κάπως ραβδωτή ενώ η τελεοκόνχη είναι λεία και γυαλιστερή. Το μισό άνοιγμα έχει ελλειπτικό σχήμα και τα χείλη του είναι υπόλευκα. Στη μέση του πλευρικού χείλους υπάρχει ένας μεγάλος κάλλος. Παρουσία δυνατών parietalis, palatalis columellaris δοντιών.

Κατανομή: Ελλάδα, Τουρκία, Κύπρος

Η περιγραφή αυτή του κελύφους αλλά και οι διαστάσεις των κελυφικών χαρακτηριστικών προέρχονται καθαρά από βιβλιογραφικές αναφορές (Bank & Hovestadt, 199, www.animalbase.org, Hartwig Schutt, 2005).



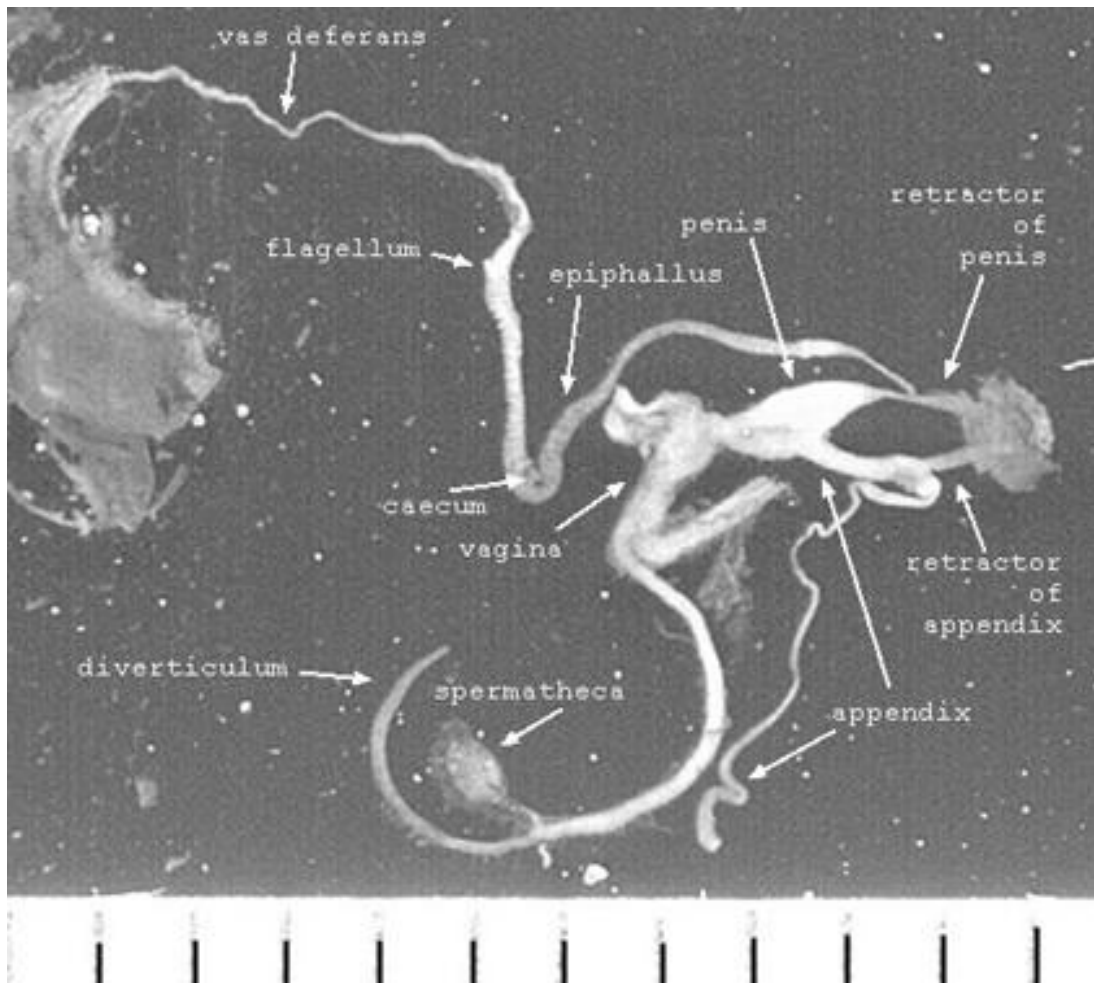
(<http://www.ne.jp>)

Πίνακας 3.11: Μετρήσεις κελυφικών παραμέτρων του *Jaminia loewii* (n= αριθμός ατόμων, p = πληθυσμοί).

n=?, p=?	SH	SD	MH	MD	W
Average	11.75	3.75	-	-	9.00
Min	9.50	3.00	-	-	8.50
Max	14.00	4.50	-	-	9.50

Πηγή: Hartwig Schutt, 2005

Αναπαραγωγικό σύστημα: Το αναπαραγωγικό του σύστημα της *Jaminia loewii* παρατήθεται από την εργασία των Örstan & Yildirim 2003 από δείγμα που προέρχεται από την Ισάρτα της Τουρκίας.



Εικόνα 3.16: Το αναπαραγωγικό σύστημα του *Jaminia loewii* (Örstan & Yildirim 2003)

Δυστυχώς δεν βρέθηκαν ζωντανά άτομα ή κελύφη από το συγκεκριμένο είδος. Δεν πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες στο Συριανοχώρι που αναφέρεται στην βιβλιογραφία ότι βρέθηκε (Mousson 1854) γιατί βρίσκεται στο κατεχόμενο τμήμα του νησιού ενώ δεν βρέθηκε σε κάποιο άλλο σταθμό δειγματοληψίας. Ο Mousson (1854) είναι ο μόνος που αναφέρει την εύρεση συγκεκριμένου είδους στην Κύπρο (Συριανοχώρι) .

3.1.10 *Turanena katerinae*

Κέλυφος: Σπειροειδές κωνικό κέλυφος με κυρτές έως πολύ κυρτές σπείρες. Οι σπείρες είναι γυαλιστερές, το κέλυφος είναι ελαφρά ανάγλυφο με ακτινωτές ακανόνιστες ρυτίδες. Το άνοιγμα έχει ελλειπτικό σχήμα και δεν φέρει δόντια ή κάλλους.

Κατανομή: Κύπρος, Κρήτη

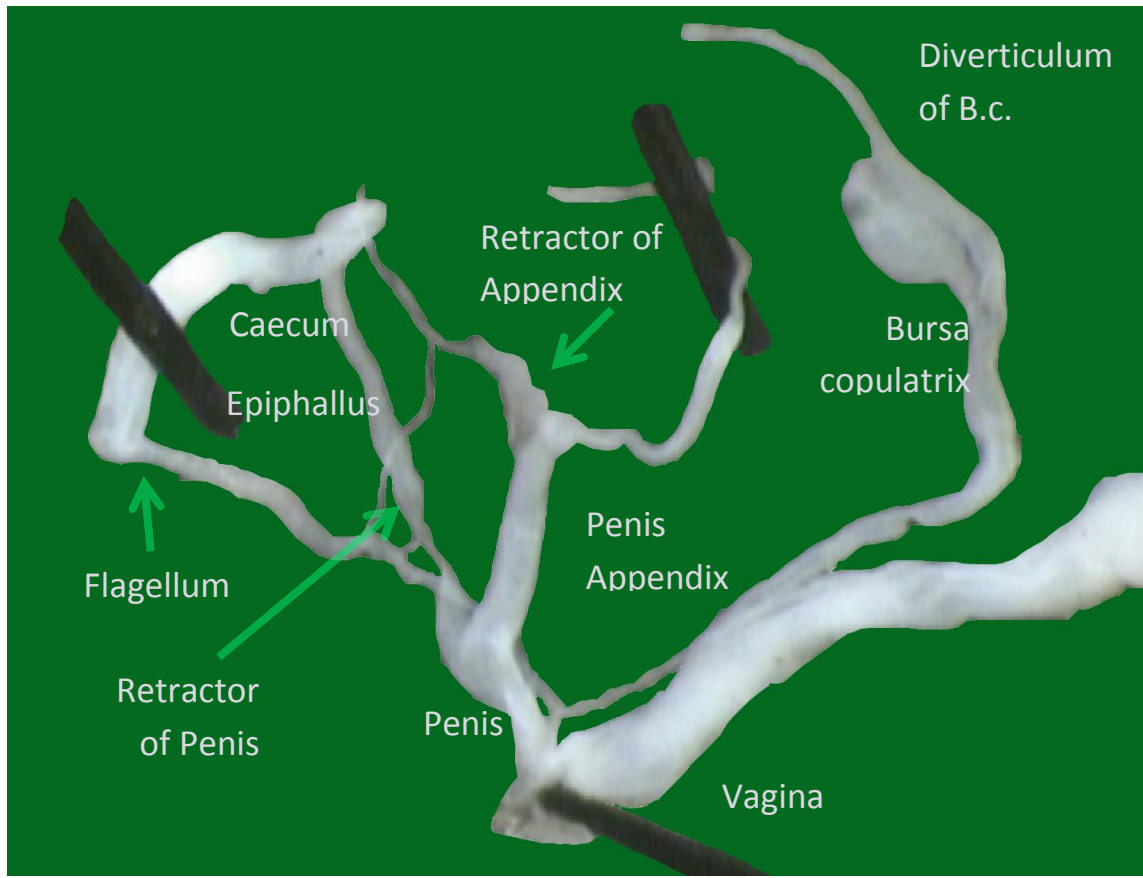
Πίνακας 3.12: Μετρήσεις κελυφικών παραμέτρων του *Turanena katerinae* (n= αριθμός ατόμων, p = πληθυσμοί).

n=52 p=11	SH	SD	MH	MD	W
Average	5,60	3,22	2,47	1,88	4,67
Min	4,21	2,79	1,93	1,38	4,00
Max	6,54	3,80	3,54	2,60	5,00



Για το είδος αυτό πραγματοποιήθηκαν περαιτέρω κελυφικές μετρήσεις για το ύψος της πρώτης σπείρας, το ύψος της δεύτερης σπείρας και την καμπυλότητα των σπειρών σε άτομα από την Κύπρο και την Κρήτη. Δεν βρέθηκε οποιοδήποτε κελυφική διαφοροποίηση ανάμεσα στους πλυθησμούς της Κύπρου και της Κρήτης.

Αναπαραγωγικό σύστημα: Για το συγκεκριμένο είδος πραγματοποιήθηκαν 2 ανατομές στα πλαίσια της εργασίας αυτής ενώ είχα στην διάθεση μου άλλες 4 που υπήρχαν στο εργαστήριο από μελέτη που προηγήθηκε (Mylonas, 2011). Επιπλέον από τις μετρήσεις των παραμέτρων του αναπαραγωγικού συστήματος, δεν παρατηρήθηκε οποιαδήποτε διαφορά ανάμεσα στο αναπαραγωγικό σύστημα των Κυπριακών και των Κρητικών ατόμων.



Εικόνα 3.17: Το αναπαραγωγικό σύστημα του *Turanena Katerinae* (Μυλωνάς, 2011).

3.1.11 *Zebrina fasciolata*



(<http://www.ne.jp>)

Κέλυφος: Δεξιόστροφο κέλυφος ατρακτοειδές με 6-7 σχετικά ρηχές σπείρες και δυσδιάκριτες ραφές. Ο ομφαλός είναι δυσδιάκριτος από το κυρτό περιστόμιο. Η επιφάνεια του κελύφους είναι γυαλιστερή με ακανόνιστες γραμμές που αυξάνονται όσο πλησιάζουμε το άνοιγμα με χρώμα γκριζόασπρο έως μπεζ οι οποίες διακόπτονται από πολλές ακανόνιστες αδιαφανές εγκάρσιες κρεατώδης ραβδώσεις. Σπάνια παρατηρούνται εντελώς ωχρά χρωματισμένα κελύφη. Επίμηκες ωσειδές άνοιγμα, υπόλευκο χείλος, με καφέ χρώμα πιο μέσα. Το εξωτερικό χείλος είναι αιχμηρό και εξέχει από το υπόλοιπο κέλυφος μόνο στο στυλικό μέρος του. Το μοτίβο των ραβδώσεων ποικίλει αλλά πάντα υπάρχει ένα καφέ χρώμα στο εσωτερικό του ανοίγματος.

Κατανομή: Νοτιοανατολική Ελλάδα (Ρόδος, Μεγάλο Ζεφράνο, όχι Κάρπαθος), Νότια Τουρκία, Συρία, Παλαιστίνη, Κύπρος

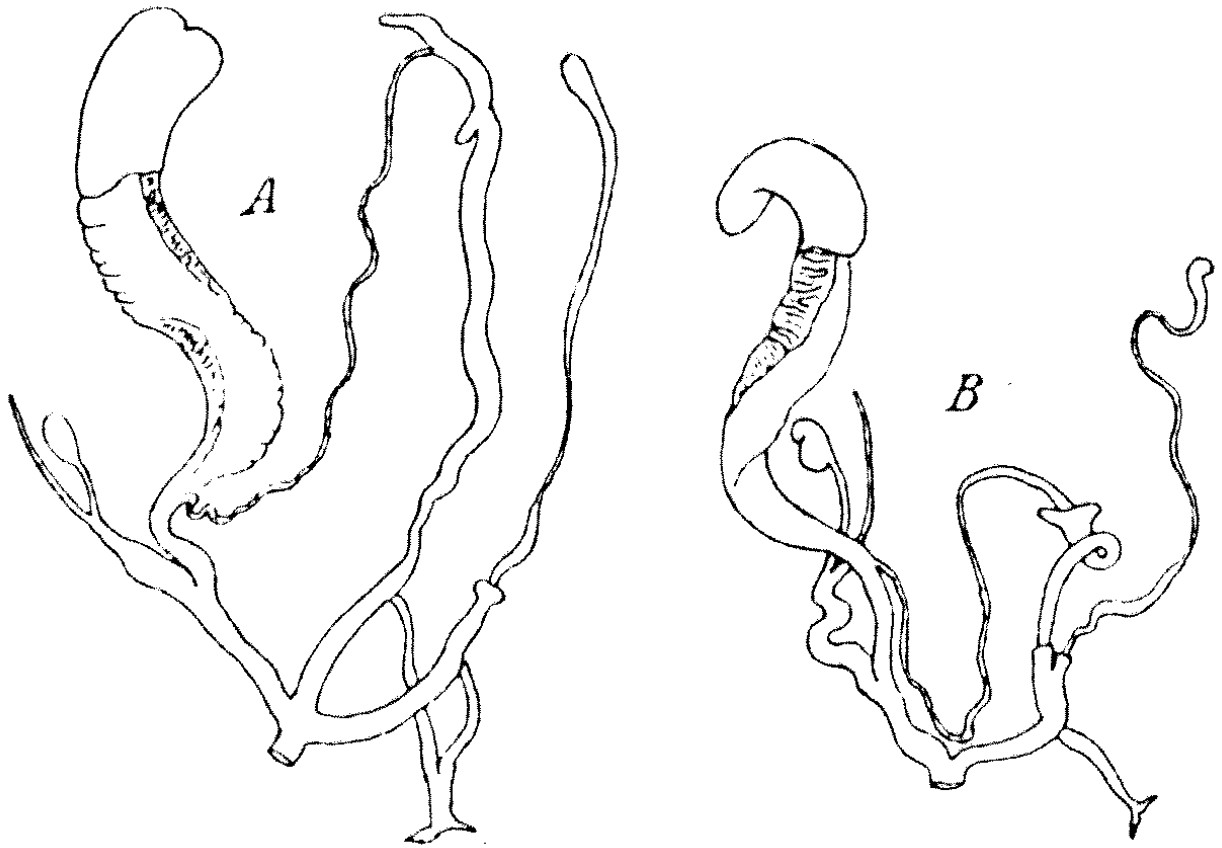


(<http://www.ne.jp>)

Πίνακας 3.13: Μετρήσεις κελυφικών παραμέτρων του *Zebrina fasciolata* (n= αριθμός ατόμων, p = πληθυσμοί),(Εικόνα 3.18).

n=23, p=4	SH	SD	MH	MD	W
Average	16.80	6.85	6.51	5.86	6.83
Min	14.93	6.21	5.71	5.03	6.00
Max	19.20	7.76	7.50	6.59	7.00

Αναπαραγωγικό σύστημα: Στην εργασία του Hesse, 1933 παρατίθεται η ανατομή του αναπαραγωγικού συστήματος της *Zebrina fasciolata*.



Εικόνα 3.18: Αναπαραγωγικό σύστημα της *Zebrina fasciolata* όπως το έχει δώσει ο Hesse (το 1933). A: Άτομο από την Συρία (πόλη Allepo), B: Άτομο από την Ελλάδα (Ρόδος)

3.2 Μοριακές αναλύσεις.

Στις μοριακές αναλύσεις συμπεριλήφθησαν συνολικά 29 αλληλουχίες με μέγιστο μήκος 382bp και ελάχιστο τις 282bp. Επειδή μόνο τρεις αλληλουχίες είχαν μήκος μεγαλύτερο των 340bp και ανήκανε σε διαφορετικά γένη ουσιαστικά η σύγκριση έγινε ανάμεσα σε αλληλουχίες μήκους 295 – 304bp όπου κυμαινόταν η μεγάλη πλειοψηφία των αλληλουχιών. Με τη βοήθεια του jModelTest το μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης που επιλέχθηκε και από το jModelTest ήταν το GTR+G (-lnL = 3228.4878) με παράμετρο γάμμα για τις μεταβλητές θέσεις $\alpha = 0.3120$. Οι συχνότητες των νουκλεοτιδίων για τις μεταβλητές θέσεις στο 16S rRNA είναι: A=0.4022%, T=0.3378%, C=0.0992% και G=0.1608% ενώ οι ρυθμοί υποκατάστασης μεταξύ διαφορετικών νουκλεοτιδίων ισούνται με: [A-C]=1.6488, [A-G]=4.0187, [A-T]=0.8697, [C-G]= 0.3514, [C-T]= 7.2996 και [G-T]=1.0000.

3.2.1 Υπολογισμός γενετικών αποστάσεων.

Οι γενετικές αποστάσεις (ανα ζεύγος αλληλουχιών) εκτιμήθηκαν για τους κλάδους που προέκυψαν από τις φυλογενετικές αναλύσεις με βάση το μοντέλο Tamura-Nei (Tamura & Nei, 1993), μέσω του φυλογενετικού προγράμματος MEGA (v 4.0, Tamura et al. 2007). Με το ίδιο μοντέλο υπολογίστηκε και η γενετική απόσταση μεταξύ των αλληλουχιών του κάθε κλάδου. Με βάση την τοπολογία του δέντρου (Εικόνα 3.19) οι διάφοροι κλάδοι εξετάστηκαν ως προς την μεταξύ τους γενετική απόσταση καθώς και την απόσταση μεταξύ των αλληλουχιών του κάθε κλάδου (Πίνακες 3.14 , 3.15).

Πίνακας 3.14: Μέση γενετική απόσταση (%) μεταξύ των κλάδων σύμφωνα με το μοντέλο Tamura-Nei.

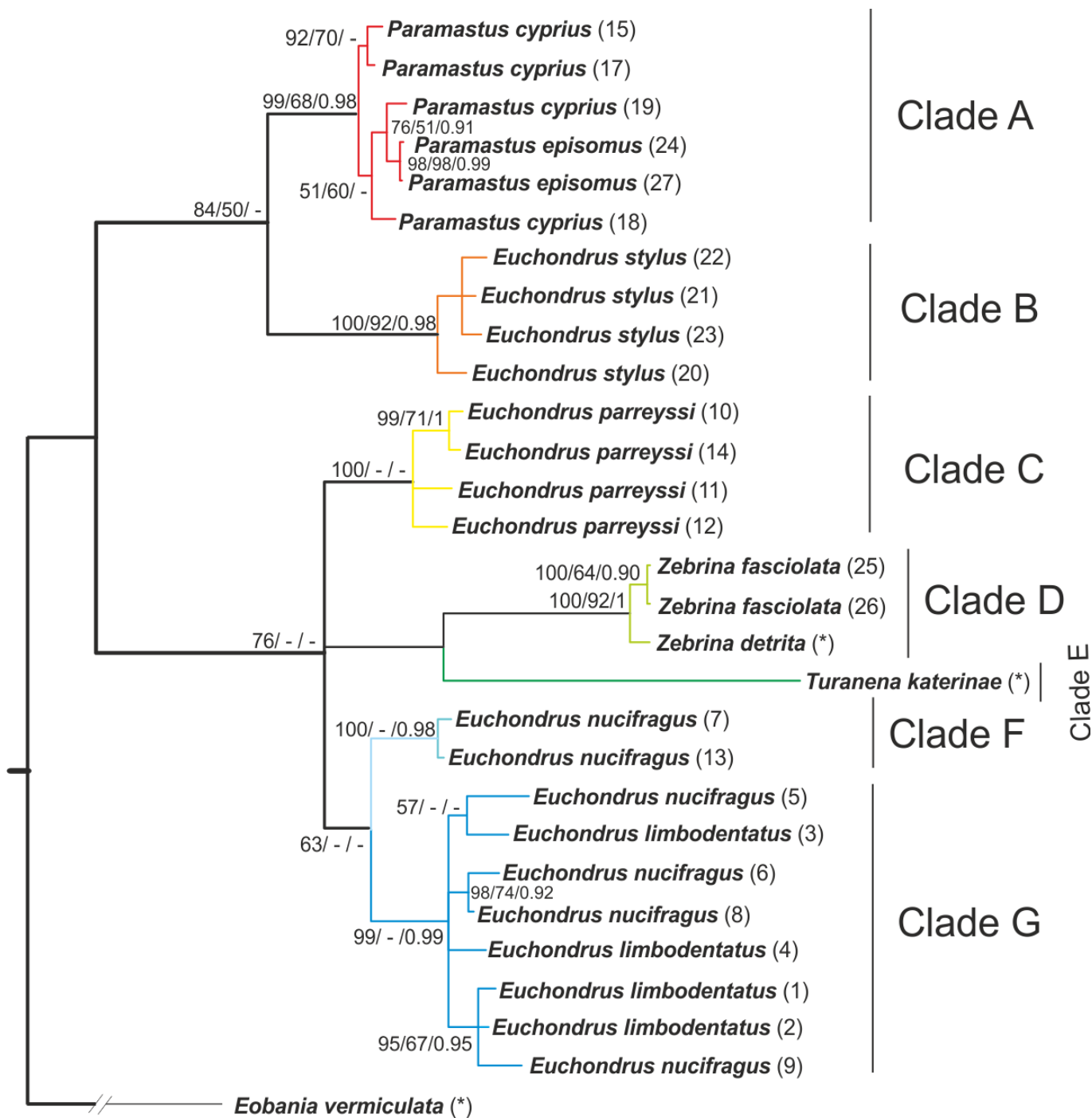
Clade	G	F	C	A	B	D	E
G							
F	0.25						
C	0.30	0.31					
A	0.48	0.47	0.42				
B	0.49	0.51	0.49	0.33			
D	0.37	0.38	0.40	0.42	0.49		
E	0.48	0.45	0.48	0.56	0.52	0.43	
Outgroup	0.73	0.66	0.81	0.70	0.69	0.73	0.78

Πίνακας 3.15: Μέση γενετική απόσταση (%) μέσα στα άτομα που αποτελούν τον κάθε κλάδο των κλάδων σύμφωνα με το μοντέλο Tamura-Nei.

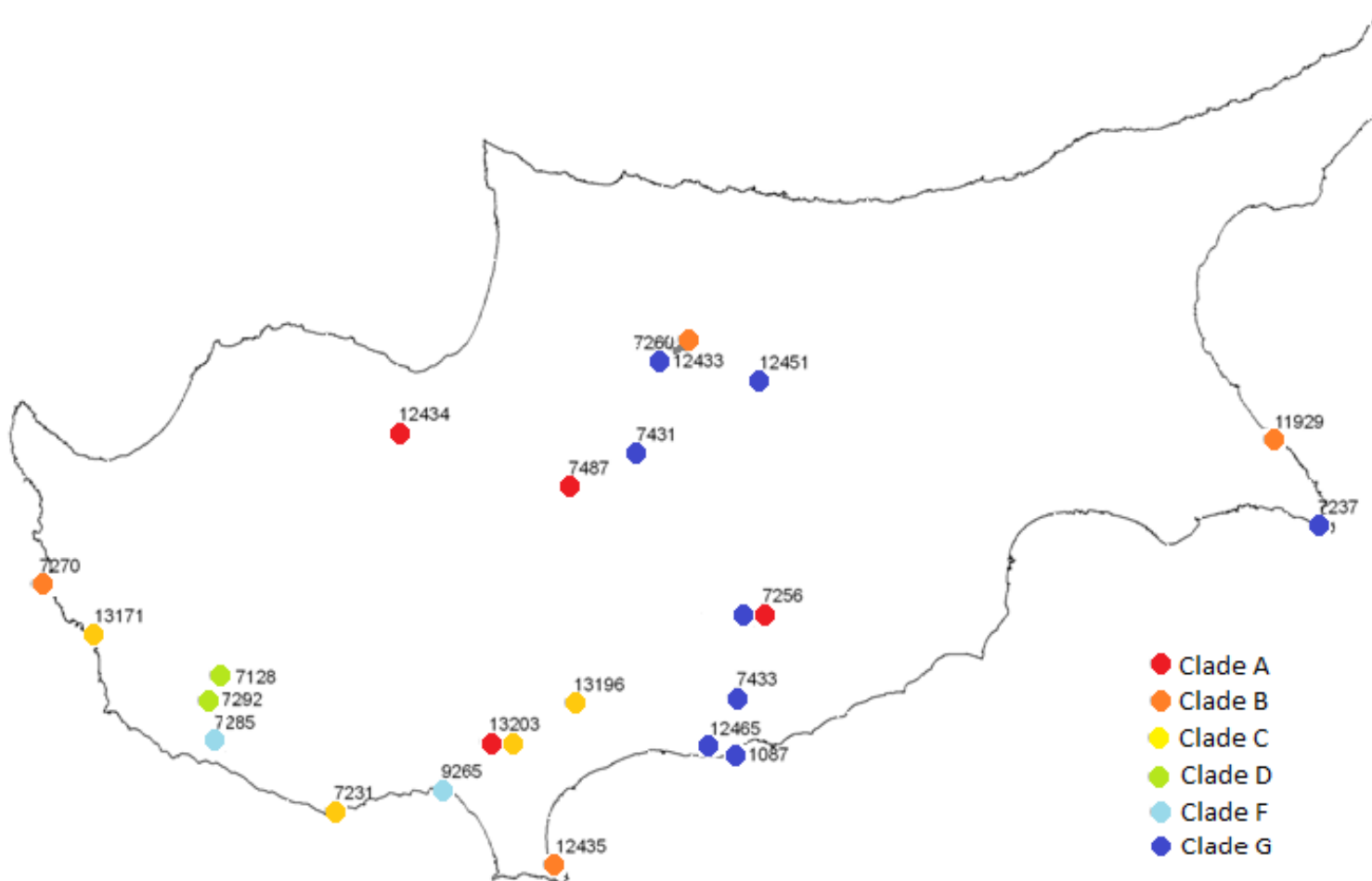
Κλάδος	% Γενετική απόσταση
Clade A	0.0654
Clade B	0.0875
Clade C	0.1188
Clade D	0.0379
Clade F	0.0302
Clade G	0.1346

3.2.2 Τοπολογία.

Για την παρουσίαση των φυλογενετικών σχέσεων επιλέχθηκε η τοπολογία της Μπεϋζιανής Συμπερασματολογίας καθώς θεωρείται η ανάλυση που μπορεί να παράγει ασφαλέστερα αποτελέσματα και ιδιαίτερα για σύνολα δεδομένων που χαρακτηρίζονται από υψηλή γενετική ποικιλότητα (Huelsenbeck et al, 2001) όπως το παρόν. Οι άλλες δύο (ML & NJ) χρησιμοποιούνται ως προσθετική και συγκριτική πληροφορία στην τοπολογία και την υποστήριξη των διαφόρων κλάδων.



Εικόνα 3.19: Κλαδόγραμμα όπως προέκυψε από την ανάλυση της Μπεϋζουανής Συμπερασματολογίας (B.I). Στους κλάδους αναγράφονται οι εκ των υστέρων πιθανότητες για την B.I (>90%) και οι τιμές bootstrap (≥50%) για ML και NJ όπως φαίνονται από δεξιά προς τα αριστερά.



Χαρτης 2: Τοποθεσίες πο τις οποίες προέρχονται τα άτομα που συμπεριλήφθηκαν στις μοριακές αναλύσεις. Οι αριθμοί αναφέρονται στους κωδικούς του Μ. Φ. Ι. Κ. όπου αντιστοιχούν σε συγκεκριμένη τοποθεσία και χρόνο.

4. Συζήτηση

Όπως έγινε αντιληπτό ήδη από τα διαφορετικής φύσεως δεδομένα που παρατίθενται στην εργασία αυτή κανένα σετ δεδομένων από μόνο του δεν μπορεί να καθορίσει τις σχέσεις μεταξύ των Enidae στην Κύπρο.

Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν τα διάφορα κελυφικά χαρακτηριστικά και το αναπαραγωγικό σύστημα όλων των ειδών σε μια προσπάθεια να διακριθούν όσο το δυνατόν καλύτερα τα είδη μεταξύ τους. Δυστυχώς δεν είχαμε καθόλου δείγματα από τα είδη *Buliminus carneus*, *Bollingeria lamellifera*, *Euchondrus ledereri* και *Jaminia loewii*. Το *Buliminus carneus* πιθανότατα δεν υπάρχει στο νησί καθώς δεν έχει αναφερθεί από το 1898 (Boettger). Τα *Bollingeria lamellifera*, *Euchondrus ledereri* και *Jaminia loewii* πιθανότατα υπάρχουν μόνο στο κατεχόμενο μέρος του νησιού και δεν ήταν δυνατό να εξασφαλιστούν δείγματα.

Παρόλα αυτά μέσα από τις βιβλιογραφικές αναφορές τις περιγραφές τα σκίτσα και τις φωτογραφίες των κελυφών και του αναπαραγωγικού συστήματος υπάρχουν μεγάλες και ευδιάκριτες διαφορές ανάμεσα σε αυτά τα είδη που δεν έχουμε δείγματα. Επίσης ξεχωρίζουν εύκολα και από τα είδη που έχουμε δείγματα. Από τα υπόλοιπα είδη που μελετήθηκαν ήταν διακριτές οι διαφορές ανάμεσα στα γένη *Paramastus*, *Zebrina*, *Euchondrus*, *Jaminia*, *Bollingeria* και *Turanena*. Υπήρχαν προβλήματα διάκρισης των ειδών του γένους *Euchondrus* και του γένους *Paramastus*.

Μελετώντας τα *Euchondrus* παρατηρούμε ότι υπάρχει μια σύγχυση στον διαχωρισμό των ειδών καθώς πέρα από το *Euchondrus stylus* που το κέλυφος του αλλά και το αναπαραγωγικό του σύστημα διαφέρει σημαντικά από τα υπόλοιπα *Euchondrus* της Κύπρου. Τα *Euchondrus parreyssi*, *Euchondrus limbodentatus* και *Euchondrus nucifragus* σε μερικές περιπτώσεις δύσκολα μπορούν να διαχωριστούν μεταξύ τους καθώς υπάρχει επικάλυψη στις κελυφικές μορφές σε πολλές περιπτώσεις. Επιπλέον και το αναπαραγωγικό σύστημα δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν κριτήριο λόγω της μεγάλης ομοιότητας. Επομένως ανάμεσα στα είδη *E. parreyssi*, *E. limbodentatus* και *E.s nucifragus* υπάρχουν κάποιες περισσότερο και κάποιες λιγότερο διακριτές μορφές. Το πρόβλημα με αυτά τα είδη είναι ότι αν και υπάρχουν χαρακτηριστικές διαφορές ανάμεσα σε μερικά άτομα δεν υπάρχουν ξεκάθαρα όρια που να ξεχωρίζουν τα είδη μεταξύ τους.

Παρόλα αυτά οι κελυφικές διαφορές είναι πιο έντονες και ξεκάθαρες μεταξύ του *Euchondrus parreyssi* και των *Euchondrus limbodentatus* και *Euchondrus nucifragus* τα οποία πιο δύσκολα ξεχωρίζουν μεταξύ τους.

4.1 *Paramastus cyprius*

Όσον αφορά τα *Paramastus*, 3 από τους 11 πληθυσμούς που εξετάστηκαν φαίνεται να διαφοροποιούνται από τους υπόλοιπους ως προς τον λόγο των παραμέτρων 1/2 του αναπαραγωγικού συστήματος, ενώ όσον αφορά το κέλυφος είναι όλα του τύπου Β ή C της εικόνας 3.1 ως προς την παράμετρο SD. Επιπλέον όπως είδαμε στα αποτελέσματα διαφορές υπάρχουν και στο αναπαραγωγικό σύστημα αλλά και στο κέλυφος (πρωτοκόγχη) των Κυπριακών και των Ισραηλιτικών *Paramastus*.

Συνοψίζοντας παρατηρούμε ότι υπάρχει μεγάλη ποικιλομορφία ανάμεσα σε διαφορετικούς πληθυσμούς ως προς την παράμετρο SD (πλάτος) των κυπριακών *Paramastus* και σημαντικές διαφορές στον λόγο των παραμέτρων 1/2 του αναπαραγωγικού συστήματος. Παρ' όλα αυτά τα μοριακά δεδομένα δεν διαφοροποιούν τα Κυπριακά *Paramastus* μεταξύ τους ή από τα Ισραηλιτικά *Paramastus*. Αξίζει να σημειωθεί ότι μερικά άτομα *Paramastus cyprius* βρίσκονται τοπολογικά στο κλαδόγραμμα πιο κοντά στα Ισραηλιτικά *Paramastus episomus* παρά μεταξύ τους. Αρα τα *Paramastus* της Κύπρου είναι *Paramastus episomus* και το *Paramastus cyprius* θεωρείται πλέον συνώνυμο.

4.2 *E. limbodentatus* - *E. nucifragus*

Μελετώντας τα είδη *E. limbodentatus* και *E. nucifragus* δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές δομικές διαφορές στα κελύφη ανάμεσα στα άτομα πληθυσμών που αποτελούν τα δυο είδη. Ουσιαστικά οι κελυφικές διαφορές που διέκριναν μέχρι σήμερα τα *E. limbodentatus* από τα *E. nucifragus* ήταν: α) το μεγαλύτερο μέγεθος του κελύφους, β) το πιο παχύ χείλος γ) το μεγαλύτερο palatalis inferior δόντι από το palatalis superior, σε αντίθεση με το *E. nucifragus* που τα δύο δόντια είναι λίγο πολύ ίσα. Παρόλα αυτά οι κελυφικές παράμετροι που μετρήθηκαν για τα δύο αυτά είδη δεν μπορούσαν από μόνες τους να είναι ειδοδιακριτικές καθώς παρουσίαζαν μεγάλη επικάλυψη. Επιπλέον ακόμα και οι ποιοτικοί κελυφικοί χαρακτήρες όπως είναι το πιο παχύ χείλος ή η αναλογία του μεγέθους των δοντιών δεν είναι πάντα σταθεροί ανάμεσα στα δύο είδη και επομένως ούτε αυτοί μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την διάκριση των ειδών αυτών. Πέρα από τα κελυφικά χαρακτηριστικά ούτε και οι μετρήσεις των παραμέτρων του αναπαραγωγικού συστήματος φανέρωσαν οποιαδήποτε διαφορά ανάμεσα στα δύο είδη. Τέλος μετά από την αλληλούχιση μέρους του 16S rRNA και τη σύγκριση των αλληλουχιών 4 ατόμων *E. limbodentatus* και 6 ατόμων *E. nucifragus* από διαφορετικούς πληθυσμούς φαίνεται ότι δεν υπάρχει ούτε σε αυτό το επίπεδο κάποια διαφορά που να μπορεί να διακρίνει τα δύο είδη μεταξύ τους καθώς μερικά άτομα *E. limbodentatus* είναι τοπολογικά στο φυλλογενετικό δέντρο πιο κοντά σε άτομα *E. nucifragus* παρά μεταξύ τους.

Επομένως δεν υπάρχουν σημαντικά στοιχεία που να δικαιολογούν τον διαχωρισμό των *E. limbodentatus* και *E. nucifragus*. Το όνομα *E. nucifragus* παραμένει καθώς είναι παλαιότερο από το *E. limbodentatus* που πλέον θεωρείται συνώνυμο του *E. nucifragus*

4.3 *E. nucifragus* - *E. parreyssi*

Ανάμεσα στα είδη *E. nucifragus* και *E. parreyssi* υπάρχουν σημαντικές κελυφικές διαφορές οι οποίες φαίνονται από τις περιγραφές των ειδών που παρατίθενται πιο πάνω. Σε μερικές περιπτώσεις όμως μερικά άτομα *E. nucifragus* με πολύ μικρά, όχι καλά ανεπτυγμένα και δυσδιάκριτα δόντια και παχύ χείλος είναι δυνατόν να μπερδευτούν με άτομα του είδους *E. parreyssi*. Όμως το κωνικό σχήμα του μισού πάνω μέρους του κελύφους αλλά και το ύψος της τελευταίας σπείρας ξεχωρίζουν τα άτομα αυτά από τα άτομα του είδους *E. nucifragus* που έχουν πιο κυλινδρικό κέλυφος που σχηματίζει μεγαλύτερη γωνία στην πρωτοκόγχη αλλά και μεγαλύτερο ύψος τελευταίας σπείρας.

Παρ' όλα αυτά το αναπαραγωγικό τους σύστημα δεν φαίνεται να διαφέρει στις παραμέτρους που μελετήθηκαν, πέρα από το μέγεθος του caecum που είναι ελαφρώς μικρότερο στο *E. parreyssi*. Όπως αναφέρεται στα αποτελέσματα συνήθως τα άτομα με κελυφικά χαρακτηριστικά *E. parreyssi* είχαν το caecum ακριβώς στο τέλος του επίφαλλου (έναρξη ελεύθερου αγωγού) ενώ τα άτομα με κελυφικά χαρακτηριστικά *E. nucifragus* είχαν το caecum λίγο πριν το τέλος του επίφαλλου χωρίς αυτό να είναι απόλυτο σε καμία από τις δύο περιπτώσεις. (βλ εικόνα 3.13).

Στις μοριακές αναλύσεις συμπεριλήφθηκαν άτομα από το είδος *E. nucifragus* με διαφορετική θέση έκφυσης του caecum και η ανάλυση αυτή δεν έδειξε διαφοροποίηση ανάμεσα στα άτομα με την διαφορά αυτή. Τα άτομα 13 και 7 στο δέντρο αντιπροσωπεύουν άτομα με διαφορετική θέση έκφυσης του caecum.

Οι μοριακές αναλύσεις και τα κελυφικά χαρακτηριστικά των ειδών *E. nucifragus* και *E. parreyssi* φανερώνουν σημαντικές ειδοδιακριτικές διαφορές οι οποίες αν και υποστηρίζονται από τους ποιοτικούς κελυφικούς χαρακτήρες όμως δεν υποστηρίζονται από τις μελετώμενες παραμέτρους του αναπαραγωγικού συστήματος.

4.4 *Euchondrus stylus*

Το *Euchondrus stylus* αν και με την υπάρχουσα ταξινόμηση ανήκει στο γένος *Euchondrus* διαφέρει εμφανώς και σημαντικά από τα υπόλοιπα *Euchondrus* που βρίσκονται στην Κύπρο σε πολλά ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά τόσο του κελύφους όσο και του αναπαραγωγικού συστήματος όπως είδαμε στα αποτελέσματα. Επιπλέον οι μοριακές αναλύσεις έδειξαν ότι είναι παραφυλετικό σε σχέση με τα υπόλοιπα *Euchondrus* της Κυπρου που είναι μονοφυλετικά μεταξύ τους. Καταλαβαίνουμε λοιπόν ότι υπάρχουν πολλές και σημαντικές διαφορές ανάμεσα στο *Euchondrus stylus* και τα υπόλοιπα *Euchondrus* της Κύπρου. Συγκρίνοντας μεταξύ τους τα αποτελέσματα παρατηρούμε ότι τα κελυφικά χαρακτηριστικά αλλά και τα χαρακτηριστικά του αναπαραγωγικού συστήματος του *Euchondrus stylus* μοιάζουν πάρα πολύ με αυτά του *Bollingeria lamellifera*. Μεταξύ των δύο αυτών ειδών παρατηρούνται διαφορές στον αριθμό και στο σημείο έκφυσης των δοντιών στο άνοιγμα ενώ στο αναπαραγωγικό φαίνεται να διαφέρουν ως προς το σχήμα της σπερματοθήκης και το μήκος του appendix. Παρα τις διαφορές αυτές το *Euchondrus stylus* με βάση τα κελυφικά χαρακτηριστικά και τα χαρακτηριστικά του αναπαραγωγικού συστήματος είναι πιο συγκενικό με το *Bollingeria lamellifera* παρά με οποιοδήποτε άλλο *Euchondrus*. Συνθέτοντας τα μοριακά δεδομένα τα κελυφικά χαρακτηριστικά αλλά και τα χαρακτηριστικά του αναπαραγωγικού συστήματος καταλήγουμε στην διαπίστωση ότι το *Euchondrus stylus* δεν ανήκει στο γένος *Euchondrus* αλλά ανήκει στο γένος *Multidentula*. Συμφωνα με την βάση δεδομένων Fauna eurorea στην Κύπρο υπάρχει *Multidentula stylous* και όχι *Euchondrus stylous*.

4.5 *Bollingeria lamellifera*

Συγκρίνοντας μεταξύ τους τις φωτογραφίες του κελύφους αλλά και του αναπαραγωγικού συστήματος διακρίνουμε αρκετές ομοιότητες και μικρές διαφορές ανάμεσα στο *Euchondrus stylus* και το *Bollingeria lamellifera*. Συνώνυμο του *Bollingeria lamellifera* είναι το *Multidentula lamellifera*. Με τα στοιχεία αυτά καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι τα είδη και *Bollingeria lamellifera* ανήκουν στο ίδιο γένος. Με δεδομένα και τα όσα αναφέρθηκαν πιο πάνω για το *Multidentula lamellifera* το *Bollingeria lamellifera* πρέπει να ονομάζεται *Multidentula lamellifera*.

4.6 *Turanena katerinae*

Για το *Turanena katerinae* της Κύπρου και της Κρήτης έγιναν οι μετρήσεις που αναφέρονται στα υλικά και μέθοδοι για το αναπαραγωγικό σύστημα αλλά και τους κελυφικούς χαρακτήρες. Συμφωνα με τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν σε αυτήν την εργασία και τα μοριακά δεδομένα (Mylonas, 2011) η *Turanena* της Κύπρου και της Κρήτης ανήκουν στο ίδιο είδος.

4.7 Συνδυασμός - Σύγκλιση – Απόκλιση δεδομένων.

Όπως φάνηκε και στην εργασία αυτή τα κελυφικά χαρακτηριστικά, τα χαρακτηριστικά του αναπαραγωγικού συστήματος αλλά και τα μοριακά δεδομένα, μπορεί να συμφωνούν ή να διαφωνούν με σχεδόν όλους τους δυνατούς τρόπους ως προς την κατάταξη των οργανισμών δυσκολεύοντας το έργο του εκάστοτε ερευνητή που θέλει να μελετήσει μια ομάδα οργανισμών. Στην εργασία αυτή είδαμε ότι:

- Τα κελυφικά χαρακτηριστικά, τα χαρακτηριστικά του αναπαραγωγικού συστήματος αλλά και τα μοριακά δεδομένα συμφωνούν ότι : α) Τα *Euchondrus limbodentatus* και *Euchondrus nucifragus* δεν είναι διαφορετικά είδη. β) Τα *Multidentula stylus* διαφέρουν σημαντικά από τα *Euchondrus*.
- Τα κελυφικά χαρακτηριστικά και τα μοριακά δεδομένα διαφοροποιούν τα *Euchondrus parreyssi* από τα *Euchondrus limbodentatus* και/ή *Euchondrus nucifragus* όμως στο αναπαραγωγικό τους σύστημα δεν παρατηρούνται οποιεσδήποτε διαφοροποιήσεις.
- Στην περίπτωση των *Paramastus cyprius* αν και τα κελυφικά χαρακτηριστικά και το αναπαραγωγικό σύστημα δηλώνουν την παρουσία δύο ειδών *Paramastus* στην Κύπρο τα μοριακά δεδομένα δεν διαφοροποιούν μεταξύ τους τα *Paramastus* της Κύπρου.
- Η μόνη περίπτωση που δεν παρατηρήθηκε στην εργασία αυτή είναι η περίπτωση σύμπτωσης των μοριακών δεδομένων και των χαρακτηριστικών του αναπαραγωγικού συστήματος με ταυτόχρονη διαφοροποίηση των κελυφικών χαρακτηριστικών.

Η σημασία των μοριακών δεδομένων σε κάποιες περιπτώσεις όπου τα μορφολογικά και ανατομικά δεδομένα δεν μπορούν να απαντήσουν τα ερευνητικά ερωτήματα είναι καθοριστική καθώς, δίνουν σημαντικά στοιχεία για τις φυλογενετικές σχέσεις των μελετούμενων τάξεων. Παρ'όλα αυτά ο παραγκωνισμός των μορφολογικών και ανατομικών δεδομένων δεν μπορεί να αποτελεί επιλογή καθώς τα μοριακά δεδομένα είναι πιο χρονοβόρα, πιο κοστοβόρα και απαιτούν εξειδικευμένα εργαστήρια. Τα μορφολογικά δεδομένα είναι

απαραίτητα στο πεδίο και αποτελούν την σπίθα της δημιουργίας ερευνητικών ερωτημάτων. Κανένας δεν αμφισβητεί την σημασία των μοριακών, των ανατομικών ή των μορφολογικών δεδομένων. Ο συνδιασμός όμως όλων αυτών ισχυροποιεί τα αποτελέσματα της εκάστοτε έρευνας τα οποία δύσκολα μπορεί να αμφισβητηθούν ή να διαψευσθούν από μεταγενέστερες εργασίες.

4.8 Κατανομές.

Παρατηρώντας τις κατανομές των *Epidae* στην Κύπρο παρατηρούμε ότι

- Το *Paramastus* κατανέμονται σε πιο υγρές και δασώδης περιοχές.
- Η συχνότητα εμφάνισης των *Euchondrus nucifragus* αυξάνεται από τα δυτικά προς τα ανατολικά ενώ απουσιάζει εντελώς από τις δυτικότερες περιοχές του νησιού. Αντίθετα η συχνότητα εμφάνισης των *Euchondrus parreyssi* αυξάνεται από τα ανατολικά προς τα δυτικά ενώ απουσιάζει εντελώς από τις ανατολικότερες περιοχές του νησιού. Δεν συντρέχουν κάποιοι ιδιαίτεροι οικολογικοί λόγοι που να δικαιολογούν το γεγονός χρειάζεται περισσότερη έρευνα για να κατανοήσουμε τους λόγους που οδήγησαν στην συγκεκριμένη κατανομή.
- Όσον αφορά το *Turanena*, είναι εντυπωσιακό το γεγονός ότι συναντάται στο Τρόδος σε περιοχές πολύ φτωχές σε ασβέστιο.

5. Συμπεράσματα.

- Για την σωστότερη ταξινόμηση των ειδών είναι απαραίτητα όσο το δυνατόν περισσότερα δεδομένα.
- Μερικοί κελυφικοί χαρακτήρες όπως είναι η παράμετρος SD (πλάτος) στα *Paramastus* της Κύπρου ή το πάχος του χείλους και το μέγεθος σε συνάρτηση με την θέση των δοντιών όπως είναι στα *Euchondrus limbodentatus* και *Euchondrus nucifragus* δεν είναι πάντα αξιόπιστοι ειδοδιακριτικοί χαρακτήρες.
- Μερικά χαρακτηριστικά του αναπαραγωγικού συστήματος όπως το σημείο έκφυσης των μυών και το μέγεθος του appendix δεν είναι πάντα αξιόπιστοι ειδοδιακριτικοί χαρακτήρες όπως φάνηκε στην περίπτωση των *Paramastus* της Κύπρου.
- Δεν υπάρχουν ικανοποιητικά δεδομένα που να διαχωρίζουν τα *Paramastus cyprius* και τα *P. episomus* σε 2 είδη. Το *P.cyprius* είναι συνώνυμο του *P. episomus*.
- Δεν υπάρχουν ικανοποιητικά δεδομένα που να διαχωρίζουν τα *Euchondrus limbodentatus* και *Euchondrus nucifragus* σε 2 είδη.
- Το *Euchondrus stylus* δεν ανήκει στο γένος *Euchondrus*
- Το *Euchondrus stylus* πιθανότατα ανήκει στο γένος *Multidentula*.
- Το *Multidentula stylus* και *Multidentula lamellifera* είναι συνώνυμα των *Euchondrus stylus* και *Bollingeria lamellifera* αντίστοιχα.
- Το *Buliminus carneus* πιθανότατα δεν υπάρχει στο νησί καθώς δεν έχει αναφερθεί από το 1898 (Boettger).
- Τα *Bollingeria lamellifera*, *Euchondrus ledereri* και *Jaminia loewii* πιθανότατα υπάρχουν μόνο στο κατεχόμενο μέρος του νησιού.
- Τα κελυφικά χαρακτηριστικά που χρησιμοποιήθηκαν για την καταταξη των ειδών ήταν κυρίως τα δόντια του κελύφους και τα μοριακά δεδομένα. Επιπλέον αναμεσα στα διαφορετικά γένη χρησιμες ήταν και οι πληροφορίες που προήλθαν από τις ανατομές του αναπαραγωγικού συστήματος.
- Η οικογένεια *Enidae* αντιπροσωπεύεται στην Κύπρο από 6 γένη και 9 είδη εκ των οποίων τα 3 είναι ενδημικά (*Euchondrus parreyssi*, *Euchondrus nucifragus*, *Multidentula stylus*).

6. Βιβλιογραφία.

Avise, J.C., 1994. Molecular Markers, Natural History and Evolution. New York: Chapman & Hall.

Avise, J.C., 2000. Phylogeography. The history and formation of species. Harvard University Press.

Avise, J.C., Arnold J., Ball R.M., Bermingham E., Lamb T., Neigel J.E., Reeb C.A., Saunders N.C., 1987. Intraspecific Phylogeography: The Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 18, 489-522.

Bank, R. A. & Hoverstadt, AD. 1991, Notes on Enidae, 3: Revision of the Enidae of Cyprus, p 1-25 (p957-982).

BAR, Z., 1973. The distribution of *Jaminia (Euchondrus) ledereri* (L. Pfeiffer, 1868) (Pulmonata, Enidae). *Argamon: Israel J. Malac.* 4(1): 1-5.

Bourguignat, J.R., 1857. Aménités malacologiques. - Revue et Magasin de Zoologie pure et appliquée (2) 9: 3-21, Pl. 1-4, 8-10. Paris.

Brown, W.M., 1983. Evolution of animal mitochondrial DNA. In: "Evolution of Genes and Proteins" (M Nei & RK Koehn, eds.), pp. 62-68, Sinauer, Sunderland MA.

Brown, W.M., George M., Wilson A.C., 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 76: 1967-1971.

Brown, W.M., Prager E.M., Wang A., Wilson A.C., 1982. Mitochondrial DNA sequences of Primates: Tempo and mode of Evolution. *Journal of Molecular Evolution* 18: 225- 239.

Collins, T.M., Kraus, F., Estabrook, G., 1994. Compositional effects and weighting of nucleotide sequences for phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 43: 449-459. compensatory change: the mitochondrial ribosomal DNA of antelopes. *Evolution* 48:188-196.

Culver, M., Menotti-Reymond, M.A., O'Brien, S.J., 2001. Pattern of size homoplasy at 10 microsatellite loci in pumas (*Puma concolor*). *Molecular Biology and Evolution* 18: 1151-1156.

Desalle, R., 1992. The phylogenetic relationships of flies in the family Drosophilidae deduced from mtDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 1: 31-40.

Desalle, R., Freedman T., Prager E.M., Wilson A.C., 1987. Tempo and mode of sequence evolution in mitochondrial DNA of Hawaiian *Drosophila*. *Journal of Molecular Evolution* 26: 157-164.

Felsenstein, J., 1985. Confidence-Limits on Phylogenies - an Approach Using the Bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.

Forcart, L. 1940. Monographie der türkischen Enidae (Moll., Pulm.). - Verhandlungen der Naturforschenden Gesellschaft in Basel 51 (1): 106-263, Taf. 1-3.

Fuchs, A., & F., Kaufel, 1936. Anatomische und systematische Untersuchungen an Land- und Siisswasserschnecken aus Griechenland und von den Inseln des aegaeischen Meeres. Arch. Naturgesch., Berlin, new ser. vol. 5, pp. 541-662.

Futuyama, D.J., 1991. Εξελικτική Βιολογία. Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, pp. 378.

Galtier, N., Gouy, M., 1995. Inferring phylogenies from DNA sequences of unequal base compositions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 93: 10274-10279.

Gatesy, J., Hayashi, C., De Salle, R., Vrba, E., 1994. Rate limits for mispairing and

Gebri, S.A., 1985. Evolution of ribosomal DNA. In: MacIntyre, R.J., ed. *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Plenum.

Gittenberger, E., 1973. Beiträge zur Kenntnis der Pupillacea. III. Chondrininae.-- Zool. Verh. Leiden, 127: 10-16.

Gittenberger, E., 1978. *Vitrea trolli* (Wagner) et *Ruthenica filograna* (Rossmässler) (Gastropoda, Pulmonata), nouvelles pour la France .-- Zoologische. Mededelingen. (Leiden), 53: 111-115.

Giusti, F. & Castagnolo, L., 1982. I molluschi terrestri delle dune italiane: brevi cenni di ecologia, elenco delle specie e chiavi per il loro riconoscimento. Consiglio Nazionale delle Ricerche, Pubblicazione AQ/1/174. Quaderni sulla "Struttura delle zoocenosi terrestri", 3. Ambienti Mediterranei, 1. Le Coste Sabbiose: 51-102.

Graur, D., Li, W.H., 1999. Fundamentals of molecular evolution. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates Inc.

Hagelberg, E., 1994. Bone DNA typing for forensic identification. Ancient DNA Newsletter, (2)1, 9-10.

Hatzoglou, E., Rodakis G.C., Lecanidou R., 1995. Complete sequence and gene

Heller, J., 1971, Revision of the genus *Paramastus*, Hesse (Enidae) by Joseph Heller, Department of Zoology, Hebrew University Jerusalem, p.263-273.

Heller, J., 1975, The taxonomy, distribution and faunal succession of *Bulhinus* (Pulmonata: Enidae) in Israel.

Heller, J., 2009, Land snails of the land of Israel: natural history and a field guide, pensoft.

Hesse, P., 1933. Zur Anatomie und Systematik der Familie Enidae. - Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie, Abteilung B, Archiv für Naturgeschichte (Zeitschrift für Systematische Zoologie) (Neue Folge) 2 (2): 145-224. Leipzig.

Hesse, P., 1934. Zur Anatomie und Systematik palaearktischer Stylommatophoren. Zweiter Teil. - Zoologica 33 (85): 1-59, Taf. 1-9. Stuttgart.

Hickson, R.E., Simon, C., Perrey, S.W., 2000. The performance of several multiple-sequence alignment programs in relation to secondary-structure features for an rRNA sequence. *Molecular Biology and Evolution* 17: 530-539.

Huelsenbeck, J.P., Bull, J.J., Cunningham, C.W., 1996. Combining data in phylogenetic analysis. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 152-158.

Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F., 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754-755.

Kornilios, P., Poulakakis N., Mylonas M. & Vardinoyannis K., 2009. The phylogeny and biogeography of the genus *Zonites* Montfort, 1810 (Gastropoda: Pulmonata): preliminary evidence from mitochondrial data. - *Journal of Molluscan Studies* 75 (3): 109-117.

Ladoukakis, E.D., Zouros, E., 2001. Direct evidence for homologous recombination in Mussel (*Mytilus galloprovincialis*) mitochondrial DNA. *Molecular Biology and Evolution* 18: 1168-1175.

Maassen, W., J., M., 1995. Observations on the genus *Mastus* from Crete (Greece), with descriptions of twelve new species (Gastropoda Pulmonata: Buliminidae) *Basteria*, 59:31 – 64

Maria. R. Alonso et al, 2006. Canarian land snail diversity: conflict between anatomical and molecular data on the phylogenetic placement of five new species of *Napaeus* (Gastropoda, Pulmonata, Enidae).

Mau, B., Newton, M., Larget, B., 1999. Bayesian phylogenetic inference via Markov chain Monte Carlo. *Biometrics* 55: 1-12.

McClure, M.A., Vasi, T.K., Fitch, W.M., 1994. Comparative analysis of multiple proteinsequence alignment methods. *Molecular Biology and Evolution* 11: 571-592.

Michel-Salzat, A., Bouchon, D., 2000. Phylogenetic analysis of mitochondrial LSU rRNA in oniscids. *Comptes Rendu de la Academie des Sciences de la vie/Life Sciences* 323: 827- 837.

Moritz C., Dowling T., E. and Brown W., M., 1987. Evolution of Animal Mitochondrial DNA: Relevance for Population Biology and Systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*,18, 269-292.

Mousson, A., 1861. Coquilles terrestres et fluviatiles recueillies par M. le Prof. J. R. Roth dans son dernier voyage en Orient. - Vierteljahrsschrift der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich 6: 1-34, 124-156.

Mousson, A., 1854. Coquilles terrestres et fluviatiles recueillies par M. le Prof. Bellardi dans un voyage en Orient. - pp. 1-59, Pl. [1]. Zürich. (Zurcher & Furrer).

Nei, M., Kumar, S., 2000. Molecular evolution and phylogenetics. Oxford, New York: Oxford University Press Inc.organization of the mitochondrial genome of the land snail *Albinaria coerulea*. *Genetics* 140: 1353-1366.

Örstan A., & Yildirim, M., Z., 2003. Conchological and genitalic comparisons of *Jaminia loewii* populations in Turkey (Gastropoda: Pulmonata: Enidae). *Zoology in the Middle East*, 28:67-76.

Page, R.D.M., Holmes, E.C., 1998. Molecular Evolution. A Phylogenetic Approach. Blackwell Science Ltd.

Pall-Gergely, 2009. Journal of Conchology (Established 1874) Vol.40, Part1, October 2009, B Revision of the Turkish *Ramusculus* taxa with description of *Ayna* gen. nov p73 (Gastropoda: Pulmonata : Enidae).

Parmakelis, A., 2003. Διδακτορική διατριβή: Η διαφοροποίηση του γένους *Mastus* (Gastropoda, Pulmonata, Buliminidae) στον Ελλαδικό χώρο. Μια συγκριτική μελέτη με μεθόδους οικολογίας, μορφομετρίας και μοριακής ανάλυσης.

Parmakelis, A., and Mylonas, M., 2002. Aspects of the reproduction and activity of two sympatric *Mastus* (Beck,1837) species in Crete (Gastropoda: Pulmonata: Buliminidae), *Journal of Molluscan Studies* Volume68, Issue3 Pp. 225-233.

Pokryszko B., M., 1997. Land snail apertural barriers – adaptation or hindrance? (Gastropoda: Pulmonata). *Malakologische Abhandlungen Staatliches Museum für Tierkunde Dresden* 18:239-247.

Pokryszko, B., M., 1990. The Vertiginidae of Poland (Gastropoda: Pulmonata: Pupilloidea) - a systematic monograph. *Ann. Zool.* 43: 139-148.

Posada, D., 2008. jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25: 1253-1256.

Proschwitz, T., 1993. Habitat selection and distribution of ten vertiginid species in the province of Dalsland (SW. Sweden) (Gastropoda, Pulmonata: Vertiginidae). –

Malakologische Abhandlungen Staatliches Museum für Tierkunde Dresden 16 (21): 177-212.

Rannala, B. & Yang, Z.H., 1996. Probability distribution of molecular evolutionary trees: A new method of phylogenetic inference. *Journal of Molecular Evolution* 43: 304-311.

Saitou, N., Nei, M., 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425.

Schileyko, A. A., 1998, Treatise on recent terrestrial Pulmonate mollusks, part 2, Ruthenica, Supplement 2, p182- 247.

Schütt, H., 1995. Diagnosen türkischer Eniden (Gastropoda: Buliminoidea: Buliminidae). Malakologische Abhandlungen 17 (13): 161-166. Dresden.

Schütt, H., 2005. Turkish Land Snails: 4th, revised and enlarged edition, Verlag Natur & Wissenschaft.

Shileyko A., A., 1984. Nazemnyye mollyuski podotryada *Pupillina* fauny SSSR (Gastropoda: Pulmonata: Geophila). Fauna SSSR Mollyuski 3, 3, Leningrad, pp 399.

Solem, A., 1972. Microarmature and barriers in the aperture of land snails. *The Veliger* 15(2):81-87.

Solem, A., 1976. Endodontoid land snails from Pacific Islands (Mollusca : Pulmonata : Sigmurethra) I Endodontidae. Chicago, XII + 508 pp.

Stamatakis, A., Hoover, P., Rougemont, J., 2008. A Fast Bootstrapping Algorithm for the RAxML Web-Servers. *Systematic Biology* 57: 758-771.

Studier, J.A., Keppler, K.J., 1988. A note on the neighbor-joining algorithm of Saitou and Nei. *Molecular Biology and Evolution* 5: 729-731.

Swofford, D.L., Olsen, G., 1990. Phylogeny reconstruction. In: Hillis, D.M., Moritz, C., Mable, B.K., eds. *Molecular Systematics* 2nd edition. Sunderland: Sinauer Associates Inc.

Tamura, K., Dudley, J., Nei, M., Kumar, S., 2007. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24: 1596-1599.

Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, B.F., Jeanmougin, F., Higgins, D.G., 1997. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment by quality analysis tool. *Nucleic Acids Research* 25, 4876–4882.

Thompson, J.D., Higgins, D.G, Gibson, T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positionspecific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673-4680.

Wilson, A.C., Cann, R.L., Carr S.M., George M., Jr., Gyllensten U.B., Helm Bychowski K., Higuchi R.C., Palumbi S.R., Prager E.M., Sage, R.D., Stoneking M., 1985. Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biological Journal of the Linnean Society* 26: 375-400.

Yang, Z., 1996. Among site variation and its impact on phylogenetic analyses. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 367-371.

Yang, Z., Rannala, B., 1997. Bayesian phylogenetic inference using DNA sequences: A Markov Chain Monte Carlo method. *Mol Biol Evol* 14: 717-724.

Zhang, D.X., Hewitt, G.M., 2003. Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects. *Molecular Ecology* 12: 563-584.

Zilch, A., 1951. Ergebnisse zoologisch-geologischer Sammelreisen H. Kaltenbach's in NO-Afrika, 5: Familie Enidae. - *Archiv für Molluskenkunde* 80: 38-39.

Zouros, E., Ball, O., Saavedra, C., Freeman KR. 1994. Mitochondrial DNA inheritance. *Nature* 368:818.

7. Παραρτήματα.

7.1: Είδη που αντιπροσωπεύουν την οικογένεια Epidae στην ανατολική Μεσόγειο

*Τα είδη που ακολουθούν προέρχονται από τις εργασίες: α)Bank & Hovestadt (1991), β)Schutt H. (2005), γ)Schileyko (1998), δ) Heller J. (2009), και τις βάσεις δεδομένων: 1) animalbase.org , 2)Βάση δεδομένων Μουσίου Φυσικής Ιστορίας Κρήτης.

Κύπρος

<i>Bollingeria lamellifera</i>
<i>Buliminus carneus</i>
<i>Euchondrus ledereri</i>
<i>Euchondrus limbodentatus</i>
<i>Euchondrus nucifragus</i>
<i>Euchondrus parreyssi</i>
<i>Euchondrus stylus</i>
<i>Jaminia loewii</i>
<i>Paramastus cyprius</i>
<i>Turanena katerinae</i>
<i>Zebrina fasciolata</i>

Ιορδανία

<i>Buliminus alepensis</i>
<i>Buliminus carneus</i>
<i>Buliminus diminutus</i>
<i>Buliminus glabratus</i>
<i>Buliminus labrosus</i>
<i>Buliminus therinus</i>
<i>Euchondrus albulus</i>
<i>Euchondrus ledereri</i>
<i>Jaminia borealis</i>
<i>Pene sidoniensis</i>
<i>Zebrina fasciolata</i>

Λίβανος

<i>Buliminus alepensis</i>
<i>Buliminus carneus</i>
<i>Buliminus labrosus</i>
<i>Buliminus lamprostatus</i>
<i>Buliminus therinus</i>
<i>Chondrula microtragus</i>
<i>Chondrula tridens</i>
<i>Euchondrus albulus</i>
<i>Euchondrus ledereri</i>
<i>Euchondrus ovularis</i>
<i>Euchondrus saulcyi</i>
<i>Euchondrus septemdentatus</i>
<i>Euchondrus sulcidens</i>
<i>Jaminia borealis</i>
<i>Jaminia septemdentata</i>
<i>Ljudmilena (?) weneri</i>
<i>Paramastus episomus</i>
<i>Pene kotschy</i>
<i>Pene sidoniensis</i>
<i>Pene syriacus</i>
<i>Zebrina fasciolata</i>

Συρία

<i>Bollingeria lamellifera</i>
<i>Buliminus alepensis</i>
<i>Buliminus carneus</i>
<i>Buliminus exquisitus</i>
<i>Buliminus jordani</i>
<i>Buliminus kotschy</i>
<i>Buliminus labrosus</i>
<i>Chondrula tridens</i>
<i>Ena nogellii</i>
<i>Euchondrus albulus</i>
<i>Euchondrus ledereri</i>
<i>Euchondrus ovularis</i>
<i>Euchondrus saulcyi</i>
<i>Euchondrus septemdentatus</i>
<i>Georginapaeus hohenackeri</i>
<i>Paramastus episomus</i>
<i>Paramastus oligogyrus</i>
<i>Pene auriculata</i>
<i>Pene brunneus</i>
<i>Pene kotschy</i>
<i>Pene sidoniensis</i>
<i>Pene syriacus</i>
<i>Pseudochondrula arctespira</i>
<i>Turanena hermonensis</i>
<i>Zebrina detrita</i>
<i>Zebrina eburnea</i>
<i>Zebrina fasciolata</i>

Toupkia

<i>Akramovskiella andronakii</i>
<i>Akramovskiella umbrosa</i>
<i>Andronakia catenulata</i>
<i>Ayna mienisi</i>
<i>Borlumastus yildirimi</i>
<i>Buliminus akkumensis</i>
<i>Buliminus alepensis</i>
<i>Buliminus carneus</i>
<i>Buliminus corpulentus</i>
<i>Buliminus exquisitus</i>
<i>Buliminus gallandi</i>
<i>Buliminus labrosus</i>
<i>Buliminus lycicus</i>
<i>Chondrula bicallosa</i>
<i>Chondrula diodon</i>
<i>Chondrula jaczewskii</i>
<i>Chondrula lycaonica</i>
<i>Chondrula microtragus</i>
<i>Chondrula orientalis</i>
<i>Chondrula sturmii</i>
<i>Chondrula tridens</i>
<i>Chondrula vaderi</i>
<i>Chondrula weneri</i>
<i>Chondrula weneri</i>
<i>Chondrus tournefortianus</i>
<i>Chondrus zebrula</i>
<i>Clausilioides biplicatus</i>
<i>Ena dazimonensis</i>
<i>Ena frivaldskyi</i>
<i>Ena menkhorsti</i>
<i>Ena nogellii</i>
<i>Ena yildirimi</i>
<i>Euchondrus borealis</i>
<i>Euchondrus ledereri</i>
<i>Euchondrus septemdentatus</i>
<i>Georginapaeus hohenackeri</i>
<i>Imparietula altenai</i>
<i>Imparietula brevior</i>
<i>Imparietula leucodon</i>
<i>Imparietula pelidne</i>
<i>Imparietula ridvani</i>
<i>Improvisa pupoides</i>
<i>Jaminia loewii</i>
<i>Ljudmilena adjarica</i>
<i>Ljudmilena araxena</i>
<i>Ljudmilena armeniaca</i>
<i>Ljudmilena bayburti</i>

<i>Ljudmilena cespitum</i>
<i>Ljudmilena euxinus</i>
<i>Ljudmilena excellens</i>
<i>Ljudmilena sieversi</i>
<i>Ljudmilena tricollis</i>
<i>Mastus carneolus</i>
<i>Mastus ponticus</i>
<i>Mastus rossmaessleri</i>
<i>Merdigera obscura</i>
<i>Multidentula microdon</i>
<i>Multidentula lamellifera</i>
<i>Multidentula ovularis</i>
<i>Multidentula squalina</i>
<i>Multidentula subphasiana</i>
<i>Paramastus goettingi</i>
<i>Paramastus oligogyrus</i>
<i>Paramastus spratti</i>
<i>Pene brunneus</i>
<i>Pene kotschyi</i>
<i>Pene sidoniensis</i>
<i>Pseudochondrula arctespira</i>
<i>Pseudochondrula armeniaca</i>
<i>Pseudochondrula blanda</i>
<i>Pseudochondrula controversa</i>
<i>Pseudochondrula florenskii</i>
<i>Pseudochondrula madeni</i>
<i>Pseudochondrula sebasteana</i>
<i>Pseudochondrula seductilis</i>
<i>Pseudochondrula tetrodon</i>
<i>Ramusculus laevitortus</i>
<i>Thoanteus corneus</i>
<i>Thoanteus zilchi</i>
<i>Turanena albrechti</i>
<i>Turanena bilgini</i>
<i>Turanena cochlicopoides</i>
<i>Turanena conelongata</i>
<i>Turanena forcartiana</i>
<i>Turanena hemmeni</i>
<i>Turanena tuccari</i>
<i>Turanena zilchi</i>
<i>Zebrina armenica</i>
<i>Zebrina cosensis</i>
<i>Zebrina dardana</i>
<i>Zebrina detrita</i>
<i>Zebrina eburnea</i>
<i>Zebrina fasciolata</i>
<i>Zebrina kindermanni</i>

Ισραήλ

<i>Buliminus alepensis</i>
<i>Buliminus carneus</i>
<i>Buliminus diminutus</i>
<i>Buliminus glabratus</i>
<i>Buliminus jordani</i>
<i>Buliminus labrosus</i>
<i>Buliminus lamprostatus</i>
<i>Buliminus negevensis</i>
<i>Buliminus sinaiensis</i>
<i>Buliminus therinus</i>
<i>Euchondrus albulus</i>
<i>Euchondrus chondriformis</i>
<i>Euchondrus desertorum</i>
<i>Euchondrus ledereri</i>
<i>Euchondrus michonii</i>

<i>Euchondrus ovularis</i>
<i>Euchondrus pseudovularis</i>
<i>Euchondrus ramonensis</i>
<i>Euchondrus saulcyi</i>
<i>Euchondrus septemdentatus</i>
<i>Euchondrus sulcidens</i>
<i>Paramastus episomus</i>
<i>Pene auriculata</i>
<i>Pene galilaea</i>
<i>Pene sidoniensis</i>
<i>Pene syriacus</i>
<i>Turanena benjamitica</i>
<i>Turanena hermonensis</i>
<i>Zebrina eburnea</i>
<i>Zebrina fasciolata</i>

7.2 Συνώνυμα.

Buliminus carneus

(Pfeiffer, 1846)

Buliminus carneus f. minor

Boettger, 1898

<i>Buliminus carneus</i> var. <i>glabratus</i>	Mousson, 1861
<i>Buliminus carneus</i> var. <i>reconditus</i>	Pollonera, 1910
<i>Buliminus glabratus</i>	Heller, 1975
<i>Petraeus carneus</i>	Pfeiffer, 1845
<i>Petraeus carneus carneus</i>	Forcart, 1940

Euchondrus nucifragus

(Pfeiffer, 1848)

<i>Buliminus limbodentatus</i> var. <i>consobrinus</i>	Westerlund, 1901
<i>Bulimus nucifragus</i>	Pfeiffer, 1848
<i>Bulimus nucifragus</i> var. <i>pentodon</i>	Pfeiffer, 1848
<i>Chondrula limbodentatus lehari</i>	Wallner, 1943
<i>Chondrula limbodentatus</i> var. <i>consobrinus</i>	Westerlund, 1901
<i>Euchondrus nucifragus lehari</i>	Wallner, 1943
<i>Euchondrus nucifragus nucifragus</i>	Pfeiffer, 1848
<i>Jaminia nucifraga</i>	Pfeiffer 1848
<i>Jaminia parreyssi</i>	Hesse, 1934
<i>Jaminia parreyssi lehari</i>	Wallner, 1943

Euchondrus limbodentatus

(Mousson, 1854)

<i>Buliminus limbodentatus</i>	Boettger, 1898
<i>Buliminus limbodentatus</i> var. <i>ajax</i>	Westerlund, 1901
<i>Buliminus limbodentatus</i> var. <i>hexodon</i>	Boettger, 1898
<i>Buliminus limbodentatus</i> var. <i>pentodon</i>	Boettger, 1898
<i>Buliminus microtragus</i>	Hilber, 1879
<i>Buliminus nucifragus</i> var. <i>pentodon</i>	Boettger, 1898
<i>Chondrula limbodentata</i>	Mousson, 1854
<i>Chondrus limbodentatus</i>	Mousson, 1854

Euchondrus parreyssi

(Pfeiffer, 1848)

<i>Buliminus alumnus</i>	Pfeiffer, 1848
<i>Buliminus parreyssi</i>	Pfeiffer, 1846
<i>Buliminus parreyssi</i> var. <i>fraudulenta</i>	Westerlund, 1887
<i>Buliminus truquii</i>	Mousson, 1854

<i>Bulimus alumnus</i>	Pfeiffer, 1848
<i>Bulimus parreyssi</i>	Pfeiffer, 1846
<i>Chondrula alumnus</i>	Kobelt, 1899
<i>Chondrula parreyssi</i>	Mousson, 1854
<i>Chondrula parreyssi</i> var. <i>fraudulenta</i>	Mousson, 1854
<i>Chondrula truquii</i>	Kobelt, 1899
<i>Chondrus parreyssi</i>	Pfeiffer, 1846
<i>Chondrus truquii</i>	Mousson, 1854
<i>Euchondrus parreyssi</i>	Pfeiffer, 1846
<i>Pupa crassilabris</i>	Philippi, 1846

Jaminia loewii

(Philippi, 1844)

<i>Buliminus godetianus</i>	Kobelt, 1880
<i>Buliminus oribatha</i> var. <i>smyrnensis</i>	Westerlund, 1897
<i>Buliminus ponsonbyi</i>	Westerlund, 1892
<i>Buliminus quadridens</i> var. <i>loewii</i>	Martens, 1889
<i>Buliminus samius</i>	Martens, 1889
<i>Buliminus samius</i> f. <i>exilis</i>	Westerlund, 1897
<i>Bulimus loewii</i>	Philippi, 1844
<i>Bulimus samius</i>	Martens, 1889
<i>Bulimus samius</i> f. <i>exilis</i>	Westerlund, 1897
<i>Chondrula godetiana</i>	Kobelt 1899
<i>Chondrula ponsonbyi</i>	Kobelt 1899
<i>Chondrus quadridens</i>	Mousson, 1854
<i>Chondrus samius</i> f. <i>exilis</i>	Westerlund, 1897
<i>Jaminia loewii</i> <i>godetiana</i>	Kobelt 1880
<i>Jaminia loewii</i> <i>loewii</i>	Philippi, 1844
<i>Jaminia samia</i>	F&K'34 & 36

Multidentula lamellifera

(Rossmassler, 1858)

<i>Buliminus lamelliferus</i>	Rossmassler, 1858
<i>Buliminus lamelliferus</i> var. <i>angustatus</i>	Retowski 1883
<i>Buliminus lamelliferus</i> var. <i>phasianus</i>	Mousson, 1863
<i>Chondrula lamellifera</i>	Rossmassler, 1859
<i>Chondrula lamellifera</i> var. <i>phasiana</i>	Germain, 1936

<i>Chondrus lamelliferus</i>	Mousson, 1861
<i>Chondrus lamelliferus var. phasianus</i>	Mousson, 1863
<i>Jaminia lamellifera</i>	Rossmassler, 1858
<i>Jaminia pupoides</i>	Forcart, 1940
<i>Multidentula lamellifera</i>	Rossmassler, 1858

Multidentula stylus

(Pfeiffer, 1848)

<i>Buliminus sodalis</i>	Westerlund, 1901
<i>Buliminus stylus</i>	Pfeiffer 1848
<i>Bulimus stylus</i>	Pfeiffer, 1848
<i>Chondrula stylus</i>	Kobelt, 1899
<i>Chondrus stylus</i>	Mousson, 1854
<i>Jaminia ovularis</i>	Haas, 1934
<i>Multidentula stylus</i>	Pfeiffer, 1848
<i>Pupa gaudryi</i>	Bourguignat, 1854

Paramastus episomus

(Bourguignat, 1857)

<i>Buliminus episomus</i>	Bourguignat, 1857
<i>Bulimus episomus</i>	Bourguignat, 1857
<i>Bulimus obesata</i>	Bourguignat, 1857
<i>Bulimus obesatus</i>	Bourguignat, 1853
<i>Bulimus obesus</i>	Beck, 1837
<i>Bulimus pseudepisomus</i>	Bourguignat, 1857
<i>Chondrula episomus</i>	Boettger, 1898
<i>Ena episoma</i>	Boettger, 1898
<i>Helix obesata</i>	Ferussac, 1821
<i>Mastus episomus</i>	Bourguignat, 1857
<i>Paramastus episoma</i>	Bourguignat, 1857

Paramastus cyprius

(Zilch, 1951)

<i>Buliminus attenuatus</i>	Mousson, 1854
-----------------------------	---------------

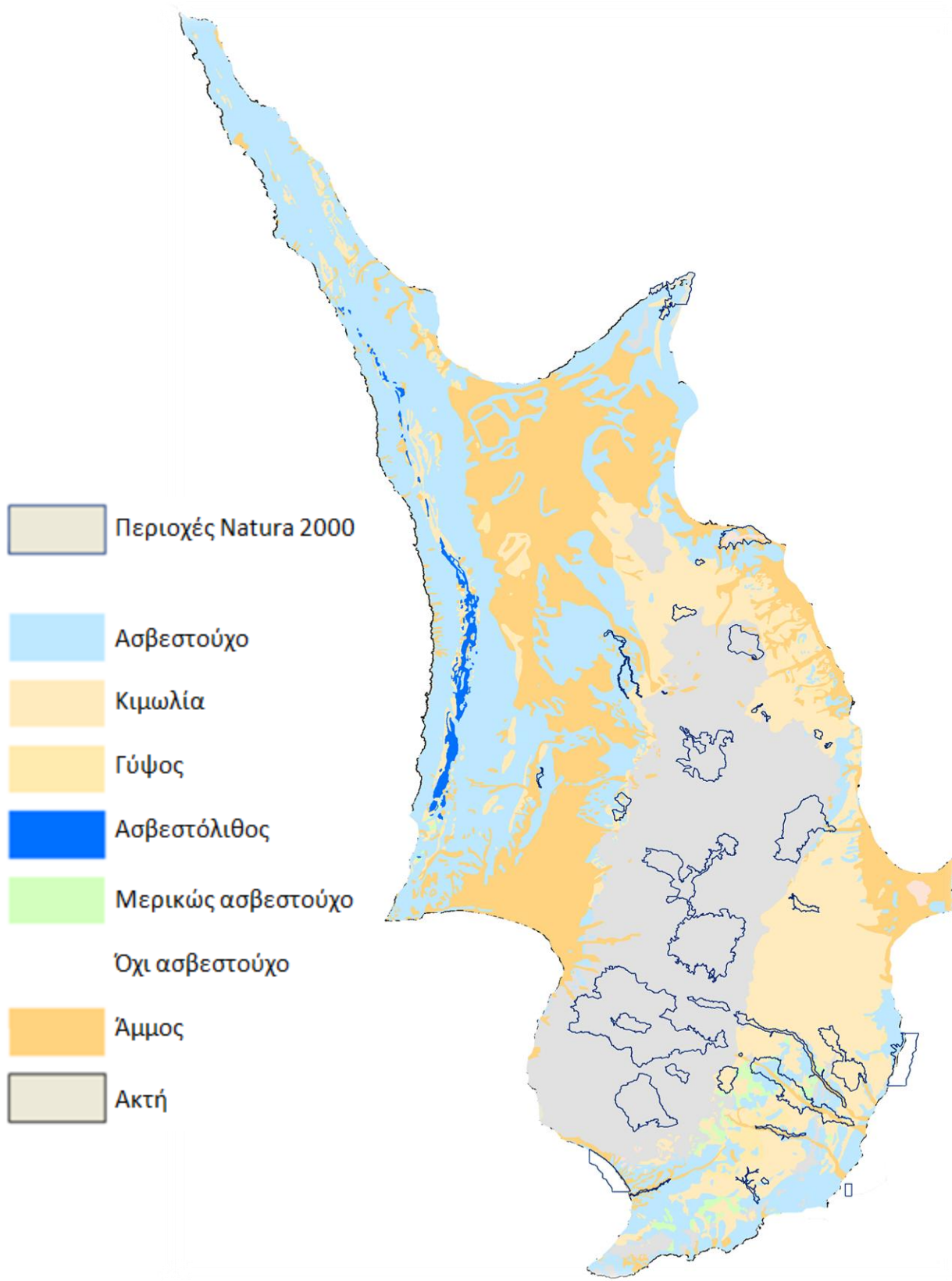
<i>Buliminus sabaeanus</i>	Bourguignat, 1878
<i>Chondrus attenuatus</i>	Mousson, 1854
<i>Ena episoma</i>	Hesse, 1933
<i>Paramastus episoma cyprius</i>	Zilch, 1951

Zebrina fasciolata

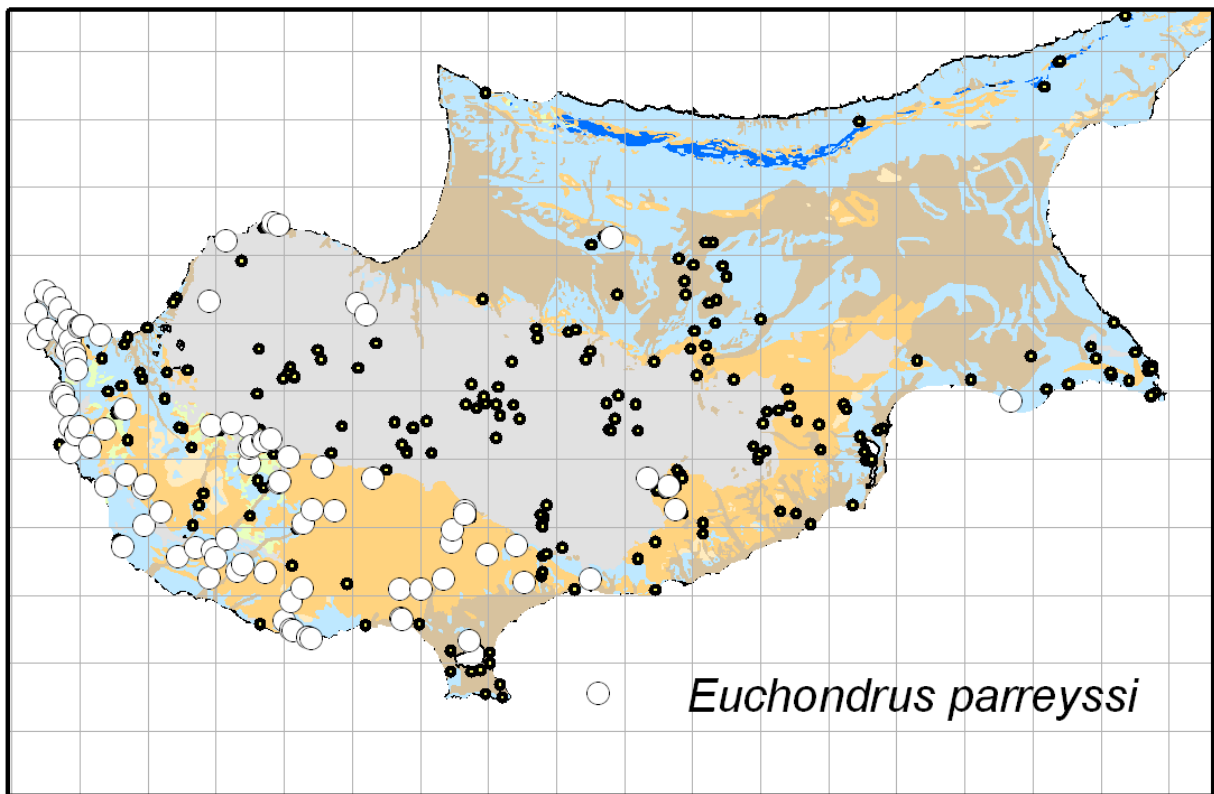
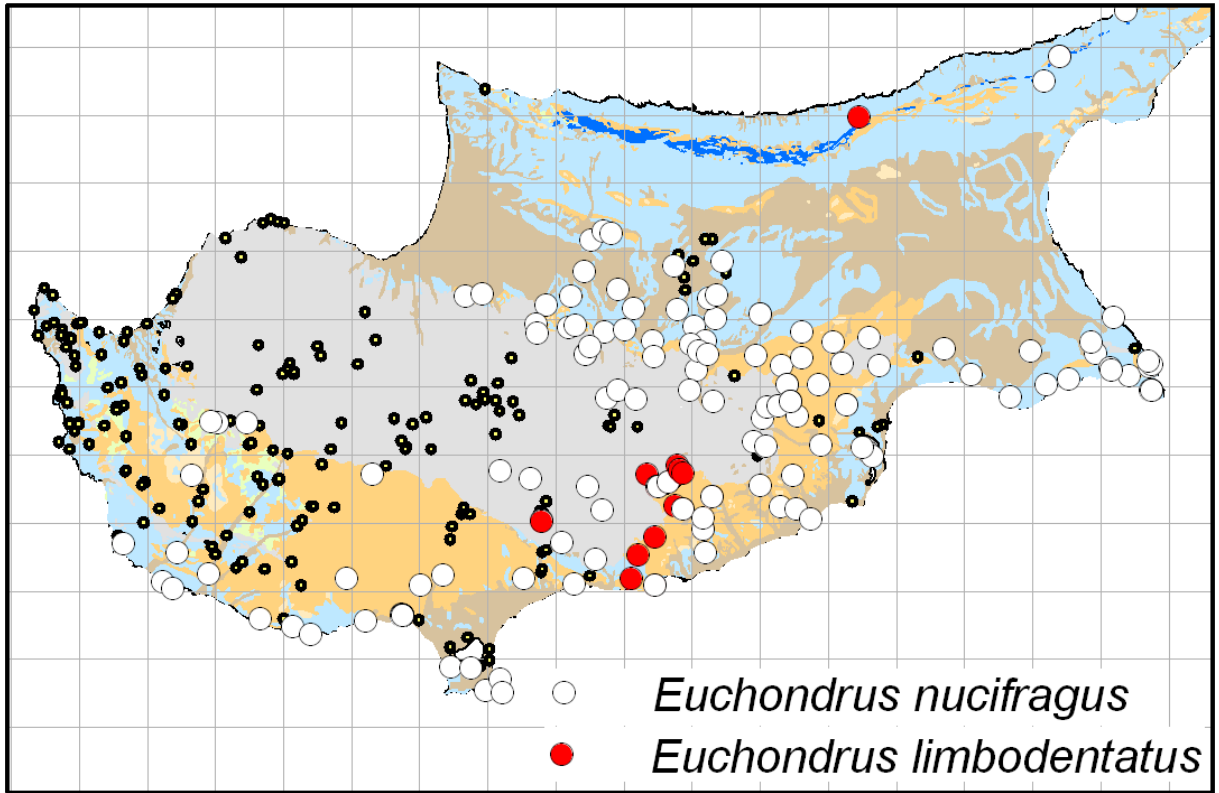
(Olivier, 1801)

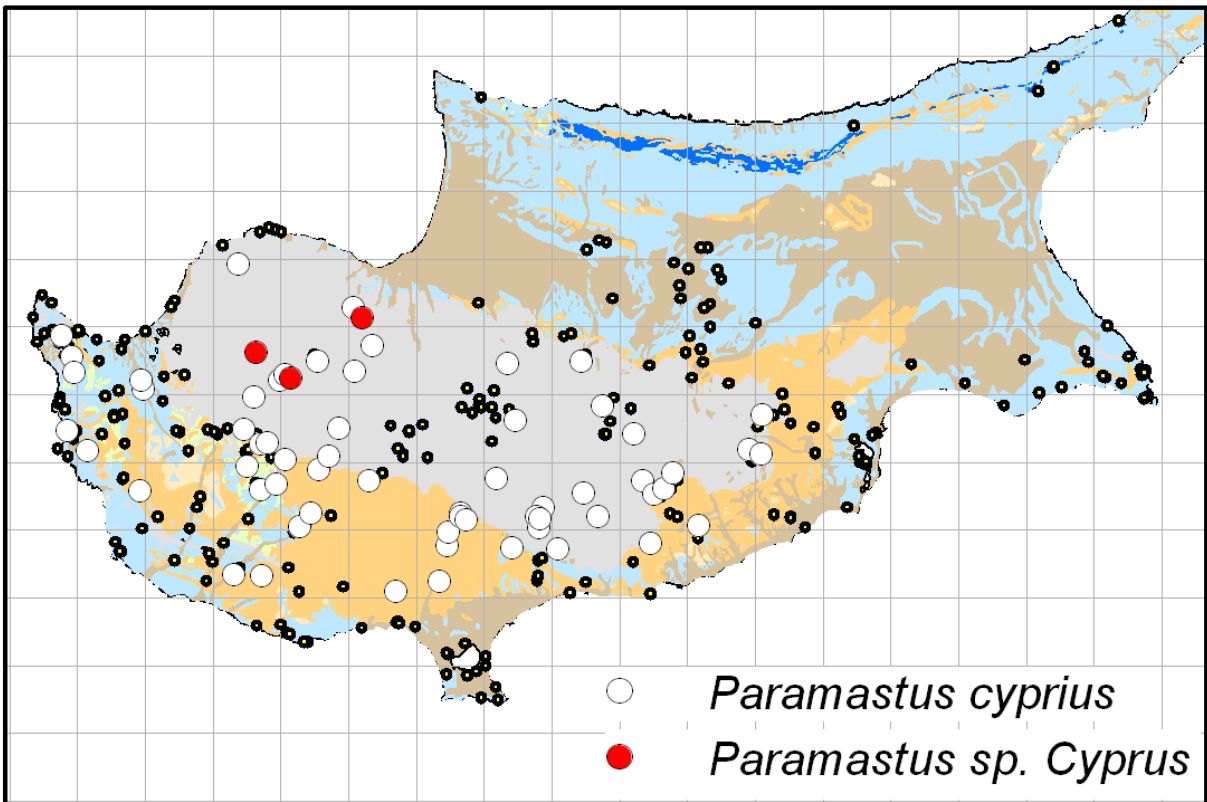
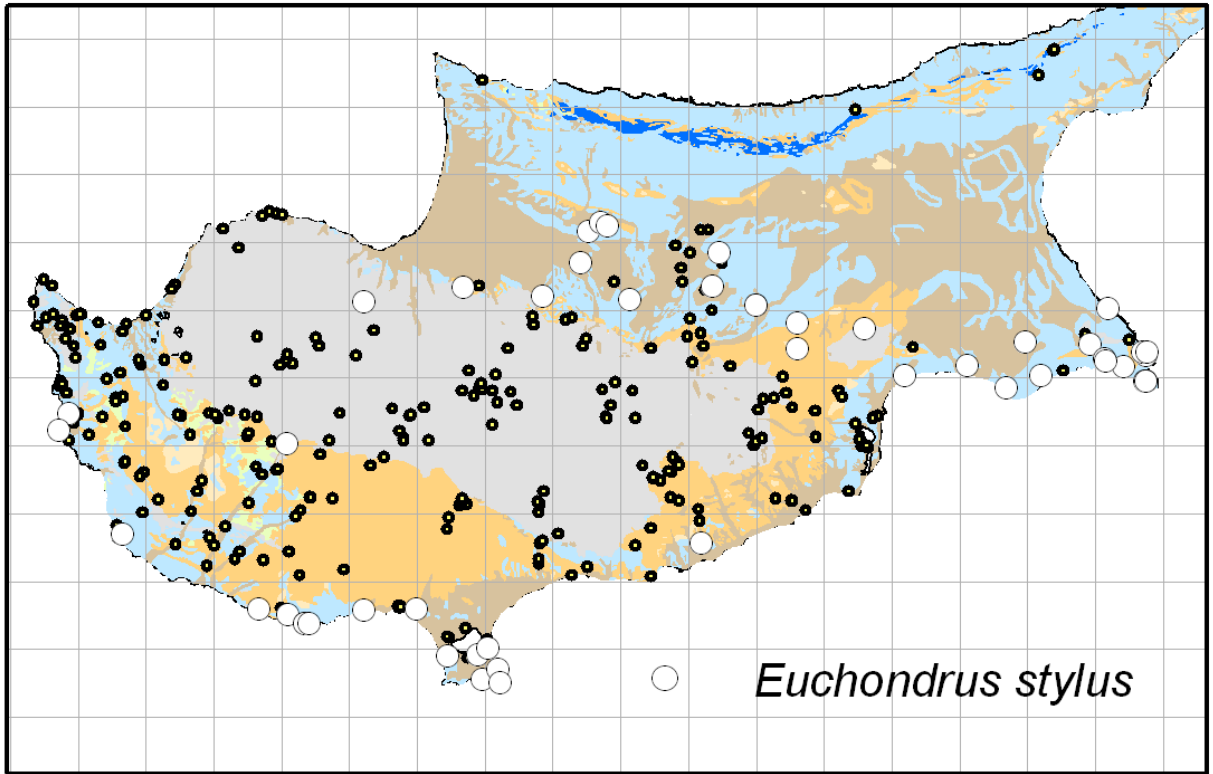
<i>Buliminus calverti</i>	Bourguignat, 1878
<i>Buliminus fasciolatus</i>	Olivier, 1801
<i>Buliminus fasciolatus var. candida</i>	Pfeiffer, 1848
<i>Buliminus fasciolatus var. gracilis</i>	Westerlund, 1887
<i>Buliminus fasciolatus var. piochardi</i>	Heynemann, 1870
<i>Buliminus fusconigra</i>	Erber, 1868
<i>Bulimus calverti</i>	Bourguignat, 1876
<i>Bulimus fasciolatus</i>	Olivier, 1801
<i>Bulimus hebraicus</i>	Pfeiffer, 1852
<i>Ena fasciolata</i>	Olivier, 1801
<i>Helix fasciolata</i>	Ferussac, 1821
<i>Zebrina fasciolata fasciolata</i>	Olivier, 1801

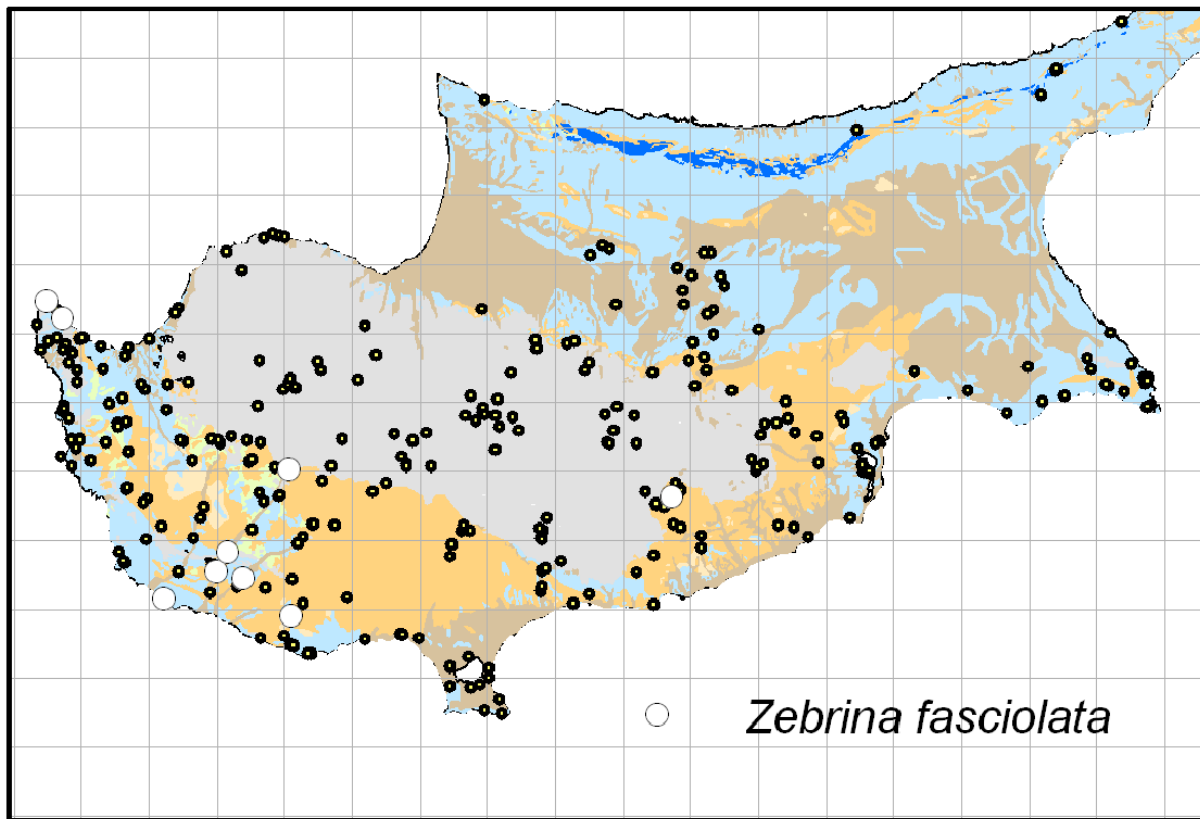
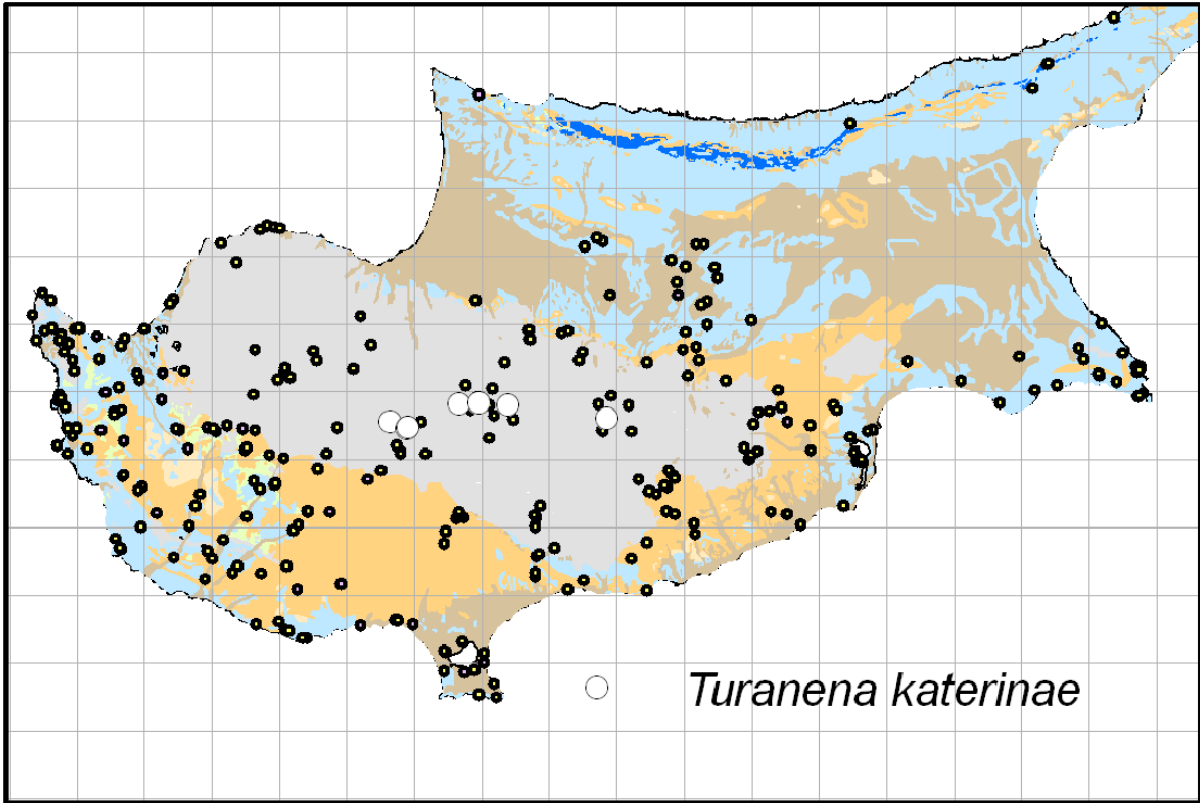
7.3 Το υπόστρωμα στην Κύπρο.



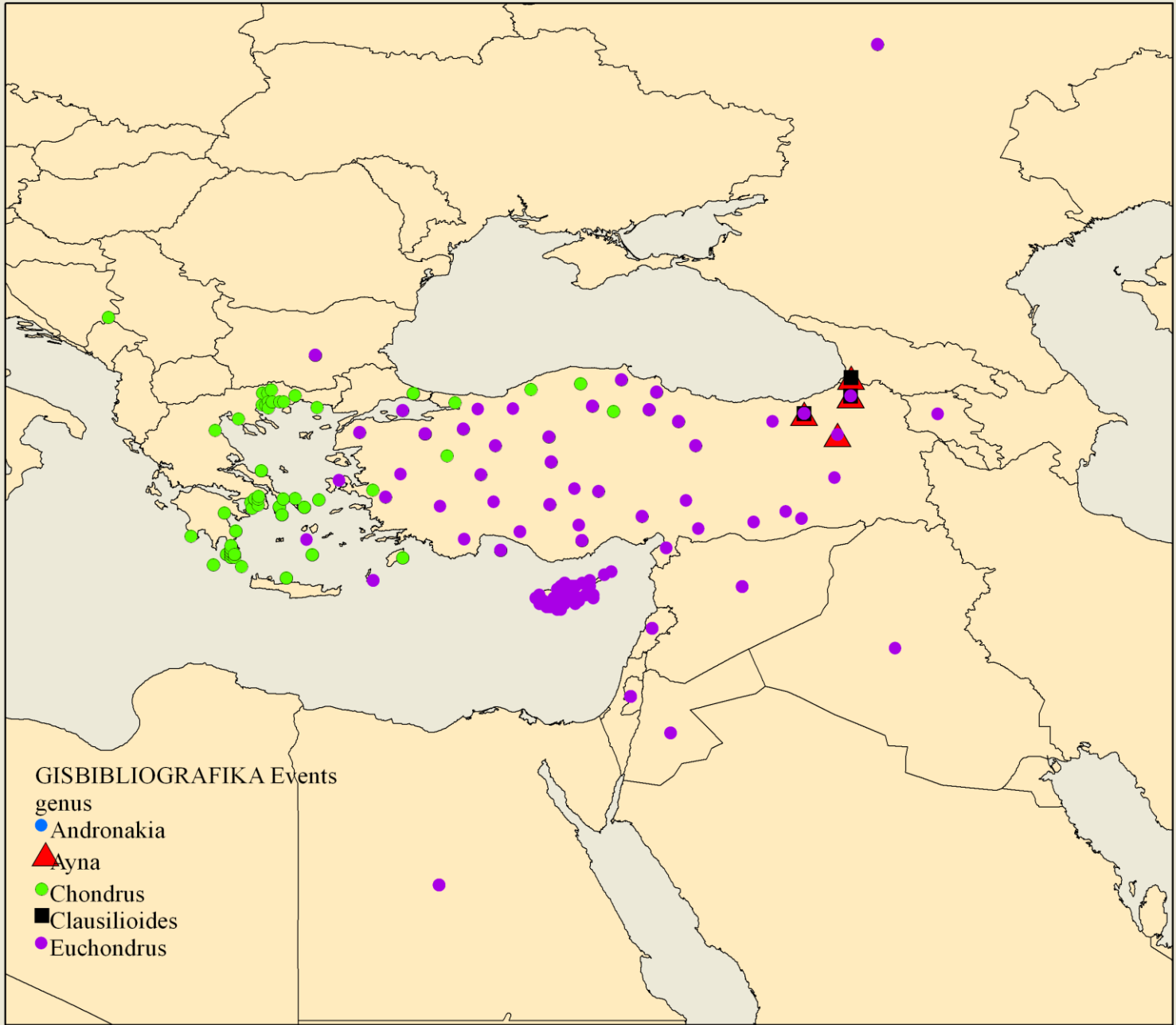
7.4 Χάρτες κατανομής των Enidae στην Κύπρο.



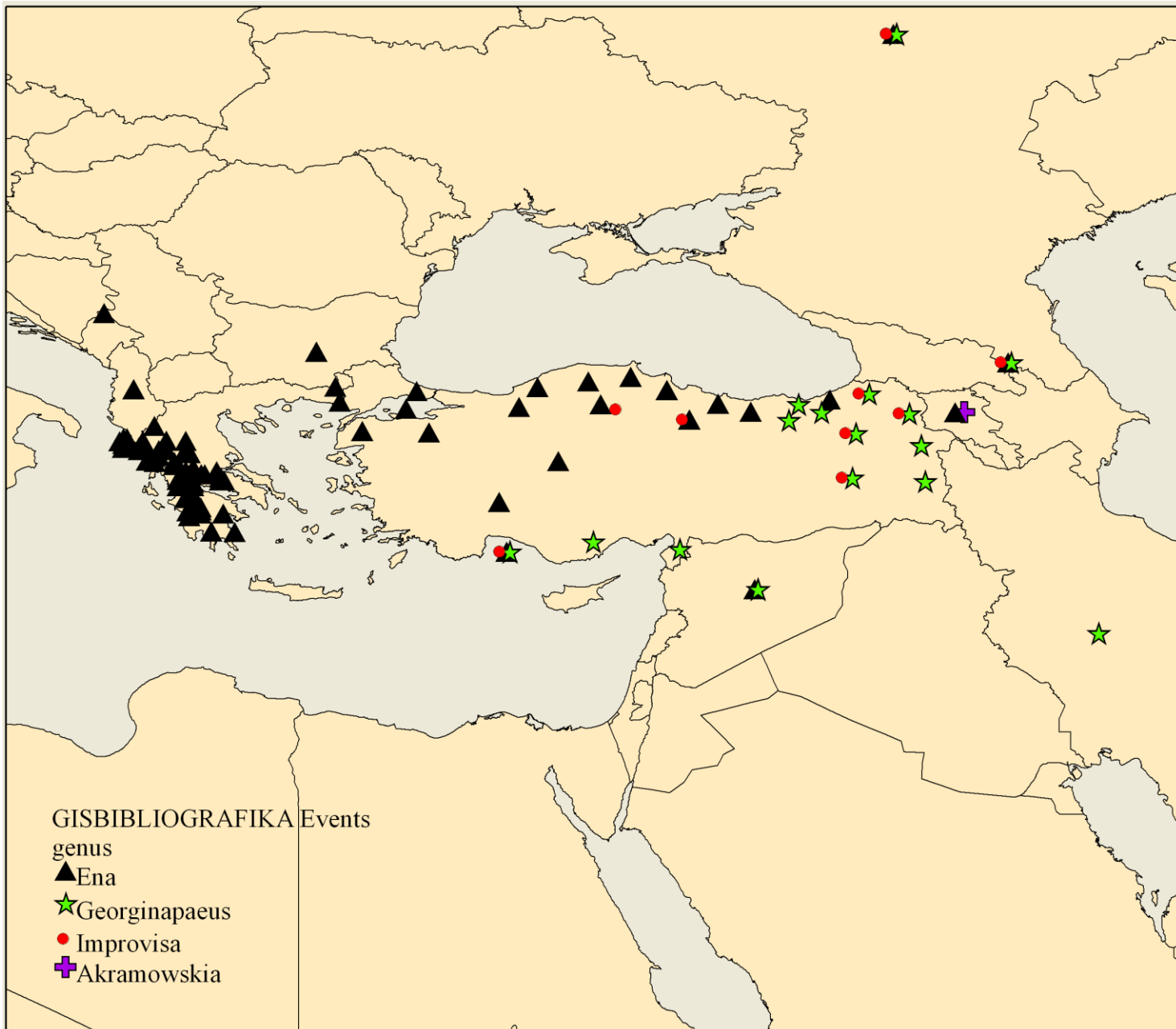




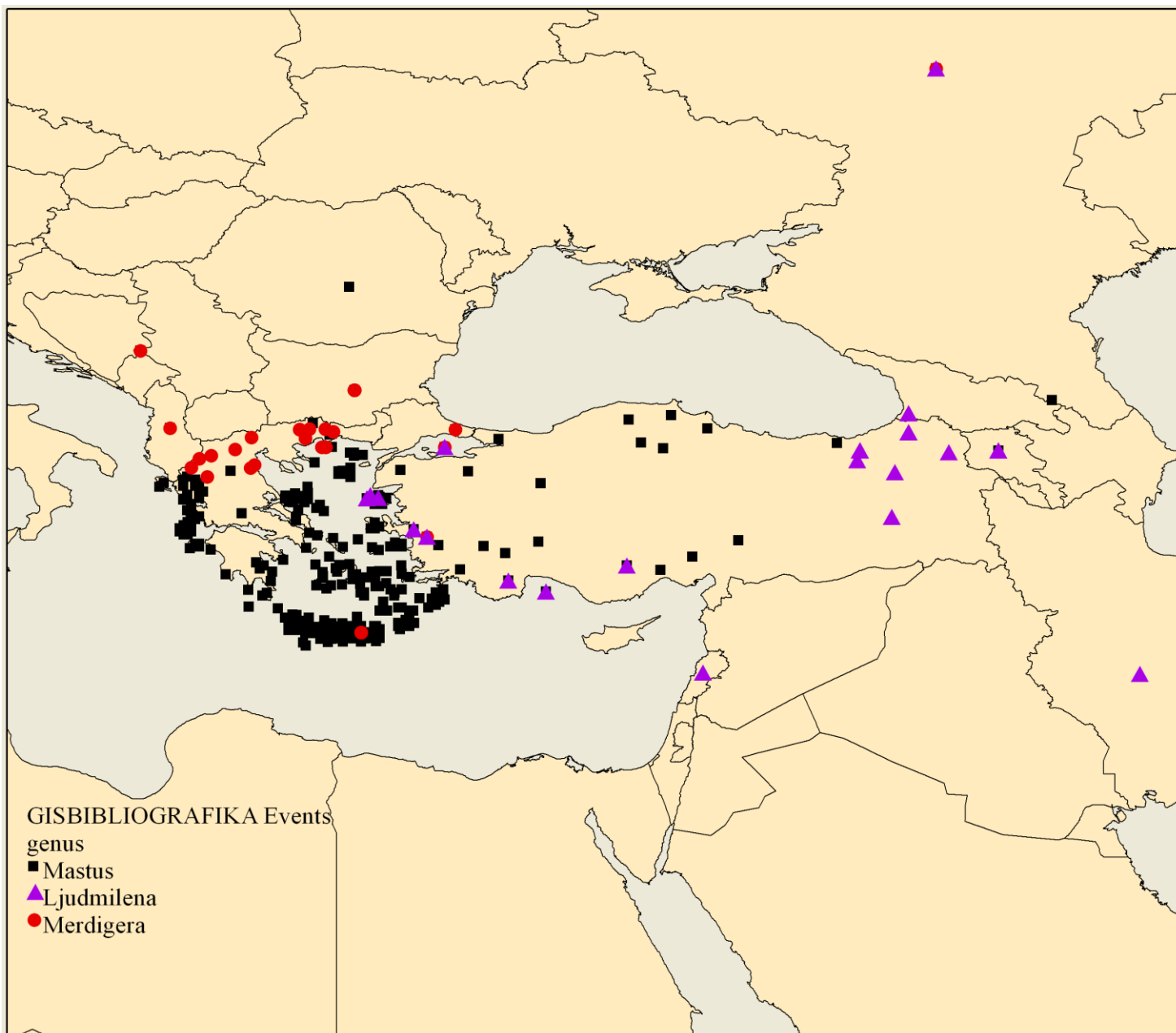
7.4 Χάρτες κατανομής των Enidae στην ανατολική μεσόγειο (Συμπεριλαμβανομένου της Ελλάδας όχι όμως της Λιβύης).



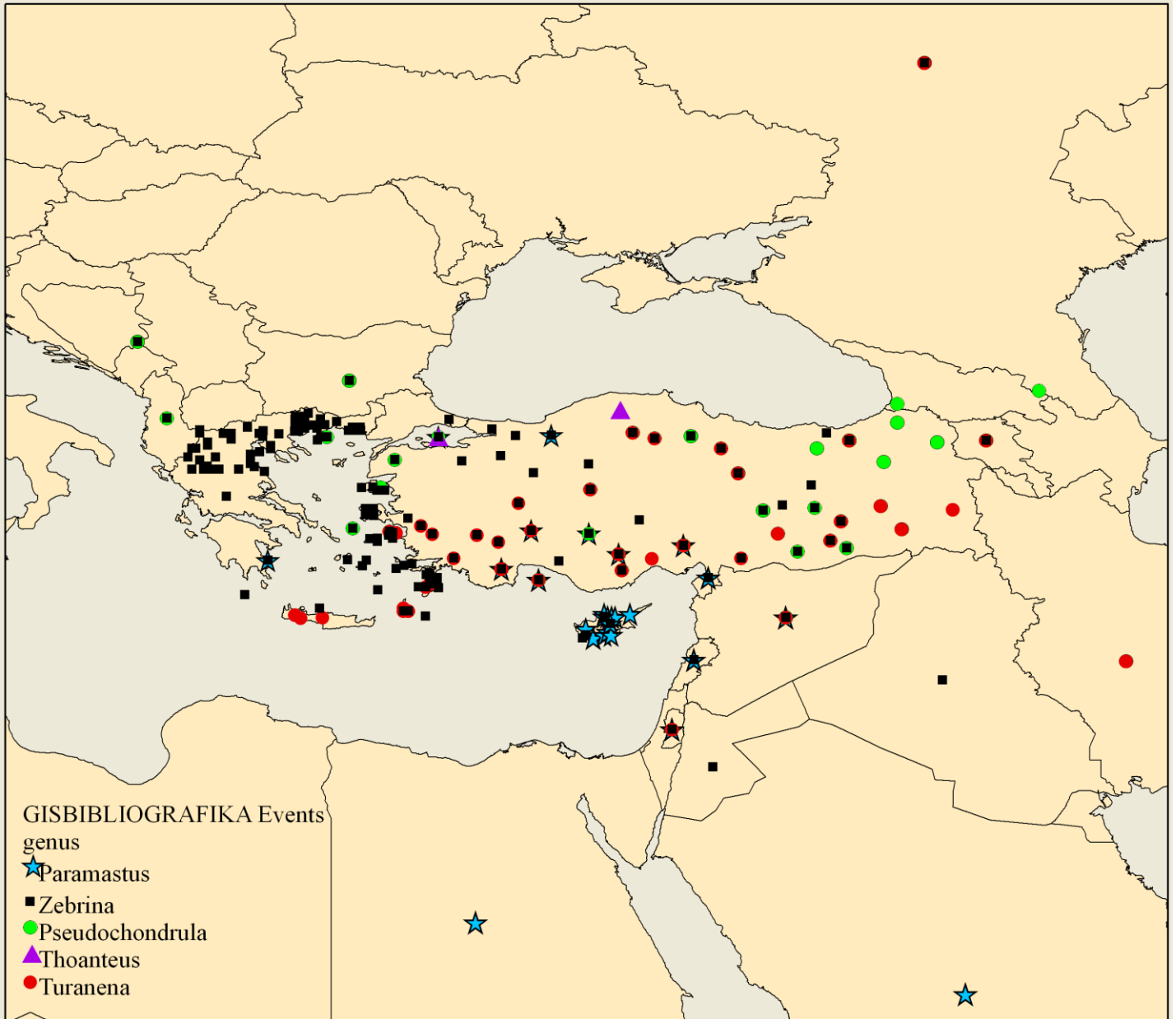
Χάρτης 1: Κατανομή των γενών *Andronakia*, *Ayna*, *Chondrus*, *Clausilioides*, και *Euchondrus*



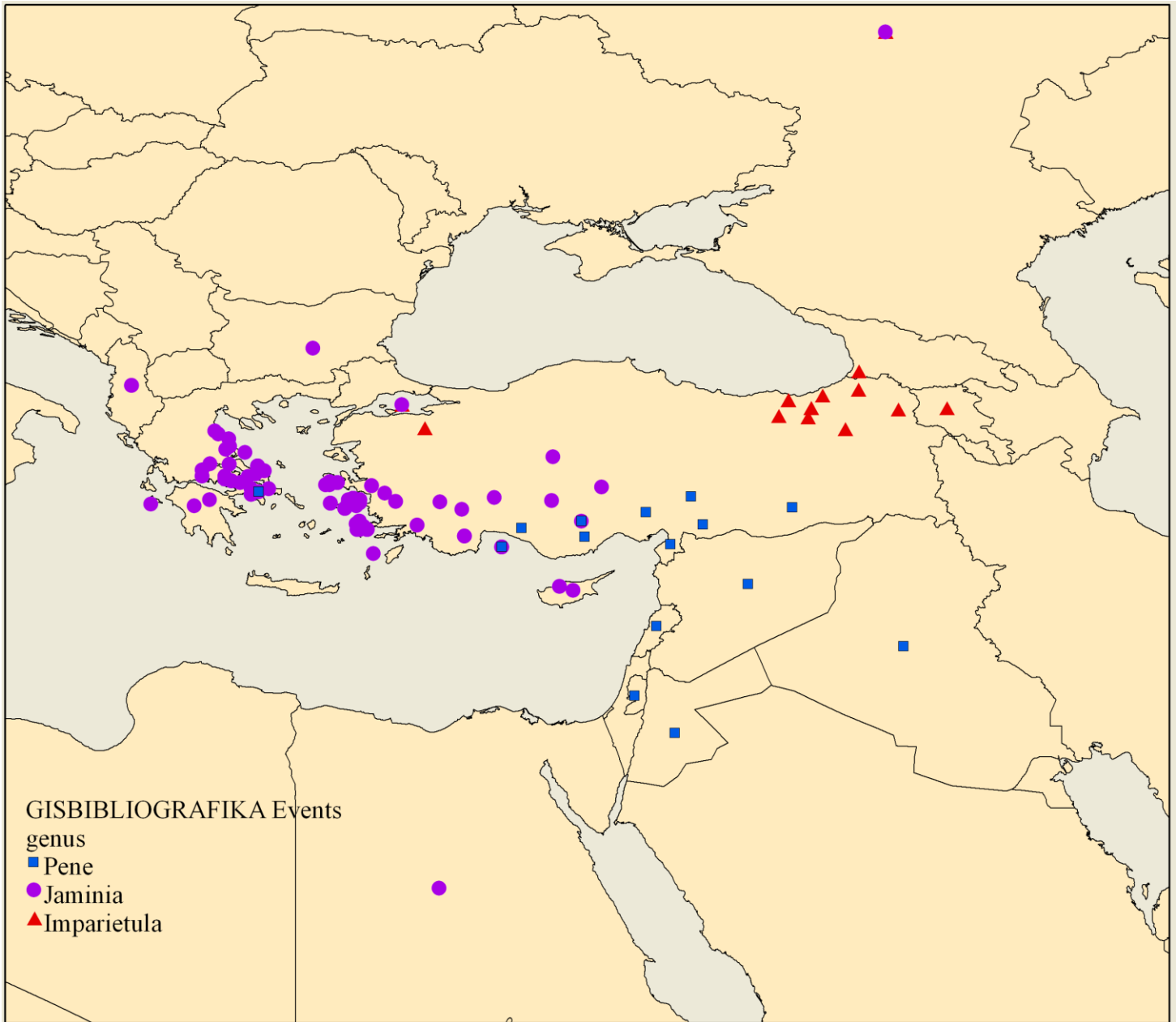
Χάρτης 2: Κατανομή των γενών *Ena*, *Georinapaeus*, *Improvisa*, και *Akramowskia*



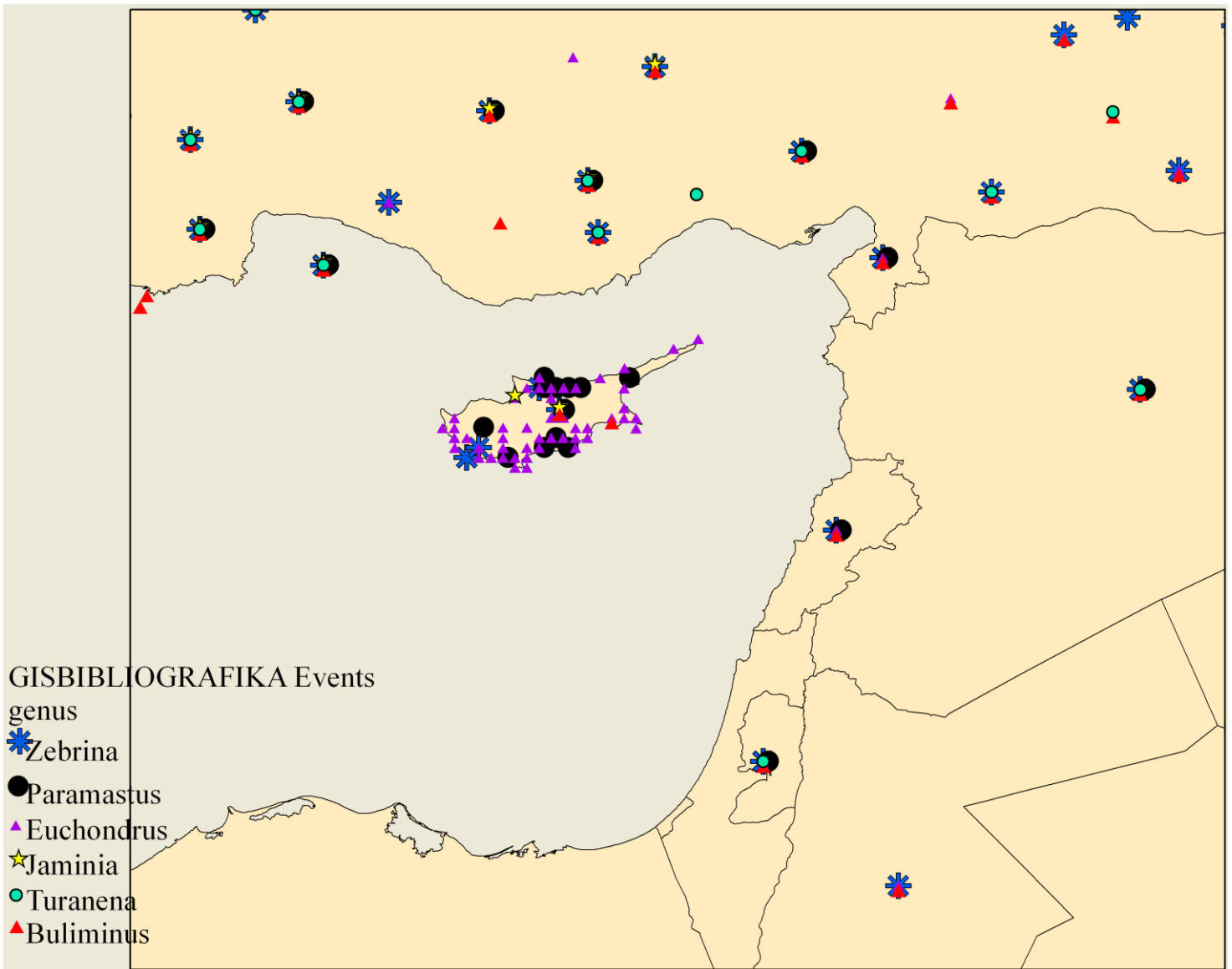
Χάρτης 3: Κατανομή των γενών *Mastus*, *Ljudmilena*, και *Merdigera*



Χάρτης 4: Κατανομή των γενών *Paramastus*, *Zebrina*, *Pseudochondrula*, *Thoanteus* και *Turanena*



Χάρτης 5: Κατανομή των γενών *Pene*, *Jaminia*, και *Imparietula*



Χάρτης 5: Κατανομή των γενών *Zebrina*, *Paramastus*, *Euchondrus*, *Jaminia*, *Turanena*, και *Buliminus* στην Κύπρο και τις γύρω περιοχές.