

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Πασχαλιά Καπλή



Φυλογεωγραφία και οριοθέτηση ειδών του
Σαχαρο-Αραβικού γένους *Mesalina* (Sauria: Lacertidae)
με χρήση γενετικών δεικτών

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
2014

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Φυλογεωγραφία και οριοθέτηση ειδών του Σαχαρο-Αραβικού γένους
Mesalina (Sauria: Lacertidae) με χρήση γενετικών δεικτών**

Πασχαλιά Καπλή

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

2014

PhD THESIS

**Phylogeography and species delimitation of the Saharo-Arabian genus
Mesalina (Sauria: Lacertidae) based on genetic markers**

Paschalia Kapli

UNIVERSITY OF CRETE

DEPARTMENT OF BIOLOGY

2014

Η παρούσα διατριβή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Μοριακής Συστηματικής του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας Κρήτης και υποβλήθηκε στο Τμήμα Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης.

Επιβλέπων Καθηγητής

Ν. Πουλακάκης (Επίκουρος Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης)

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Ν. Πουλακάκης (Επίκουρος Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης)

Μ. Μυλωνάς (Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης)

Α. Μαγουλάς (Διευθυντής Ινστιτούτου Θαλάσσιας Βιολογίας και Γενετικής, Ελληνικού Κέντρου Θαλάσσιων Ερευνών)

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Ν. Πουλακάκης (Επίκουρος Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης)

Μ. Μυλωνάς (Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης)

Α. Μαγουλάς (Διευθυντής Ινστιτούτου Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και Υδατοκαλλιεργειών, Ελληνικού Κέντρου Θαλάσσιων Ερευνών)

Α. Σταματάκης (Καθηγητής, Karlsruhe Institute of Technology)

Γ. Κωτούλας (Ερευνητής Α' βαθμίδας, Ινστιτούτου Θαλάσσιας Βιολογίας, Βιοτεχνολογίας και Υδατοκαλλιεργειών, Ελληνικού Κέντρου Θαλάσσιων Ερευνών)

Ε. Λαδουκάκης (Επίκουρος Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης)

Γ. Ηλιόπουλος (Επίκουρος Καθηγητής Πανεπιστημίου Κρήτης)

Ευχαριστίες

Για πολύ μεγάλο διάστημα πριν ολοκληρώσω τη συγγραφή της παρούσας διατριβής σκεφτόμουν απίθανα πολλές εκφράσεις ευχαριστιών που θα ήθελα να γράψω. Τώρα που έφτασε η στιγμή μου φαίνεται απίθανο να εκφράσω με οποιονδήποτε τρόπο την απέραντη ευγνωμοσύνη που νοιώθω για όλους τους ανθρώπους που με βοηθήσανε. Από την έναρξη της διατριβής (2010) μέχρι σήμερα έχω αλλάξει περίπου δέκα σπίτια (μετρώντας μόνο αυτά που έχω μείνει πάνω από ένα μήνα) δύο χώρες, τρεις πόλεις και δύο επιστημονικά αντικείμενα. Σε όλες αυτές τις μετακινήσεις υπήρξαν άνθρωποι που με συνόδευσαν, με αποχαιρετούσαν ή με καλωσόριζαν με τις καλύτερες διαθέσεις και τους οφείλω ένα επώνυμο ευχαριστώ.

Θα ήθελα να ξεκινήσω ευχαριστώντας τα μέλη της τριμελούς μου συμβουλευτικής επιτροπής Ν. Πουλακάκη, Μ. Μυλωνά και Α. Μαγουλά για την επίβλεψη και τη διασφάλιση της επιστημονικής ορθότητας της διατριβής αλλά και του παρόντος κειμένου. Ιδιαίτερα ευχαριστώ τον επιβλέποντά μου Ν. Πουλακάκη, τον Μ. Μυλωνά, την Κ. Βαρδινογιάννη και τον Α. Τριχά για την μακροχρόνια επιστημονική και φιλική στήριξη καθώς και για την οικογενειακή θαλπωρή που μου παρείχαν όλα τα προηγούμενα χρόνια. Τη βαθιά μου ευγνωμοσύνη θα ήθελα να εκφράσω στον Π. Λυμπεράκη, τόσο για την αρχική σύλληψη του θέματος της παρούσας διατριβής (το 2005 περίπου) όσο και για την επιστημονική έμπνευση, την μακροχρόνια εμπιστοσύνη και υποστήριξη μα πάνω απ' όλα για την ανακουφιστική σταθερά που προσφέρει η παρουσία του στη ζωή μου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα παιδιά του MSL που περάσαμε τόσα και τόσα μαζί και ιδιαίτερα στην χρυσή χρόνια του 2011 με τον Κώστα Σαγώνα, τη Μαρία Σμυρλή, τη Δήμητρα Μπωτόνη, τον Νίκο Ψώνη, την Αγγελική Δημοπούλου την Αφροδίτη Καρδαμάκη και τον περιφερειακά κινούμενο αλλά αναπόσπαστο μέλος της χαράς Γιάννη Κοντογεώργο. Την αγία τριάς Ειρήνη Σκουρτανιώτη, Άννα Βαβάκου και Σοφία Παρασκευοπούλου καθώς και τον αγαπημένο Λουκά Θεοδοσίου που ελπίζω να τους παρείχα όση στήριξη χρειάστηκαν μιας και εγώ έλαβα περισσότερη απ' όση ήλπιζα. Την Μίνα Τρικάλη για την ανεύρεση των πιο καλά κρυμμένων βιβλίων, τον Δ. Πουρσανίδη για την υποστήριξη σε θέματα GIS τα τελευταία πολλά χρόνια και την Ισμήνη Καρακασιλιώτη για την εκπαίδευση σε πρωτόκολλα κλωνοποιήσεων.

I would also like to express my sincere gratitude to A. Stamatakis, PI of the Scientific Computing Group in Heidelberg, for providing me a second scientific home, lots of trust and acceptance that allowed me to gradually gain more and more familiarity in the world of informatics. To Jiajie Zhang, Tomas Flouri, Pavlos Pavlidis, Andre Aberer, Diego Darriba, Fernando Izquierdo Carrasco, Alexei Kozlov and Kassian Kobert for initiating me in the world of Informatics, sushi rolling and men's talk about computers and girls.. sometimes you are incomprehensible guys but most of the times you have been wonderful lab-mates.

The completion of my phd thesis would not have been possible if it wasn't for so many people that send me *Mesalina* samples from all over the world. I am grateful to Pierre Andre Crochet, Philippe Geniez, Jose Brito, Faraham Ahmadzadeh, for sending me samples and for valuable advice and discussions on the historical biogeography of *Mesalina* as well as Andreas Schmitz, Thomas Wilms, Theodor Papenfuss, James Harris, Salvador Carranca, Miguel-Angel Carretero, Mohamed Khaldi, Philippe Wagner, Wolfgang Boehme, Menand Beddek, Rastegar Pouyani and Shai Meiri for their time and effort to prepare and send me *Mesalina* samples.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους μου Πόπη Γκικοπούλου, Μαρία Σμυρλή, Βάσω Ζωγραφοπούλου, Πόπη Ζωγραφοπούλου και Ισμήνη Καρακασιλιώτη, που με τον τρόπο τους με βοηθάνε να βρω πάντα την θέση μου, λίγο πιο πάνω, λίγο πιο κάτω, πάρ' το όλο αριστερά, όπα καλά είσαι, άραξε.. Αλλά και τους φίλους μου Παναγιώτη Κορνίλιο, Μαρία Χατζάκη, Γιούλη Κυριαζή, Γιωργία Μαντζίου, Αλεξάνδρα Καββαδία, Μαργαρίτα Καγιώργη, Χρύσα Παγκάλου, Milica Inovic, Ευανθία Θάνου, Σταυρούλα Χριστοδουλοπούλου, Παναγιώτη Γεωργιακάκη, Μαργαρίτα Πιθαμίτση και Ελένη Τσικνάκη που πολλές φορές μου παρείχαν από συμβουλές μέχρι στέγη.

...και τον Θωμά για τα αμέτρητα μαθήματα ζωής και επιστήμης που παίρνουμε μαζί τα δύο τελευταία χρόνια...

Τέλος, μα με τη βαθύτερη συγκίνηση θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην οικογένεια μου, Πασχάλη Καπλή, Βασιλική Ρίζου και Ντίνα Καπλή που είναι μια μικρή ομάδα μεγάλων ηρώων που μου δίνουν έμπνευση και στήριξη καθημερινά...!

Η παρούσα διατριβή χρηματοδοτήθηκε εν μέρη από τον Ειδικό Λογαριασμό Πανεπιστημίου Κρήτης (κωδικός ΚΑ3009, τίτλος «Testing species boundaries and phylogeography of the genus *Mesalina* (Sauria: Lacertidae) in Mediterranean basin», Ε.Υ. Νίκος Πουλακάκης). Κατά τη διάρκεια πραγματοποίησης της παρούσας διδακτορικής διατριβής έλαβα τρεις υποτροφίες με αποκλειστικό ή εν μέρη στόχο την εκπόνηση τμημάτων της διατριβής: 1) υποτροφία κληροδοτήματος «Μαρίας Μιχαήλ Μανασσάκη» 2) υποτροφία Erasmus Training Placement (9/2012-3/2012, Heidelberg Institute for theoretical Studies, Ε.Υ. Αλέξανδρος Σταματάκης), 3) υποτροφία ιδρύματος κρατικών υποτροφιών στο πλαίσιο του προγράμματος βραχείας μετεκπαίδευσης (12/2013-3/2014, Heidelberg Institute for theoretical Studies, Ε.Υ. Αλέξανδρος Σταματάκης).

Περιεχόμενα

Περίληψη	II
Abstract.....	IV
Κεφάλαιο 1^ο : Γενική Εισαγωγή	1
1. Γενική Εισαγωγή	2
1.1. Συστηματική.....	2
1.2. Φυλογένεση.....	3
1.3. Φυλογεωγραφία	5
1.4. Γενικά στοιχεία της περιοχής μελέτης.....	6
1.5. Ομάδα μελέτης	10
1.5.1. Οικογένεια Lacertidae.....	12
1.5.2. Γένος <i>Mesalina</i> Gray, 1838	13
1.5.3. Κατανομή του γένους <i>Mesalina</i>	15
1.6. Γενικά κίνητρα παρούσας μελέτης.....	19
1.7. Βιβλιογραφία	21
Κεφάλαιο 2^ο: Ιστορική βιογεωγραφία του γένους <i>Mesalina</i>	26
2.1. Εισαγωγή.....	27
2.1.1. Παλαιογεωγραφία	28
2.1.2. Παλαιοκλιματολογία.....	31
2.1.3. Φυλογεωγραφική γνώση για τη Βόρεια Αφρική και τη Μέση Ανατολή	32
2.1.4. Στόχοι παρόντος κεφαλαίου	35
2.2. Υλικά και Μέθοδοι.....	36
2.2.1. Δειγματοληψία	36
2.2.2. Εξαγωγή DNA/Πολλαπλασιασμός γονιδίων στόχων/Αλληλούχηση	37
2.2.3. Φυλογενετικές αναλύσεις	40
2.2.3.1. Στοιχισμός αλληλουχιών/επιλογή καταλληλότερου μοντέλου νουκλεοτιδικής υποκατάστασης	40
2.2.3.2. Επιλογή μοντέλου νουκλεοτιδικής υποκατάστασης	41
2.2.3.3. Φυλογενετικά δέντρα	42
2.2.3.4. Εκτίμηση χρόνων απόσχισης	44
2.2.3.5. Εκτίμηση προγονικών κατανομών.....	46
2.3. Αποτελέσματα	47
2.3.1. Στοιχισμός αλληλουχιών - καταλληλότερο Μοντέλο Νουκλεοτιδικής Υποκατάστασης	47

2.3.2.	Φυλογενετικά δέντρα	47
2.3.2.1.	Μιτοχονδριακά γονίδια	47
2.3.2.2.	Πυρηνικό γονίδιο	51
2.3.3.	Εκτίμηση χρόνων απόσχισης	51
2.3.4.	Εκτίμηση προγονικών κατανομών	53
2.4.	Συζήτηση	56
2.4.1.	Γένος <i>Mesalina</i>	57
2.4.1.1.	<i>Mesalina guttulata</i> και συγγενικά τάξα – Αραβικός κλάδος	59
2.4.1.2.	Συμπλεγμα ειδών <i>Mesalina olivieri</i> – Αφρικανικός κλάδος	61
2.4.2.	Συμπεράσματα	64
2.5.	Βιβλιογραφία	65
Κεφάλαιο 3^ο: Φυλογενετική προσέγγιση του αριθμού ειδών του γένους <i>Mesalina</i>		74
3.1.	Εισαγωγή	75
3.1.1.	Θεώρηση του Είδους	75
3.1.2.	Οριοθέτηση ειδών βάσει γενετικών δεικτών	76
3.1.3.	Συστηματική του γένους <i>Mesalina</i>	79
3.1.4.	Στόχοι	81
3.2.	Υλικά και Μέθοδοι	82
3.2.1.	Δείγματα – PCR – αλληλούχηση	82
3.2.2.	Φυλογενετικές αναλύσεις	85
3.2.2.1.	Στοιχισμός αλληλουχιών – Διαχωρισμός απλοτύπων	85
3.2.2.2.	Επιλογή μοντέλου	85
3.2.2.3.	Εκτίμηση δέντρων γονιδίων («Gene Trees»)	86
3.2.3.	Θεώρηση του αριθμού ειδών	87
3.2.3.1.	Μέθοδος Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC)	87
3.2.3.2.	Μέθοδος Poisson Tree Process (PTP)	88
3.2.3.3.	Επιλογή συχνότερου συνόλου ειδών	89
3.2.4.	Δέντρα ειδών	93
3.2.5.	Μέθοδος «Bayesian Phylogeny and Phylogeography» (BP&P)	94
3.2.6.	Έλεγχος υποθέσεων αριθμού ειδών	95
3.3.	Αποτελέσματα	96
3.3.1.	Στοιχισμός – σύσταση αλληλουχιών – γενετικές αποστάσεις - μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης	96
3.3.2.	Δέντρα γονιδίων	97

3.3.3.	Εκτίμηση ειδών bGMYC – PTP	100
3.3.3.1.	Έλεγχος υποθέσεων για τον αριθμό ειδών	101
3.3.4.	Δέντρο ειδών.....	103
3.4.	Συζήτηση	105
3.4.1.	Προτεινόμενη Μεθοδολογία	105
3.4.2.	Αριθμός ειδών του γένους <i>Mesalina</i>	107
3.4.2.1.	Σύμπλεγμα ειδών <i>M. guttulata</i>	110
3.4.2.2.	Σύμπλεγμα ειδών <i>M. olivieri</i>	111
3.4.2.3.	Σύμπλεγμα ειδών <i>M. brevisrostris</i>	112
3.4.2.4.	Σύμπλεγμα ειδών <i>M. watsonana</i>	113
3.4.2.5.	Λοιπά είδη.....	113
3.4.3.	Συμπεράσματα.....	114
3.4.	Βιβλιογραφία	116
Κεφάλαιο 4^ο: Γενική Συζήτηση - Συμπεράσματα		124
4.	Γενική Συζήτηση/Συμπεράσματα	125
4.1.	Συμβολή ιστορικών δειγμάτων και μουσειακών συλλογών	125
4.2.	Συμβολή γενετικών δεικτών σε δυσπρόσιτες/ανεξερεύνητες περιοχές.....	127
4.3.	Ευρήματα συστηματικής μελέτης του γένους <i>Mesalina</i>	128
4.4.	Σημασία μελέτης ερημικών οικοσυστημάτων	130
4.5.	Βιβλιογραφία	134
Παράρτημα I		138
Παράρτημα II		145
Παράρτημα III		146

Περίληψη

Η Μέση Ανατολή και η Βόρεια Αφρική συνιστούν την «Σαχαρο-Αραβική» ζωογεωγραφική περιοχή η οποία χαρακτηρίζεται από το ευρύτερο σύστημα θερμών ερήμων παγκοσμίως. Η περιφέρεια της ερημικής ζώνης έχει ήδη αναγνωριστεί κατά τόπους (π.χ. Μεσογειακή ζώνη Β. Αφρικής και Μέσης Ανατολής) ως ζώνη υψηλής βιοποικιλότητας. Η γνώση μας ωστόσο για τη βιοποικιλότητα της κυρίως Σαχαρο-Αραβικής περιοχής καθώς και των ιστορικών διεργασιών που την έχουν διαμορφώσει παραμένει περιορισμένη. Η κατανόηση των προτύπων βιοποικιλότητας σε ένα τόσο δυναμικά εναλλασσόμενο σύστημα αναμένεται να αναβαθμίσει την αντίληψη μας αλλά και τον τρόπο μελέτης της ιστορικής βιογεωγραφίας. Σκοπός τη παρούσας διατριβής ήταν η συνεισφορά στην κατανόηση των κυρίως συμβάντων που έχουν επηρεάσει την διαμόρφωση της πανίδας στη Σαχαρο-Αραβική περιοχή. Πιο συγκεκριμένα, στο πλαίσιο αυτό πραγματοποιήθηκε η συστηματική μελέτη των σαυρών του γένους *Mesalina* Gray 1838 με κοινή ονομασία δρομέας της ερήμου («*desert runner*») και ευρεία κατανομή στην περιοχή μελέτης. Με σκοπό τη μελέτη του γένους ανακτήθηκαν αλληλουχίες μιτοχονδριακού και πυρηνικού DNA, οι οποίες αναλύθηκαν βάσει σύγχρονων φυλογενετικών και φυλογεωγραφικών μεθόδων. Επιπλέον στο πλαίσιο εξερεύνησης του αριθμού ειδών του γένους περιγράφεται μια νέα μεθοδολογία που επιτρέπει την επέκταση των μοντέλων «Poisson Tree Process» και «Generalized Mixed Yule Coalescent» ώστε να λαμβάνονται υπόψη πολλαπλοί γενετικοί δείκτες. Όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα, το γένος εμφανίστηκε κατά το πρώιμο Μειόκαινο (21-23 εκατομμύρια χρόνια πριν) στην περιοχή της Μέσης Ανατολής. Τα κύρια γεγονότα διάσπασης του γένους προκύπτουν ως συνδυαστικό αποτέλεσμα της δυναμικής τεκτονικής κίνησης της Αραβικής Χερσονήσου και των κλιματικών διακυμάνσεων που έχουν προκύψει από το Μειόκαινο. Οι ίδιες ιστορικές διεργασίες φαίνεται να έχουν επηρεάσει και άλλες ομάδες, ενώ αναλογίες έχουν παρατηρηθεί στην μελέτη άλλων ερημικών ζωογεωγραφικών ζωνών, όπως στην περίπτωση της Αυστραλίας. Όσον αφορά στον αριθμό ειδών του γένους, προέκυψε ότι βάσει μορφολογίας (14 είδη) είναι σημαντικά χαμηλότερος και στατιστικά υποδεέστερος σε σύγκριση με τον αριθμό ειδών που αναγνωρίστηκε βάσει γενετικής ποικιλότητας (49 είδη), βάσει της προτεινόμενης μεθοδολογίας. Συνεπώς τα

αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συμφωνούν με τη νέα αντίληψη του προτύπου βιοποικιλότητας της Σαχαρο-Αραβικής περιοχής η οποία χαρακτηρίζεται από υψηλό αριθμό ειδών με περιορισμένη κατανομή και όχι από μικρό αριθμό ειδών με ευρεία κατανομή. Συνολικά, τα ευρήματα της παρούσας διατριβής συμβάλλουν στην κατανόηση των προτύπων βιοποικιλότητας στη Σαχαρο-Αραβική περιοχή, αναδεικνύοντας παράλληλα την καταλληλότητα του γένους *Mesalina* ως οργανισμό δείκτης στη μελέτη παλαιοκλιματικών και παλαιογεωγραφικών συμβάντων της περιοχής.

Λέξεις Κλειδιά: Ιστορική βιογεωγραφία, Μέση Ανατολή, Βόρεια Αφρική, Σαχαρο-Αραβική περιοχή, έρημος, *Mesalina*, Lacertidae, φυλογένεση, οριοθέτηση ειδών, πολλαπλοί γενετικοί δείκτες

Abstract

The area of the Middle East and North Africa constitute the “Saharo-Sindian” zoogeographical region that is characterized by the widest system of warm deserts globally. The periphery of the desert zone has been recognized at sites (e.g. African and Middle-eastern Mediterranean zone) as high biodiversity zone. However, our knowledge on the biodiversity of the main Saharo-Arabian region and of the historical processes that have shaped it, remains limited. The lack of knowledge could be primarily attributed to the practical difficulties in the access of the area as well as the methodological difficulty in reconstructing the historical biogeography in such dynamically changing areas. Understanding the biodiversity patterns in the widest desert system would eventually enhance both our understanding and the approaching methods in historical biogeography. Furthermore, such studies could provide important knowledge in the context of confronting and preventing desertification events. The main goal of the present study was to contribute to the understanding of historical processes that have shaped the fauna of the Saharo-Arabian region. Within that frame we conducted the systematic study of the lizard genus *Mesalina* Gray 1838, also known as the “desert runner” that is widely distributed in the study area. To achieve that, we retrieved both mitochondrial and nuclear DNA sequences, which were analysed with up to date phylogenetic and phylogeographic methods. For the de novo approach of the number of *Mesalina* species, we propose a new methodology that extends the application of the “Poisson Tree Process” and “Generalized Mixed Yule Coalescent” so that multiple genetic markers can be taken under account in the species estimation. According to the results, *Mesalina* originated in early Miocene (21-23 million years ago). The major splitting events of the genus are driven by the coupling effect of the dynamic tectonic movement of the Arabian Peninsula and the climatic oscillations that have occurred since the Miocene. The same historical processes seem to have been the driving force of other taxonomic groups while analogous patterns have been observed in the study of other desert systems, as in the case of Australia. Regarding the number of species of the genus, our results suggest that the number that was assumed according to morphology (14 species) is significantly smaller and statistically inferior compared to the number suggested by the newly proposed methodology (49 species). Thus, the results of the current study

corroborates the emerging hypothesis that the Saharo-Arabian region is characterised by many and geographically restricted species rather than few and widely distributed species, which is the current perception. Concluding, the findings of the present study contribute to our understanding of the main forces that have shaped the fauna of the Saharo-Arabian region and highlight *Mesalina* as a suitable organism for the systematic study of the region.

Key words: Historical biogeography, Middle East, North Africa, Saharo-Arabian region, desert, *Mesalina*, Lacertidae, phylogeny, species delimitation, multiple genetic loci

Κεφάλαιο 1^ο: Γενική Εισαγωγή

1. Γενική Εισαγωγή

Η διατύπωση σαφών ορισμών στην επιστήμη της Βιολογίας πολλές φορές μπορεί να αποτελέσει ένα πολύ δύσκολο εγχείρημα αγγίζοντας έως και τα όρια της φιλοσοφίας, φαινόμενο που δεν είναι τόσο έντονο σε πιο σκληρές επιστήμες όπως τα Μαθηματικά ή Φυσική. Τυπικό παράδειγμα αποτελεί η προσπάθεια για τον ορισμό του «είδους» μιας από τις πιο θεμελιώδεις μονάδες για το σύνολο της επιστήμης της Βιολογίας. Το ίδιο πρόβλημα ωστόσο μπορεί να αντιμετωπίσει κανείς προσπαθώντας να ορίσει τομείς (π.χ. Συστηματική, Ταξινόμια), έννοιες (π.χ. ζωή) ή άλλες βασικές μονάδες της βιολογικής επιστήμης (π.χ. γονίδιο, πληθυσμός). Η προσέγγιση ή η εκτενής συζήτηση των προβλημάτων αυτών είναι πέραν του σκοπού της παρούσας διατριβής και ο ενδιαφερόμενος αναγνώστης παροτρύνεται να αναφερθεί στην αντίστοιχη βιβλιογραφία (ενδεικτικά για όρους που αφορούν την παρούσα διατριβή, Simpson, 1961; Mayr & Ashlock, 1969; Schuh, 2000; Mayr & Bock, 2002; Wiley & Lieberman, 2011). Δεδομένης της έλλειψης καθολικώς αναγνωρισμένων ορισμών κρίνεται πιο σημαντικός ο ορισμός του πλαισίου μέσα στο οποίο σε κάθε περίπτωση χρησιμοποιείται ένας όρος. Στην πορεία δίνονται συνοπτικά κάποιοι ορισμοί που αφορούν την οριοθέτηση του πλαισίου της παρούσας διατριβής.

1.1. Συστηματική

Η Βιολογία μπορεί να διαιρεθεί σε δύο βασικούς τομείς, τη «Γενική Βιολογία» («*General Biology*») που ασχολείται με τη μελέτη βιολογικών διαδικασιών και τη «Συγκριτική Βιολογία» («*Comparative Biology*») που ασχολείται με την μελέτη βιολογικών προτύπων (Nelson, 1970). Στην Γενική Βιολογία ο ερευνητής επιλέγει έναν κατάλληλο οργανισμό για την μελέτη της διεργασίας που τον ενδιαφέρει. Στην Συγκριτική Βιολογία ο ερευνητής ενδιαφέρεται να εντοπίσει τα χαρακτηριστικά διαφορετικών οργανισμών ώστε να εκτιμήσει τις ιστορικές και εξελικτικές σχέσεις τους. Η *Συστηματική* είναι η επιστημονική μελέτη της οργανικής ποικιλότητας, στο πλαίσιο που η ποικιλότητα σχετίζεται με κάποιο συγκεκριμένο πρότυπο εξελικτικών σχέσεων που αναμένεται να υπάρχει μεταξύ των οντοτήτων που μελετώνται (Wiley & Lieberman, 2011). Σύμφωνα με αυτόν τον ορισμό δεν είναι απαραίτητο κάθε συγκριτικός βιολόγος να ασχολείται με την συστηματική, παρόλο

που οποιαδήποτε συγκριτικά δεδομένα μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην συστηματική. Σύμφωνα με άλλους ορισμούς της, η Συστηματική μπορεί να θεωρηθεί ως συνώνυμο της Συγκριτικής Βιολογίας (Mayr & Ashlock, 1969) ή σε άλλες περιπτώσεις (Simpson, 1961) μπορεί να συγχέεται ή να χρησιμοποιείται ως συνώνυμο της Ταξινομίας, η οποία περιλαμβάνει τη θεωρία, την πρακτική, την περιγραφή και τη διάταξη («*ordering*») των οργανισμών σε κατηγορίες, ενώ ο τρόπος διάταξης σε κατηγορίες ορίζει μια συγκεκριμένη προσέγγιση της Ταξινομίας. Συμπληρωματικός όρος της Ταξινομίας είναι η Κατάταξη («*Classification*»), η οποία αναφέρεται στην κωδικοποίηση των αποτελεσμάτων των συστηματικών μελετών (Schuh, 2000). Συνοψίζοντας, στην παρούσα διατριβή υιοθετείται ο πιο περιεκτικός ορισμός της Συστηματικής με τη ταξινομία και η κατάταξη να υπάγονται σε αυτή. Ωστόσο αυτό δεν αποτελεί τον κανόνα σε κάθε περίπτωση που χρησιμοποιούνται οι όροι αυτοί (Schuh, 2000).

1.2. Φυλογένεση

Το 1866, ο Haeckel εισήγαγε για πρώτη φορά τον όρο «φυλογένεση», ο οποίος αντιστοιχούσε στη θεώρηση του Δαρβίνου για την «κοινή καταγωγή». Όπως διαμορφώθηκε από τον Haeckel, στην έννοια εμπερικλείονται οι έννοιες της κλαδογένεσης και της ποσότητας των εξελικτικών αλλαγών (αναγέννηση), αλλά όχι της φυσικής επιλογής (Mayr & Bock, 2002). Συνολικά, η φυλογένεση ήταν αντιληπτή ως η αναζήτηση και η μελέτη του κοινού προγόνου. Τα εξελικτικά δένδρογράμματα βασίζονται στη χαικελιανή φυλογένεση και μπορούν να θεωρούνται είτε χαικελιανά είτε δαρβινικά δένδρογράμματα αφού οι δύο όροι είναι αυστηρά ισοδύναμοι (Mayr & Bock, 2002).

Έναν αιώνα μετά ο Will Hennig (1966) εισήγαγε την έννοια της *φυλογενετικής συστηματικής* («*phylogenetic systematic*») η οποία αντιστοιχεί στη σημερινή σχολή της *κλαδιστικής* («*cladistics*»). Είναι μία από τις προσεγγίσεις της συστηματικής και της ταξινομίας, κατά την οποία οι βιολογικές κατατάξεις οφείλουν να είναι σύμφωνες με τις φυλογενετικές σχέσεις των διαφορετικών τάξεων. Με τον όρο *φυλογένεση* αναφερόταν στον ορισμό όπως αποδόθηκε από τον Haeckel, ωστόσο η διατύπωσή του εισήγαγε μια τελείως διαφορετική έννοια. Η μελέτη της φυλογένεσης για εκείνον ήταν

μια διαδικασία προς το μέλλον, με σημείο εκκίνησης, σε αντίθεση με τη χαικελιανή προσέγγιση, το προγονικό είδος. Η κατά Hennig συστηματική διακρίνει ένα κλάδο που περιλαμβάνει όλους τους απογόνους, ανεξάρτητα από το πόσο διαφορετικοί μπορεί να είναι. Για παράδειγμα, το προγονικό είδος που έδωσε γένεση στον κλάδο που τελικά οδήγησε στα σημερινά θηλαστικά ήταν ένα πρώιμο ερπετό της τάξης Pelycosauria. Συνεπώς, σύμφωνα με την χενίγγια προσέγγιση ο κλάδος των θηλαστικών περιλαμβάνει όχι μόνο τα θηλαστικά αλλά και τα, τόσο διαφορετικά, πρώιμα ερπετά (Ax, 1985).

Στην πράξη ο όρος «φυλογένεση» χρησιμοποιείται σήμερα με πολύ πιο ευρύ και ασαφή τρόπο (Ax, 1985) από όπως ορίστηκε είτε από τον Haeckel είτε από τον Hennig. Στην πλειονότητα των δημοσιεύσεων, ο όρος αναφέρεται στη μελέτη και την κατανόηση των σχέσεων μεταξύ ειδών ή πληθυσμών χρησιμοποιώντας είτε γενετικούς (αλληλουχίες DNA, μικροδορυφορικά κ.α.) είτε φαινοτυπικούς χαρακτήρες (μορφολογικά, πρωτεΐνες κ.α.) ή όπως πολύ απλά διατυπώνεται από τον Edwards (2009), φυλογένεση είναι η ιστορία των ειδών και των πληθυσμών. Με ανάλογο τρόπο χρησιμοποιείται και στην παρούσα διατριβή.

Στην πιο σύγχρονη εποχή καταλυτικό ρόλο στον τομέα της φυλογένεσης έχει παίξει η δυνατότητα αλληλούχησης του DNA. Ως χαρακτήρας για την εκτίμηση φυλογενετικών σχέσεων είχε τεράστια απήχηση και σηματοδότησε τη δημιουργία του σύγχρονου τομέα της φυλογένεσης, της *Μοριακής Φυλογένεσης*. Η μοριακή φυλογένεση μελετά τις σχέσεις των ειδών ή των πληθυσμών βάσει γενετικών χαρακτήρων με τη χρήση τριών κύριων μεθόδων: 1) βάσει χαρακτήρων («*character based*»), με κύριο εκπρόσωπο την ανάλυση υπό το κριτήριο της Μέγιστης Φειδωλότητας που βασίζονται μόνο στους χαρακτήρες οι οποίοι είναι πληροφοριακοί στην επιλογή του φυλογενετικού δέντρου με τα λιγότερα εξελικτικά βήματα 2) βάσει γενετικών αποστάσεων, που εκτιμούν τις φυλογενετικές σχέσεις υπολογίζοντας τις γενετικές αποστάσεις ανά ζεύγη αλληλουχιών [π.χ. UPGMA, Σύνδεσης Γειτόνων («*Neighbour Joining*») και 3) βάσει εξελικτικών μοντέλων («*model based*»), στις οποίες συγκαταλέγονται η μέθοδος της Μπεϋζιανής Συμπερασματολογίας («*Bayesian Inference*») και της Μέγιστης Πιθανοφάνειας («*Maximum Likelihood*»). Οι εκτιμήσεις των μεθόδων της τελευταίας κατηγορίας έχει βρεθεί ότι, βάσει της υπολογιστικής τους εφαρμογής, είναι οι πιο ρεαλιστικές για τα περισσότερα σύνολα δεδομένων (Kuhner & Felsenstein, 1994; Gaut & Lewis, 1995; Gadagkar & Kumar, 2005), αλλά και οι πιο απαιτητικές υπολογιστικά. Εντούτοις η αύξηση της υπολογιστικής δύναμης, αλλά και

η ανάπτυξη του τομέα της βιοπληροφορικής που προσφέρει πιο εκλεπτυσμένες λύσεις σε απαιτητικά προβλήματα, επιτρέπουν πλέον την ευρεία τους χρήση.

1.3. Φυλογεωγραφία

Η ιδέα ότι οι φυλογενετικές σχέσεις μπορούν να παρέχουν πληροφορίες για τις προγονικές κατανομές έχει γίνει αντιληπτή ήδη από τον Δαρβίνο (1859). Η ίδια η πρακτική χρήση των κλαδιστικών μεθόδων όπως προτάθηκαν από τον Willi Hennig (1966) στη βιογεωγραφία, μπορεί να τοποθετηθεί περίπου 50 χρόνια πριν, με τη μελέτη μυγών της οικογένειας Chironomidae στην Ανταρκτική και τις γειτονικές ηπείρους (Αυστραλία, Νότια Αφρική, Νότια Αμερική και Νέα Ζηλανδία) (Brundin, 1965, 1966). Η διατύπωση του όρου *φυλογεωγραφία* όπως ονομάζεται πλέον ο τομέας που ασχολείται με τέτοιου τύπου μελέτες, έγινε πριν από 27 χρόνια από τον Avise και τους συνεργάτες του (Avise *et al.*, 1987). Πιο συγκεκριμένα στην εργασία αυτή προτάθηκε η ενσωμάτωση της φυλογένεσης και της πληθυσμιακής γενετικής με σκοπό τη μελέτη μικρο και μακρο-εξελικτικών φαινομένων. Η διαπίστωση των συγγραφέων που οδήγησε σε αυτή την πρόταση ήταν ότι: «*microevolutionary processes operating within species can be extrapolated to explain macroevolutionary differences among species and higher taxa*» (Avise *et al.*, 1987, σελ. 489).

Όπως ορίστηκε αργότερα στο ομώνυμο και θεμελιώδες για τον τομέα βιβλίο («*Phylogeography*»), η *Φυλογεωγραφία* είναι το πεδίο μελέτης που αφορά τις αρχές και τις διαδικασίες που διέπουν τη γεωγραφική κατανομή γενεαλογικών γραμμών, κυρίως εντός ενός είδους ή μεταξύ στενά συγγενικών ειδών (Avise, 2000). Με άλλα λόγια είναι η τοποθέτηση γονιδιακών γενεαλογιών στους άξονες του χώρου και του χρόνου.

Στην ανάπτυξη της σύγχρονης φυλογεωγραφίας σε πρακτικό επίπεδο, θεμελιώδη ρόλο έπαιξε η χρήση και ανάλυση μιτοχονδριακών δεδομένων σε επίπεδο είδους. Στους ζωικούς οργανισμούς η χρήση των μιτοχονδριακών δεικτών (mtDNA) προωθήθηκε λόγω των σημαντικών τεχνικών, εξελικτικών και αναλυτικών πλεονεκτημάτων που διαθέτουν έναντι των πυρηνικών δεικτών: έλλειψη ανασυνδυασμού, μικρότερο δραστικό πληθυσμιακό μέγεθος και κατά συνέπεια μικρότερο αναμενόμενο χρονικό διάστημα για την αμοιβαία μονοφυλία μεταξύ διακριτών γεωγραφικών περιοχών (ή με άλλο τρόπο απομονωμένων), απλοειδές

μόριο, γρηγορότερος ρυθμός εξέλιξης κ.α. (Avise et al., 1987). Τα χαρακτηριστικά αυτά επιτρέπουν την εκτίμηση των γενεαλογιών περιλαμβάνοντας μόνο τις μητρικές γενεαλογίες («*matrilineal genealogies*») και συνεπώς είναι χρήσιμες αφού είναι ιεραρχικά δομημένες και απεικονίζουν ξεκάθαρα τις σχέσεις μεταξύ των ατόμων που εξετάζονται (Irwin, 2002). Εντούτοις στην πράξη, σε μία φυλογενετική ανάλυση το κάθε τμήμα mtDNA από κάθε άτομο (εντός ή μεταξύ πληθυσμών) εξισωνόταν και αντιμετωπιζόταν ως η λειτουργική ταξονομική μονάδα («*Operational Taxonomic Unit*», OTU) της ανάλυσης (Hickerson et al., 2010). Σε πρακτικό επίπεδο οι κλάδοι εντός ενός είδους υποτίθεται ότι αντικατοπτρίζουν τα όρια πληθυσμών και συνεπώς η φυλογεωγραφία ξεκίνησε να εξερευνά την ιστορία κλάδο-οριζόμενων γενεαλογιών εντός των ειδών.

Τα τελευταία χρόνια, οι φυλογενετικές μέθοδοι στη φυλογεωγραφία εξελίσσονται γρήγορα όλο και πιο εκλεπτυσμένες. Η αναγνώριση και υιοθέτηση του πληθυσμιακού μοντέλου σύγκλισης («*coalescent model*») σε πολλές μεθόδους (π.χ. BEAST, pop-ABC, BPP) έχει συντελέσει σημαντικά στην αντικειμενικότερη υπόθεση για τους τρόπους εξάπλωσης και εξέλιξης των ειδών ή των πληθυσμών. Επιπλέον, η υιοθέτηση του μοντέλου αυτού έχει παροτρύνει την συνδυαστική χρήση πολλαπλών γενετικών δεικτών και την ορθότερη εκτίμηση των φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ ειδών (Hickerson et al., 2010).

1.4. Γενικά στοιχεία της περιοχής μελέτης

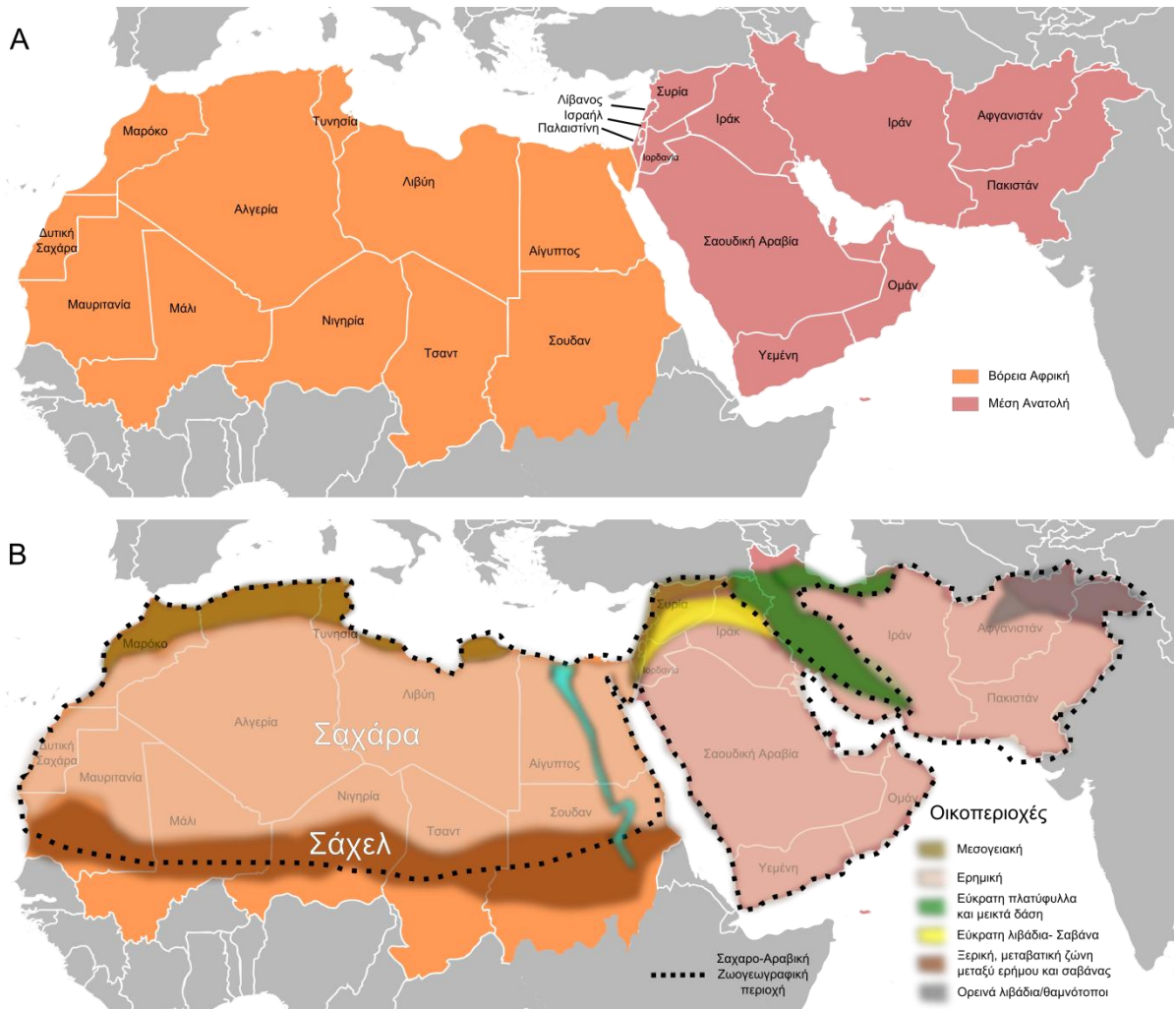
Η παρούσα διατριβή αφορά την ευρύτερη χερσαία περιοχή της Νότιας και Ανατολικής Μεσογειακής Λεκάνης και πιο συγκεκριμένα τη Βόρεια Αφρική και την Μέση Ανατολή. Η αναφορά στον όρο «Βόρεια Αφρική» παραδοσιακά περιλαμβάνει τις χώρες (από δυτικά προς ανατολικά) Μαρόκο, Μαυριτανία, Δυτική Σαχάρα, Μάλι, Αλγερία, Νιγηρία, Τυνησία, Λιβύη, Τσαντ, Σουδάν και Αίγυπτο. Οι χώρες αυτές διακρίνονται από τις υπόλοιπες της Αφρικής λόγω της εκτεταμένης ερημικής περιοχής, γνωστή ως «Σαχάρα», και της γειτονικής μεταβατικής ζώνης «Σάχελ» που εξαπλώνεται σε αυτές (Εικόνα 1.1.). Οι κοινές οικολογικές συνθήκες των χωρών αυτών είχαν ως επίπτωση και την κοινωνικοπολιτική ενότητά τους σε αντιδιαστολή με τις γειτονικές υπο-Σαχάριες χώρες.

Αντίθετα, ο όρος «Μέση Ανατολή» δεν αναφέρεται πάντα στον ίδιο συνδυασμό χωρών, ενώ είναι περισσότερο συνδεδεμένος με κοινωνικοπολιτικά φαινόμενα, παρά με κάποιας μορφής οικολογική ή παλαιογραφική συνοχή όπως στην περίπτωση της Βόρειας Αφρικής. Εναλλακτικά χρησιμοποιείται ο όρος «Εγγύς Ανατολή» αντί για Μέση Ανατολή σε αντιδιαστολή με την «Άπω Ανατολή», χαρακτηρισμοί που αντιστοιχούν στην Δυτική και Ανατολική Ασία. Στην παρούσα μελέτη με τον όρο «Μέση Ανατολή» αναφερόμαστε στις χώρες Συρία, Ιορδανία, Ισραήλ, Λίβανο, Παλαιστίνη, Ιράκ, Σαουδική Αραβία, Υεμένη, Ομάν, Ηνωμένα Αραβικά Εμιράτα, Κατάρ, Μπαχρέιν, Κουβέιτ, Ιράν, Αφγανιστάν και Πακιστάν (Χάρτης 1.1). Αξίζει να αναφερθεί ότι γίνονται τρεις βασικές αποκλίσεις από την συνήθη αναφορά στον όρο (http://en.wikipedia.org/wiki/Middle_East): 1) δεν περιλαμβάνεται η Τουρκία, στην οποία δεν απαντάται το μελετώμενο τάξο (βλ., 1.5.3), 2) η Αίγυπτος, η οποία είναι η μόνη από τις χώρες που συνήθως περιλαμβάνεται στη Μέση Ανατολή, ενώ παλαιογεωγραφικά αποτελεί μέρος της Β. Αφρικής και 3) συμπεριλαμβάνονται οι χώρες Αφγανιστάν και Πακιστάν που πολλές φορές δεν συμπεριλαμβάνονται στη Μέση Ανατολή.

Ο συνδυασμός της Μέσης Ανατολής και της Β. Αφρικής, υπό τον ορισμό που τους αποδίδεται στο παρόν κείμενο, συνιστούν την «Σαχαρο-Αραβική» ζωογεωγραφική περιοχή¹ (Holt *et al.*, 2013) ή «Σαχαρο-Σινδική» βάσει της χλωρίδας. Η Σαχαρο-Αραβική περιοχή χωρίζεται περαιτέρω σε τουλάχιστον οχτώ οικοπεριοχές², από τις οποίες κυρίαρχη είναι η Ερημική (Χάρτης 1.1).

¹ Σήμερα αναγνωρίζονται 11 ευρύτερες ζωογεωγραφικές περιοχές οι οποίες έχουν διακριθεί βάσει των κατανομών και των φυλογενετικών σχέσεων 21.037 ειδών θηλαστικών, πτηνών και αμφιβίων.(Holt *et al.*, 2013)

² **Οικοπεριοχή:** Σχετικά μεγάλες μονάδες γης που αποτελούνται από διακριτές συναθροίσεις φυσικών κοινοτήτων και ειδών, με όρια που προσεγγίζουν την αρχική (πριν από οποιαδήποτε αλλαγή λόγω εκμετάλλευσης της γης) εκταση φυσικών κοινοτήτων (ακριβής διατύπωση «*relatively large units of land containing a distinct assemblage of natural communities and species, with boundaries that approximate the original extent of natural communities prior to major land-use change*»).(Olson *et al.*, 2001).



Χάρτης 1.1.: Περιοχή μελέτης, Α) Η Μέση Ανατολή και η Βόρεια Αφρική όπως χρησιμοποιούνται στην παρούσα διατριβή και Β) με σκιάσεις απεικονίζονται οι κύριες οικοπεριοχές της Μέσης Ανατολής και της Β. Αφρικής, ενώ με στικτή γραμμή οριοθετείται η Σαχαιο-Αραβική ζωογεωγραφική περιοχή (από Olson et al., 2001; Brito *et al.*, 2013; Holt et al., 2013).

Οι ερημικές και ημιορημικές εκτάσεις παγκοσμίως καλύπτουν πάνω από το ένα τρίτο της έκτασης της γης, κατά συνέπεια αποτελούν τον πιο εκτεταμένο τύπο mega-διάπλασης/μεγα-οικοσυστήματος (biome)³ της γης (Laity, 2009; Lomolino et al., 2010). Από την έκταση αυτή περίπου το 4% αντιστοιχεί σε υπέρξηρες περιοχές, το 15% σε ξηρές και περίπου το 14.6% σε ημίξηρες, ενώ συνολικά $\sim 49 \cdot 10^6$ km²

³ **Μεγα-διάπλαση:** Ταξινόμηση των χερσαίων κοινοτήτων (communities) κυρίως βάσει της δομής (ή της φυσιολογίας) της βλάστησης (ανάλογες διαιρέσεις έχουν αποτελέσει οι «life zones», «natural regions»). Οι περισσότεροι βιογεωγράφοι αναγνωρίζουν έξι βασικές mega-διαπλάσεις: «Forest», «Woodland», «Shrubland», «Grassland», «Scrub» και «Desert». Απόρροια της ταξινόμησης αυτής αποτελεί και η ομοιότητα των mega-διαπλάσεων όσο αφορά το κλίμα, τον τύπο εδάφους και την πανίδα τους. (Lomolino *et al.*, 2010)

πλήττονται από ξηρασία (Laity, 2009). Οι ζεστές έρημοι και οι ημίερημοι εμφανίζονται κυρίως σε χαμηλά με μέσα υψόμετρα, σε ξηρά κλίματα και γεωγραφικό πλάτος 30° έως 40° (ζώνη των πλατών του ίππου) στο βόρειο και νότιο ημισφαίριο (Lomolino et al., 2010). Παρόλο που οι ζεστές έρημοι μπορεί να μοιράζονται πολλά κοινά χαρακτηριστικά, η διατύπωση ενός κοινού ορισμού δεν αποτελεί εύκολο εγχείρημα (Laity, 2009). Συνολικά, χαρακτηρίζονται από χαμηλό, εποχιακό και απρόβλεπτο ποσοστό βροχόπτωσης (< 25 cm ετησίως), πολύ χαμηλότερο από το δυναμικό εξάτμισης, χαμηλή έως καθόλου φυτοκάλυψη, υψηλές καλοκαιρινές θερμοκρασίες, έντονα αιολικά φαινόμενα, λιγότερο από 30% του έτους νεφοκάλυψη, χαμηλή υγρασία (έως 5% στη Σαχάρα) (Laity, 2009; Lomolino et al., 2010). Ωστόσο υπάρχει μεγάλη διακύμανση των παραγόντων αυτών για τις διαφορετικές ερήμους. Η ερημική ζώνη της παρούσας μελέτης (Εικόνα 1.1.) παρουσιάζει κάποια χαρακτηριστικά που την καθιστούν ιδιαίτερη σε σχέση με τις υπόλοιπες (Brito et al., 2013). Μεταξύ των άλλων, η Σαχάρα από μόνη της είναι η μεγαλύτερη θερμή έρημος με έκταση πάνω από $11 * 10^6 \text{ km}^2$ (συμπεριλαμβάνοντας την περιοχή Σάχελ). Σε συνδυασμό με την Αραβική, τη Συριακή (προέκταση της Αραβικής στο Βορρά) και τις Ιρανικές, αποτελούν ένα σύστημα ερήμων που ξεπερνά σε έκταση τα $14 * 10^6 \text{ km}^2$, πολύ μεγαλύτερο από οποιοδήποτε σύστημα ερήμων παγκοσμίως. Επιπλέον, χαρακτηρίζεται από μεγάλη ποικιλότητα τοπογραφικών χαρακτηριστικών και κλιματική ετερογένεια (Brito et al., 2013 και αναφορές εκεί).

Οι έρημοι δημιουργούν την εντύπωση σκληρών οικοσυστημάτων όμως είναι από τα πλέον εύθραυστα, με χαμηλή προσαρμοστικότητα, αφού η ανάκαμψή τους από κάποια διαταραχή μπορεί να χρειαστεί και αιώνες (Lomolino et al., 2010). Κατά κύριο λόγο γίνονται αντιληπτά ως γυμνά, ομοιογενή οικοσυστήματα με χαμηλή αναμενόμενη ποικιλότητα που τα καθιστά από τα λιγότερο ελκυστικά στην επιστημονική κοινότητα (Durant et al., 2012; Brito et al., 2013). Ως συνέπεια, οι γνώσεις μας για την ποικιλότητα και την εξελικτική ιστορία της πανίδας και της χλωρίδας των ερημικών περιοχών είναι σημαντικά περιορισμένες. Στην ευρύτερη σημασία κατανόησης και καταγραφής της βιοποικιλότητας, οφείλει να δοθεί μεγαλύτερη βαρύτητα στη μελέτη των περιοχών αυτών, αφενός διότι αποτελούν τη μεγαλύτερη mega-διάπλαση της Γης, αφετέρου διότι εκεί απαντώνται μερικά από τα πλέον κινδυνεύοντα καταγεγραμμένα είδη (Durant et al., 2012). Η αυξανόμενη ανθρώπινη δραστηριότητα έχει ως άμεση αρνητική συνέπεια τη μείωση της

βιοποικιλότητας των ερημικών οικοσυστημάτων (Trape, 2009; Durant et al., 2012). Επακόλουθο της μείωσης της βιοποικιλότητας είναι η επιτάχυνση της ερημοποίησης των περιοχών που με τη σειρά του ως φαινόμενο επιτείνει τη φτώχεια, τη χαμηλή ποιότητα ζωής και τις εμπόλεμες συγκρούσεις (Thornton et al., 2008; Davies et al., 2012; Brito et al., 2013). Δεδομένης της πρόσθετης επιβάρυνσης λόγω των κλιματικών αλλαγών, η μελέτη και προστασία της βιοποικιλότητας της ερημικής ζώνης είναι άμεσης προτεραιότητας (Davies et al., 2012; Durant et al., 2012; Brito et al., 2013).

1.5. Ομάδα μελέτης

Τα ερπετά συγκαταλέγονται ανάμεσα στις οικολογικά και συστηματικά πιο ενδιαφέρουσες ομάδες οργανισμών, έχοντας εποίκισει επιτυχώς το μεγαλύτερο μέρος του πλανήτη, συμπεριλαμβάνοντας τους ωκεανούς και μερικά από τα πιο σκληρά και ευμετάβλητα οικοσυστήματα (Pincheira-Donoso et al., 2013). Όσον αφορά στη συστηματική, τα ερπετά αντιστοιχούν στην κλάση «Reptilia» η εγκυρότητα της οποίας έχει αμφισβητηθεί κυρίως από τους κλαδιστές που αναγνωρίζουν μόνο μονοφυλετικές ομάδες (Tudge, 2000). Από την αρχική περιγραφή της κλάσης (Laurenti, 1768) έως σήμερα στα Reptilia έχουν αποδοθεί διάφοροι συνδυασμοί τάξεων (Modesto & Anderson, 2004) συμπεριλαμβανομένων και των Αμφιβίων. Συνήθως ορίζεται ως παραφυλετική υπο-ομάδα των Αμνιωτών περιλαμβάνοντας τα Χελώνια (Chelonia), τα Κροκοδείλια (Crocodylia), τα Ρυγχοκέφαλα (Rynchocephala) και τα Φολιδωτά (Squamata). Η παραφυλία της ομαδοποίησης αυτής έγκειται στο γεγονός ότι δεν περιλαμβάνει την κλάση των Πτηνών (Aves) που είναι πιο συγγενική με τα Κροκοδείλια αλλά και λόγω της συμπερίληψης κάποιων ερπετόμορφων-θηλαστικών απολιθωμάτων αλλά όχι των σημερινών θηλαστικών (Mammalia). Σύμφωνα με τον πιο πρόσφατο ορισμό της κλάσης (Modesto & Anderson, 2004) τα Reptilia ορίζονται ως «*the most inclusive clade containing Lacerta agilis Linnaeus 1758 and Crocodylus niloticus Laurenti 1768, but not Homo sapiens Linnaeus 1758*». Σύμφωνα με τον ορισμό αυτό και την τρέχουσα φυλογένεση των αμνιωτών (π.χ., Hedges, 2012; Field et al., 2014) στα Reptilia περιλαμβάνεται και η κλάση των πτηνών. Για την παρούσα μελέτη η ομάδα ενδιαφέροντος των ερπετών είναι τα

Φολιδωτά (σαύρες, φίδια και αμφισβαίνια). Ως τάξη είναι ιδιαίτερα διαφοροποιημένη με πάνω από 9.671 είδη (<http://www.reptile-database.org/db-info/SpeciesStat.html>) τη στιγμή που οι συγγενικές της (Κροκόδειλια, Χελώνια και Ρυγχοκέφαλα) δεν αριθμούν περισσότερα από 350 είδη (Pincheira-Donoso et al., 2013). Από τα Φολιδωτά, οι σαύρες διαθέτουν κάποια πλεονεκτήματα έναντι των φιδιών και των αμφισβαινίων, όπως τα μεγαλύτερα πληθυσμιακά μεγέθη, η ημερήσια μη κρυπτική δραστηριότητα, η ευρύτητα των οικοτόπων όπου απαντώνται, που τα καθιστούν πιο ελκυστικά στους ερευνητές.

Οι σαύρες έχουν αποτελέσει οργανισμούς μοντέλο για κεντρικά ερωτήματα τόσο της οικολογίας όσο και της εξέλιξης (Huey *et al.*, 1983; Pianka & Vitt, 2003; Losos, 2009), με κορωνίδα το γένος *Anolis* που βρίσκεται ανάμεσα στους πιο καλά μελετημένους οργανισμούς της Βιολογίας. Πρόσφατα μάλιστα αλληλουχίστηκε και το πλήρες γονιδίωμα ενός από τα είδη (*Anolis carolinensis*) του γένους (Alföldi *et al.*, 2011), γεγονός που προσφέρει ακόμα ένα πλεονέκτημα στη μελέτη τους. Πρόσφατα έχουν προταθεί και ως ιδανικοί οργανισμοί για τη μελέτη φυλογεωγραφικών ερωτημάτων (Camargo *et al.*, 2010). Τα χαρακτηριστικά που καθιστούν τις σαύρες κατάλληλους οργανισμούς για τη διερεύνηση πληθώρας βιολογικών ερωτημάτων έχουν αναλυθεί σε βάθος χρόνου από διαφορετικές σκοπιές και ερευνητές (Huey *et al.*, 1983; Pianka & Vitt, 2003; Reilly *et al.*, 2007). Μερικά μόνο από αυτά, είναι ότι είναι γεωγραφικά ευρέως κατανομημένες, καταλαμβάνουν ευρύ φάσμα οικοτόπων και χαρακτηρίζονται από μεγάλη ποικιλότητα στο μέγεθος, τη μορφολογία αλλά και την οικολογία τους (Pianka & Vitt, 2003; Camargo *et al.*, 2010). Επιπλέον, η δραστηριότητά τους την ημέρα και τα πληθυσμιακά τους μεγέθη επιτρέπουν τον εύκολο εντοπισμό και συλλογή τους. Τέλος, η αναγνώριση των πλεονεκτημάτων τους σε βάθος χρόνου και η εκτεταμένη μελέτη τους, έχει ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση γνώσης για την φυσική τους ιστορία, την οικοφυσιολογία και την προσαρμοστική οικομορφολογία τους, που παρέχουν το ιδανικό πλαίσιο για τη μελέτη ερωτημάτων φυλογεωγραφίας και ειδογένεσης (Camargo *et al.*, 2010).

1.5.1. Οικογένεια Lacertidae

Η οικογένεια Lacertidae αποτελείται από τουλάχιστον 280 περίπου είδη (Arnold *et al.*, 2007) που αντιστοιχούν σε 40 γένη τα οποία απαντώνται ευρέως σε όλη την Ευρασία και την Αφρική. Τα είδη της οικογενείας, κοινώς αποκαλούμενα ως «αληθινές σαύρες», είναι από τις πιο κοινές, ενώ απαντώνται σε μεγάλο εύρος οικοτόπων από δάση και θαμνότοπους μέχρι αλπικές και θερμές ερήμους.

Η συστηματική της οικογένειας υπήρξε το αντικείμενο πολλών εργασιών χρησιμοποιώντας μορφολογικά, γενετικά και βιοχημικά δεδομένα (e.g., Mayer & Benyr, 1995; Fu, 2000; Arnold *et al.*, 2007; Pavlicev & Mayer, 2009; Kapli *et al.*, 2011). Η αρχική διαίρεση της οικογένειας στις δύο μεγάλες υπο-ομάδες τα «Αρχέγονα Παλαιαρκτικά και Ασιατικά είδη» και τα «Αιθιοπικά και προηγμένα Σαχαρο-Ευρασιακά είδη», προέκυψε βάσει μορφολογικών χαρακτηριστικών (Arnold, 1989). Στη συνέχεια η μελέτη γενετικών δεικτών (Mayer & Benyr, 1994, 1995; Harris *et al.*, 1998) οδήγησε στην αναγνώριση τριών κύριων κλάδων τα Gallotinae, τα Lacerti-ni/-nae και τα Eremiadi-ni/-nae, η ταξινομική βαθμίδα των οποίων παραμένει θέμα συζήτησης (Arnold *et al.*, 2007; Mayer & Pavlicev, 2007). Οι τρεις ομάδες εξαπλώνονται σε διακριτές περιοχές, χωρίς ιδιαίτερη αλληλεπικάλυψη μεταξύ τους: 1) τα Gallotinae εξαπλώνονται στα Κανάρια νησιά και τις γειτονικές ηπειρωτικές περιοχές (Ν.Δ. Ευρώπη, Β.Δ. Αφρική), 2) τα Lacertini που εξαπλώνονται κυρίως στην Ευρώπη με κάποια από τα είδη να εισχωρούν στην Ασία και τα 3) τα Eremiadini τα οποία εξαπλώνονται κυρίως στην Αφρική και την Μέση Ανατολή.

Η οικογένεια Lacertidae είναι από τις καλύτερα μελετημένες οικογένειες σαυρών παγκοσμίως (Camargo *et al.*, 2010). Εντούτοις, οι φυλογενετικές σχέσεις μεταξύ των γενών της παραμένουν σε μεγάλο βαθμό άλυτες. Όλες οι μέχρι τώρα φυλογενετικές εκτιμήσεις για την οικογένεια χαρακτηρίζονται από κοντούς εσωτερικούς και μακριούς εξωτερικούς κλάδους θυμίζοντας τις «bush-like» φυλογενέσεις (sensu Rokas & Carroll, 2006). Η φυλογεωγραφική υπόθεση για την εξήγηση του φαινομένου είναι ότι το τάξο υπέστη πολλαπλή ακτινωτή διάσπαση κατά το Μέσο Μειόκαινο, ως αποτέλεσμα πολλαπλών τεκτονικών και κλιματικών αλλαγών της εποχής (Pavlicev & Mayer, 2009). Ωστόσο η υπόθεση αυτή παραμένει υπό συζήτηση, εφόσον η ίδια η εκτίμηση των χρόνων διάσπασης παραμένει

αμφιλεγόμενη (Hipsley *et al.*, 2009; Pavlicev & Mayer, 2009). Επιπλέον, πριν την αποδοχή μιας τέτοιας υπόθεσης, όπως έχει διατυπωθεί και σε προηγούμενες μελέτες (Karli *et al.*, 2011) οφείλουν να εξεταστούν δύο επιπλέον παράγοντες 1) η ποιότητα και η ποσότητα των γενετικών δεικτών καθώς οι γενετικοί δείκτες που έχουν χρησιμοποιηθεί ως τώρα ενδεχομένως να μην είναι επαρκείς για την επίλυση των φυλογενετικών σχέσεων των γενών της οικογένειας, 2) η εκπροσώπηση της ποικιλότητας της οικογένειας, δεδομένου ότι η γνώση μας για την ποικιλότητα εντός των περισσότερων γενών είναι σημαντικά περιορισμένη.

1.5.2. Γένος *Mesalina* Gray, 1838

Το γένος *Mesalina*, με κοινό όνομα δρομέας της ερήμου («*desert runner*»), ανήκει στην οικογένεια των αληθινών σαυρών (Πίνακας 1.1.). Τα είδη του γένους *Mesalina* είναι συγκριτικά μικρά σε μέγεθος (μέγιστο SVL⁴ έως 50 mm). Εξαιρέση αποτελεί η *M. rubropunctata* που είναι σημαντικά μεγαλύτερη από τα υπόλοιπα είδη (ελάχιστο SVL 50mm, σε ενήλικα άτομα). Κάποια από τα είδη του γένους επιτυγχάνουν σεξουαλική ωριμότητα μέσα σε ένα χρόνο (Szczerbak, 1974), και συνεπώς θεωρούνται ότι είναι ανάμεσα στις σαύρες με τη γρηγορότερη διαδοχή γενεών στην περιοχή μελέτης (Schleich *et al.*, 1996). Κατά συνέπεια εμφανίζουν *r* στρατηγική που είναι τυπική σε είδη με μικρή διάρκεια ζωής και υψηλή ικανότητα αποίκησης (Schleich *et al.*, 1996). Όλα τα είδη είναι ενεργά κατά τη διάρκεια της ημέρας, ακόμα και τις πιο ζεστές ώρες. Η διατροφή τους περιλαμβάνει μεγάλο φάσμα μικρών ασπόνδυλων που μπορεί να διαφοροποιείται εποχιακά ανάλογα με την διαθεσιμότητα. Συνήθως αποτελείται από μυρμηγκία και άλλα υμενόπτερα, δίπτερα, μικρά σκαθάρια και ακρίδες (Disi *et al.*, 2001).

⁴ «Snout-Vent Length» (SVL), είναι το μήκος από το ρύγχος έως την αμάρα. Είναι η πιο συχνή και αντιπροσωπευτική μέτρηση μεγέθους στις σαύρες.



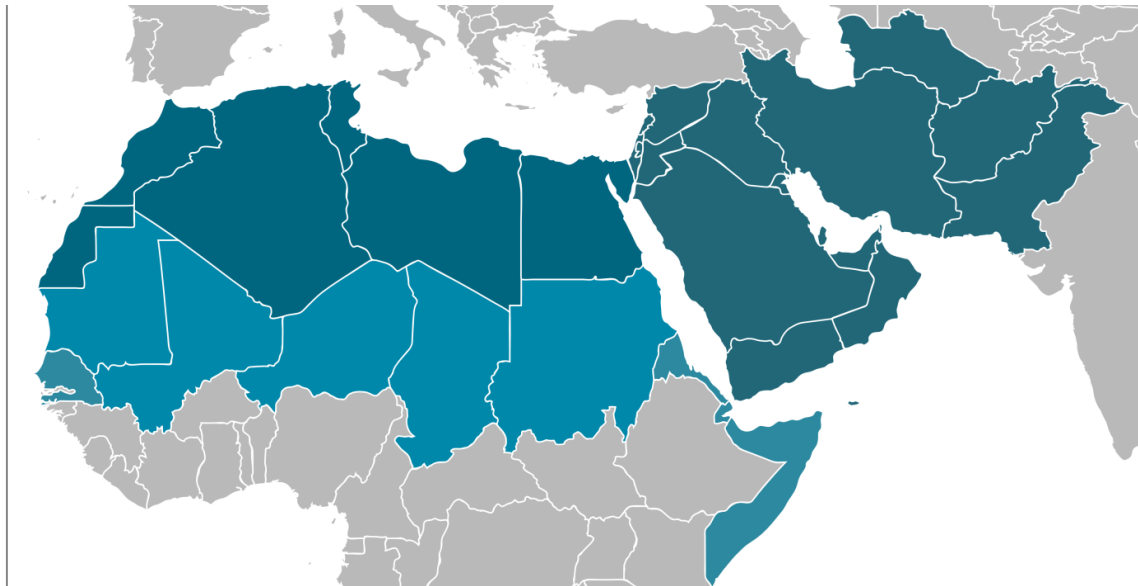
Εικόνα 1.2.: Ενδεικτικές φωτογραφίες ειδών του γένους *Mesalina*, A-Γ, Z) *Mesalina* sp.: ο συγκεκριμένος μορφότυπος αποτελεί πιθανότατα νέο είδος του γένους αφού φέρει συνδυασμό μορφολογικών χαρακτήρων που δεν αντιστοιχεί σε κανένα από τα περιγεγραμμένα είδη. Η συγκεκριμένη μορφή έχει βρεθεί από τους P.-A. Crochet και J.C. Brito σε τέσσερις τοποθεσίες στην Μαυριτανία, συμπάτρια με την *M. pasteuri*, Δ, Θ-I) *M. pasteuri* και E, H) *M. guttulata* [φωτογραφίες από P.-A. Crochet (A-Z, Θ-I) και Α. Τριχά (H)].

Η μελέτη της συστηματικής των ειδών του γένους *Mesalina* απασχολεί σταθερά την ερευνητική κοινότητα. Η αναγνώριση του ίδιου του γένους αλλά και των ειδών του, έχει βασιστεί κατά κύριο λόγο σε μορφολογικούς χαρακτήρες (Szczerbak, 1974; Lanza & Poggesi, 1975; Arnold, 1986a; Arnold, 1986b; Mayer, 1989; Szczerbak, 1989; Arnold *et al.*, 1998; Segoli *et al.*, 2002). Τα τελευταία χρόνια έχουν δημοσιευτεί τέσσερις εργασίες που αφορούν τη μοριακή φυλογένεση του γένους (Joger & Mayer, 2002; Mayer *et al.*, 2006; Kapli *et al.*, 2008; Šmíd & Frynta, 2012). Σε όλες τις εργασίες χρησιμοποιήθηκαν αποκλειστικά μιτοχονδριακοί γενετικοί τόποι (δύο κατά μέγιστο), ενώ ο αριθμός των ειδών και των πληθυσμών ήταν σε κάθε περίπτωση περιορισμένος. Σε αντίθεση με τον συνολικά μικρό αριθμό μελετών που έχουν πραγματοποιηθεί για τη *Mesalina*, εντυπωσιακός είναι ο όγκος εργασιών που

αφορούν το πολύ συγγενικό της γένος *Acanthodactylus*. Το τελευταίο αποτελεί κλασικό τάξο μελέτης κυρίως στη Β. Αφρική αλλά και στην Μέση Ανατολή (ενδεικτικά, Salvador, 1982; Arnold, 1986a; Arnold, 1986b; Castilla *et al.*, 1992; Bons & Geniez, 1995; Harris & Arnold, 2000; Harris *et al.*, 2004; Baha El Din, 2006; Fonseca *et al.*, 2008; Fonseca *et al.*, 2009; Carretero & Llorente, 2011; Heidari *et al.*, 2012).

1.5.3. Κατανομή του γένους *Mesalina*

Το γένος εμφανίζει ευρεία κατανομή και απαντάται σε όλη την Σαχαρο-Αραβική περιοχή από τη Β. Αφρική έως και το Πακιστάν, όπως φαίνεται στον Χάρτη 1.2.



Χάρτης 1.2: Παγκόσμια κατανομή του γένους *Mesalina*. Με πιο έντονο χρώμα απεικονίζονται οι χώρες με την μεγαλύτερη πυκνότητα καταγραφών (από Sindaco & Jeremčenko, 2008 και <http://www.reptile-database.org/>).

Σύμφωνα με τη μέχρι τώρα γνώση από τη διεθνή βιβλιογραφία (Bons & Geniez, 1996; Schleich *et al.*, 1996; Anderson, 1999; Disi *et al.*, 2001; Joger & Mayer, 2002; Segoli *et al.*, 2002; Baha El Din, 2006; Sindaco & Jeremčenko, 2008; Werner & Ashkenazi, 2010) τα επιμέρους είδη μπορεί να παρουσιάζουν μεγάλη γεωγραφική εξάπλωση έως και πολύ σημειακή, ωστόσο τα ακριβή όρια πολλές φορές παραμένουν ασαφή. Τα είδη *M. olivieri*, *M. guttulata* και *M. rubropuncata* είναι τα ευρύτερα

κατανεμημένα, καλύπτοντας το καθένα μεγάλο μέρος της Β. Αφρικής (και τα τρία απαντώνται σε Μαρόκο, Μαυριτανία, Δυτική Σαχάρα, Μάλι, Αλγερία, Τυνησία, Λιβύη, Αίγυπτο), ενώ τα δύο τελευταία εκτείνονται και σε ένα κομμάτι της Μέσης Ανατολής. Στο πλαίσιο αυτών των κατανομών συνυπάρχουν και άλλα είδη του γένους με πιο περιορισμένα όρια (*M. simoni*: στο Μαρόκο, *M. bahaeldini*: στο όρος Σινά, *M. pasteuri*: πολύ σπάνιοι πληθυσμοί σε Μαρόκο, Δυτική Σαχάρα, Αλγερία, Νιγηρία, Μαυριτανία και Αίγυπτο (Baha El Din, 2006). Η *M. watsonana* είναι επίσης ένα από τα είδη με αρκετά ευρεία κατανομή αφού συναντάται σε Ιράν, Τουρκμενιστάν, Αφγανιστάν και Πακιστάν μέχρι και τα όρια της Ινδίας. Τα όρια κατανομής μεταξύ των ειδών *M. watsonana* και *M. guttulata* είναι ασαφή λόγω της μορφολογικής τους ομοιότητας αλλά και τη μέχρι πρόσφατα θεώρηση της πρώτης ως υποείδος της δεύτερης.



Εικόνα 1.3.: Ενδεικτικά ερημικά και ημιορημικά ενδιαιτήματα των ειδών του γένους *Mesalina* στη Λιβύη (Φωτογραφίες από Α. Τριχά και Β. Παράβα).

Η *M. brevirostris* είναι το τέταρτο πιο ευρέως κατανεμημένο είδος του γένους, αφού απαντάται σχεδόν σε όλη τη Μέση Ανατολή. Σε σημαντικά μεγαλύτερο ποσοστό αναφέρεται δυτικά της οροσειράς της Ζάγκρου, ενώ της έχουν αποδοθεί πληθυσμοί και στο Νότιο Ιράν και Πακιστάν. Η *M. martini* εντοπίζεται κατά μήκος της Αφρικανικής ακτής της Ερυθράς, στην Αίγυπτο, το Σουδάν, την Ερυθραία, το

Τζιμπουτί και τη βόρεια Σομαλία. Περιορισμένοι πληθυσμοί έχουν καταγραφεί και στην Αραβική ακτή, στην Υεμένη. Η *M. adramitana* απαντάται στη νότια Αραβική Χερσόνησο, ενώ τα υπόλοιπα είδη έχουν αρκετά περιορισμένες κατανομές, η *M. ayunensis* απαντάται στο Ομάν, η *M. balfouri* στην Υεμένη (νησί Socotra) η *M. kuri* στην Υεμένη και συγκεκριμένα στο νησί Kuri και τέλος η *M. ercolinii* είναι γνωστή από ένα μόνο πληθυσμό (Bud-Bud) στη Σομαλία (Lanza & Poggessi, 1975).



Χάρτης 1.2: Κατανομή των 14 ειδών του γένους *Mesalina*

1.6. Γενικά κίνητρα παρούσας μελέτης

Οι κύριες αφορμές για την εκπόνηση της παρούσας διατριβής αφορούν τόσο την ελλιπή γνώση για την περιοχή μελέτης, όσο και την ελλιπή γνώση για την ποικιλότητα του ίδιου του γένους. Από τις επιμέρους φυλογενετικές μελέτες για τη *Mesalina*, που ήταν διαθέσιμες κατά την έναρξη της παρούσας διατριβής (Joger & Mayer, 2002; Mayer et al., 2006; Karli et al., 2008), γινόταν σαφές ότι η γενετική της ποικιλότητα ήταν σημαντικά υποεκτιμημένη. Ταυτόχρονα, η ευρεία κατανομή των ειδών της αποτέλεσε ένα σημαντικό κριτήριο, αφού παρείχε τη δυνατότητα μελέτης των φυλογεωγραφικών προτύπων μιας ολόκληρης ζωογεωγραφικής περιοχής (Σαχαρο-Αραβική) βάσει ενός οργανισμού. Ικανή συνθήκη αποτέλεσε η διαθεσιμότητα επαρκών δειγμάτων, που ανακτήθηκαν από τις συλλογές Μουσείων Φυσικής Ιστορίας [Κρήτης και Βόννης (Alexander Koenig Research Museum, Bonn, Germany)], από ερευνητικά ινστιτούτα [Centre d'Ecologie Fontionnelle et Evolutive, Montpellier, France (CEFE), Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos da Universidade do Porto Vairão, Portugal (CIBIO)], πανεπιστήμια (University of California, Berkley, USA), αλλά και από προσωπικές συλλογές ερευνητών (Mourad Khaldi, Ahmadzadeh Faraham, Je Carlo Brito, Salvador Carranza, Andreas Schmitz).

Στο πλαίσιο αυτό τέθηκαν δύο σαφείς άξονες μελέτης, οι οποίοι μπορούν να συνοψιστούν ως εξής:

A) Εξερεύνηση των φυλογεωγραφικών προτύπων της Β. Αφρικής και της Μέσης Ανατολής, όπως έχουν αποτυπωθεί στην εξελικτική ιστορία των πληθυσμών του γένους *Mesalina*.

B) Πρόταση εναλλακτικών υποθέσεων για τον αριθμό των ειδών του γένους και η συγκριτική αξιολόγησή τους σε σύγκριση με τον αριθμό των ειδών της *Mesalina* βάσει της τρέχουσας συστηματικής.

Σύμφωνα με τη σύγχρονη βιβλιογραφία μια τέτοιου τύπου συστηματική μελέτη θα συντελούσε στην αναβάθμιση της γνώσης για την ποικιλότητα αλλά και των μηχανισμών ειδογένεσης στην περιοχή μελέτης. Μέχρι πρότινος, η μελέτη ερημικών περιοχών ενδεχομένως φάνταζε περιορισμένου ενδιαφέροντος τόσο από την σκοπιά της επιστημονικής γνώσης (με την έννοια της κατανόησης μηχανισμών

και προτύπων βιοποικιλότητας), όσο και ως προς τη συμβολή στην καταγραφή της παγκόσμιας βιοποικιλότητας. Βαθύτερο κίνητρο της διατριβής αποτέλεσε η αναθεώρηση αυτής της στάσης και η ανάδειξη των ερημικών περιοχών ως προς τη συμβολή τους συνολικά στον τομέα της συστηματικής.

1.7. Βιβλιογραφία

- Alföldi, J., Di Palma, F., Grabherr, M., Williams, C., Kong, L., Mauceli, E., Russell, P., Lowe, C.B., Glor, R.E. & Jaffe, J.D. (2011) The genome of the green anole lizard and a comparative analysis with birds and mammals. *Nature*, **477**, 587-591.
- Anderson, S.C. (1999) *The lizards of Iran*. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, St. Louis, MO.
- Arnold, E. (1986a) Why copulatory organs provide so many useful taxonomic characters: the origin and maintenance of hemipenial differences in lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, **29**, 263-281.
- Arnold, E. (1989) Towards a phylogeny and biogeography of the Lacertidae: relationships within an Old-World family of lizards derived from morphology. *Bulletin of the British Museum (Natural History) Zoology*, **55**, 209-257.
- Arnold, E., Lanza, B., Poggesi, M. & Corti, C. (1998) Notes on the anatomy and phylogenetic position of *Eremias ercolinii* Lanza & Poggesi 1975 (Reptilia Lacertidae). *Tropical Zoology*, **11**, 235-240.
- Arnold, E.N. (1986b) The hemipenis of lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae): structure, variation and systematic implications. *Journal of Natural History*, **20**, 1221 - 1257.
- Arnold, E.N., Arribas, O. & Carranza, S. (2007) Systematics of the Palaeartic and Oriental lizard tribe Lacertini (Squamata: Lacertidae: Lacertinae), with descriptions of eight new genera. *Zootaxa*, **1430**, 1-86.
- Avice, J.C. (2000) *Phylogeography: The History and Formation of Species*. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Avice, 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.
- Ax, P. (1985) Stem species and the stem lineage concept. *Cladistics*, **1**, 279-287.
- Baha El Din, S. (2006) *A guide to the Reptiles and Amphibians of Egypt*. The American University in Cairo Press, Cairo, Egypt.
- Bons, J. & Geniez, P. (1995) Contribution to the systematics of the lizard *Acanthodactylus erythrurus* (Sauria, Lacertidae) in Morocco. *Herpetological Journal*, **5**, 271-271.
- Bons, J. & Geniez, P. (1996) *Amphibiens et reptiles du Maroc*. Asociación Herpetológica Española, Barcelona, Spain.
- Brito, J.C., Godinho, R., Martínez-Freiría, F., Pleguezuelos, J.M., Rebelo, H., Santos, X., Vale, C.G., Velo-Antón, G., Boratyński, Z. & Carvalho, S.B. (2013) Unravelling biodiversity, evolution and threats to conservation in the Sahara-Sahel. *Biological Reviews*, **89**, 215-231.
- Brundin, L. (1965) On the real nature of transantarctic relationships. *Evolution*, 496-505.
- Brundin, L. (1966) *Transantarctic relationships and their significance, as evidenced by chironomid midges*. K. Svenska Vetenskapsakad. Handl., Stockholm, Sweden.
- Camargo, A., Sinervo, B. & Sites, J.W. (2010) Lizards as model organisms for linking phylogeographic and speciation studies. *Molecular Ecology*, **19**, 3250-3270.
- Carretero, M. & Llorente, G. (2011) Reproduction of *Acanthodactylus erythrurus* in its Northern boundary. *Russian Journal of Herpetology*, **2**, 10-17.

- Castilla, A.M., Barbadillo, L.J. & Bauwens, D. (1992) Annual variation in reproductive traits in the lizard *Acanthodactylus erythrurus*. *Canadian Journal of Zoology*, **70**, 395-402.
- Davies, J., Poulsen, L., Schulte-Herbrüggen, B., Mackinnon, K., Crawhall, N., Henwood, W., Dudley, N., Smith, J. & Gudka, M. (2012) Conserving dryland biodiversity. *IUCN, UNEP-WCMC, UNCCD, Nairobi, Bonn*,
- Disi, A.M., Modry, D., Necas, P. & Rifai, L. (2001) *Amphibians and reptiles of the Hashemite Kingdom of Jordan. An atlas and field guide*. Chimaira, Frankfurt am Main, Germany.
- Durant, S., Pettorelli, N., Bashir, S., Woodroffe, R., Wachter, T., De Ornellas, P., Ransom, C., Abáigar, T., Abdelgadir, M. & El Alqamy, H. (2012) Forgotten biodiversity in desert ecosystems. *Science*, **336**, 1379-1380.
- Edwards, S.V. (2009) Is a new and general theory of molecular systematics emerging? *Evolution*, **63**, 1-19.
- Field, D.J., Gauthier, J.A., King, B.L., Pisani, D., Lyson, T.R. & Peterson, K.J. (2014) Toward consilience in reptile phylogeny: miRNAs support an archosaur, not lepidosaur, affinity for turtles. *Evolution and Development*, **16**, 189-196.
- Fonseca, M.M., Brito, J.C., Paulo, O.S., Carretero, M.A. & Harris, D.J. (2009) Systematic and phylogeographical assessment of the *Acanthodactylus erythrurus* group (Reptilia: Lacertidae) based on phylogenetic analyses of mitochondrial and nuclear DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **51**, 131-142.
- Fonseca, M.M., Brito, J.C., Rebelo, H., Kalboussi, M., Larbes, S., Carretero, M.A. & Harris, D.J. (2008) Genetic variation among spiny-footed lizards in the *Acanthodactylus pardalis* group from North Africa. *African Zoology*, **43**, 8-15.
- Fu, J.Z. (2000) Toward the phylogeny of the family Lacertidae - Why 4708 base pairs of mtDNA sequences cannot draw the picture. *Biological Journal of the Linnean Society*, **71**, 203-217.
- Gadagkar, S.R. & Kumar, S. (2005) Maximum likelihood outperforms maximum parsimony even when evolutionary rates are heterotachous. *Molecular Biology and Evolution*, **22**, 2139-2141.
- Gaut, B.S. & Lewis, P.O. (1995) Success of maximum likelihood phylogeny inference in the four-taxon case. *Molecular Biology and Evolution*, **12**, 152-162.
- Harris, D., Batista, V. & Carretero, M. (2004) Assessment of genetic diversity within *Acanthodactylus erythrurus* (Reptilia: Lacertidae) in Morocco and the Iberian Peninsula using mitochondrial DNA sequence data. *Amphibia Reptilia*, **25**, 227.
- Harris, D.J. & Arnold, E.N. (2000) Elucidation of the relationships of spiny-footed lizards, *Acanthodactylus* spp. (Reptilia: Lacertidae) using mitochondrial DNA sequence, with comments on their biogeography and evolution. *Journal of Zoology*, **252**, 351-362.
- Harris, D.J., Arnold, E.N. & Thomas, R.H. (1998) Relationships of lacertid lizards (Reptilia : Lacertidae) estimated from mitochondrial DNA sequences and morphology. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, **265**, 1939-1948.
- Hedges, S.B. (2012) Amniote phylogeny and the position of turtles. *Bmc Biology*, **10**, 64.
- Heidari, N., Faizi, H., Rastegar-Pouyani, N. & Rastegar-Pouyani, E. (2012) A New Record of *Acanthodactylus cantoris* (Sauria: Lacertidae) and Its Comparison with Closely Related *A. blanfordi* in Southeastern Iran. *Asian Herpetological Research*, **3**

- Hennig, W. (1966) *Phylogenetic Systematics*. University of Illinois Press, Urbana, USA.
- Hickerson, M.J., Carstens, B.C., Cavender-Bares, J., Crandall, K.A., Graham, C.H., Johnson, J.B., Rissler, L., Victoriano, P.F. & Yoder, A.D. (2010) Phylogeography's past, present, and future: 10 years after Avise, 2000. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **54**, 291-301.
- Hipsley, C.A., Himmelman, L., Metzler, D. & Muller, J. (2009) Integration of Bayesian molecular clock methods and fossil-based soft bounds reveals early Cenozoic origin of African lacertid lizards. *BMC Evolutionary Biology*, **9**, 151.
- Holt, B.G., Lessard, J.-P., Borregaard, M.K., Fritz, S.A., Araújo, M.B., Dimitrov, D., Fabre, P.-H., Graham, C.H., Graves, G.R. & Jønsson, K.A. (2013) An update of Wallace's zoogeographic regions of the world. *Science*, **339**, 74-78.
- Huey, R.B., Pianka, E.R. & Schoener, T.W. (1983) *Lizard ecology: Studies of a Model Organism*. Harvard University Press, Cambridge MA, USA.
- Irwin, D.E. (2002) Phylogeographic breaks without geographic barriers to gene flow. *Evolution*, **56**, 2383-2394.
- Joger, U. & Mayer, W. (2002) A new species of *Mesalina* (Reptilia: Lacertidae) from Abd al-Kuri, Socotra Archipelago, Yemen, and a preliminary molecular phylogeny for the genus *Mesalina*. *Fauna of Arabia*, **19**, 497-505.
- Kapli, P., Poulakakis, N., Lymberakis, P. & Mylonas, M. (2011) A re-analysis of the molecular phylogeny of Lacertidae with currently available data. *Basic and Applied Herpetology*, **25**, 97-104.
- Kapli, P., Lymberakis, P., Poulakakis, N., Mantziou, G., Parmakelis, A. & Mylonas, M. (2008) Molecular phylogeny of three *Mesalina* (Reptilia: Lacertidae) species (*M. guttulata*, *M. brevirostris* and *M. bahaeldini*) from North Africa and the Middle East: another case of paraphyly? *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49**, 102-110.
- Kuhner, M.K. & Felsenstein, J. (1994) A simulation comparison of phylogeny algorithms under equal and unequal evolutionary rates. *Molecular Biology and Evolution*, **11**, 459-468.
- Laity, J.J. (2009) *Deserts and desert environments*. Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, USA.
- Lanza, B. & Poggesi, M. (1975) On a new *Eremias* from central Somalia (Pubblicazioni del Centro di Studio per la Faunistica ed Ecologia Tropicali del C.N.R.: CII). *Monitore Zoologico Italiano*, **16**, 305-312.
- Laurenti, J. (1768) *Classis Reptilium. Specimen medicum, exhibens synopsis Reptilium emendatum, cum experimentis circa venena et antidote Reptilium Austriacorum*. J. Thom., Nob. et Trattner, Vienna, Austria.
- Lomolino, M., Riddle, B., Whittaker, R. & Brown, J. (2010) *Biogeography*. Sinauer Associates, Massachusetts, USA.
- Losos, J.B. (2009) *Lizards in an evolutionary tree: ecology and adaptive radiation of Anoles*. University of California Press, Berkeley, CA, USA.
- Mayer, M., Moravec, J. & Pavlicev, M. (2006) Differentiation within Syrian populations of the lizard *Mesalina brevirostris*. *Mainland and Insular Lacertid Lizards: a Mediterranean Perspective* (ed by C. Corti, P. Lo Cascio and M. Biaggini), pp. 125-131.
- Mayer, W. (1989) Comments on SZCZERBAK's (1975) catalogue of the African Sand Lizards (Reptilia: Sauria: Eremiinae). *Herpetozoa*, **1**, 133-137.
- Mayer, W. & Benyr, G. (1994) Albumin-Evolution und Phylogenese in der Familie Lacertidae. *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien*, **96B**, 621-648.

- Mayer, W. & Benyr, G. (1995) Albumin-Evolution und Phylogenese in der Familie Lacertidae. *Ann. Naturhist. Mus. Wien*, **95**, 621–648.
- Mayer, W. & Pavlicev, M. (2007) The phylogeny of the family Lacertidae (Reptilia) based on nuclear DNA sequences: Convergent adaptations to arid habitats within the subfamily Eremiainae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **44**, 1155-1163.
- Mayr, E. & Ashlock, P.D. (1969) *Principles of systematic zoology*. McGraw-Hill, Inc, New York, USA.
- Mayr, E. & Bock, W.J. (2002) Classifications and other ordering systems. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **40**, 169-194.
- Modesto, S.P. & Anderson, J.S. (2004) The phylogenetic definition of Reptilia. *Systematic Biology*, **53**, 815-821.
- Nelson, G.J. (1970) Outline of a theory of comparative biology. *Systematic Zoology*, 373-384.
- Olson, D.M., Dinerstein, E., Wikramanayake, E.D., Burgess, N.D., Powell, G.V., Underwood, E.C., D'amico, J.A., Itoua, I., Strand, H.E. & Morrison, J.C. (2001) Terrestrial Ecoregions of the World: A New Map of Life on Earth A new global map of terrestrial ecoregions provides an innovative tool for conserving biodiversity. *Bioscience*, **51**, 933-938.
- Pavlicev, M. & Mayer, W. (2009) Fast radiation of the subfamily Lacertinae (Reptilia: Lacertidae): History or methodical artefact? *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **52**, 727-734.
- Pianka, E.R. & Vitt, L.J. (2003) *Lizards: windows to the evolution of diversity*. University of California Press, Berkeley and Los Angeles, California, USA.
- Pincheira-Donoso, D., Bauer, A.M., Meiri, S. & Uetz, P. (2013) Global taxonomic diversity of living reptiles. *Plos One*, **8**, e59741.
- Reilly, S.M., McBrayer, L.D. & Miles, D.B. (2007) *Lizard ecology*. Cambridge University Press, New York, USA.
- Rokas, A. & Carroll, S.B. (2006) Bushes in the tree of life. *Plos Biology*, **4**, 1899-1904.
- Salvador, A. (1982) *A revision of the lizards of the genus Acanthodactylus (Sauria: Lacertidae)*. Zoologisches Forschungsinstitut und Museum Alexander Koenig, Bonn, Germany.
- Schleich, H.H., Kästle, W. & Kabisch, K. (1996) *Amphibians and Reptiles of North Africa: Biology, Systematics, Field Guide*. Koeltz Scientific Publishers, Koenigstein, Germany.
- Schuh, R.T. (2000) *Biological systematics: principles and applications*. Cornell University Press, New York, USA.
- Segoli, M., Cohen, T. & Werner, Y.L. (2002) A new lizard of the genus *Mesalina* from Mt. Sinai, Egypt (Reptilia: Squamata: Sauria: Lacertidae). *Faunistische Abhandlungen* **23**, 157-176.
- Simpson, G.G. (1961) *Principles of animal taxonomy*. Columbia University Press, New York, USA.
- Sindaco, R. & Jeremčenko, V.K. (2008) *The reptiles of the Western Palearctic*. Edizioni Belvedere, Latina, Italy.
- Šmíd, J. & Frynta, D. (2012) Genetic variability of *Mesalina watsonana* (Reptilia: Lacertidae) on the Iranian plateau and its phylogenetic and biogeographic affinities as inferred from mtDNA sequences. *Acta Herpetologica*, **7**, 139-153.
- Szczerbak, N. (1974) Yashchurki Palearktiki [The Palearctic Desert Lizards]. In: Naukova Dumka, Kiev, Russia.

- Szczerbak, N.N. (1989) Catalogue of the African Sand Lizards (Reptilia: Sauria: Eremiainae: *Lampreremias*, *Pseuderemias*, *Taenieremias*, *Mesalina*, *Meroles*). *Herpetozoa*, **1**, 119-132.
- Thornton, P.K., Jones, P.G., Owiyo, T., Kruska, R.L., Herrero, M., Orindi, V., Bhadwal, S., Kristjanson, P., Notenbaert, A. & Bekele, N. (2008) Climate change and poverty in Africa: Mapping hotspots of vulnerability. *African Journal of Agricultural and Resource Economics*, **2**, 24-44.
- Trape, S. (2009) Impact of climate change on the relict tropical fish fauna of Central Sahara: threat for the survival of Adrar mountains fishes, Mauritania. *Plos One*, **4**, e4400.
- Tudge, C. (2000) *The variety of life*. Oxford University Press Oxford, UK.
- Werner, Y.L. & Ashkenazi, S. (2010) Notes on some Egyptian Lacertidae, including a new subspecies of *Mesalina*, involving the Seligmann effect. *Turkish Journal of Zoology*, **34**, 123-133.
- Wiley, E.O. & Lieberman, B.S. (2011) *Phylogenetics: theory and practice of phylogenetic systematics*. John Wiley and Sons, Hoboken, USA.

Κεφάλαιο 2^ο: Ιστορική βιογεωγραφία του γένους *Mesalina*

Στην εκπόνηση της έρευνας που περιγράφεται στο 2^ο κεφάλαιο συμμετείχαν οι:

N. Πουλακάκης, **Π. Λυμπεράκης**, **P.-A. Crochet**, **P. Geniez**, (Centre d'Ecologie Fontionnelle et Evolutive, Montpellier, France) **J. C. Brito** (Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos da Universidade do Porto Vairão, Portugal) **M. Almutairi** (School of Biological Sciences, University of Bangor , UK), **F. Ahmadzadeh** (Zoologisches Forschungsmuseum Alexander Koenig, Bonn, Germany), **A. Schmitz** (Natural History Museum of Geneva, Department of Herpetology & Ichthyology, Geneva, Switzerland), **T. Wilms** (Zoologischer Garten Frankfurt, Germany) και **N.R. Pouyani** (Department of Biology, Faculty of Science, Kermanshah, Iran)

Τα δεδομένα έχουν δημοσιευτεί στο περιοδικό «Journal of Biogeography» (DOI: 10.1111/jbi.12420)

2.1. Εισαγωγή

Η Μεσογειακή λεκάνη συγκαταλέγεται ανάμεσα στα σημαντικότερα κέντρα βιοποικιλότητας παγκοσμίως (Myers *et al.*, 2000). Η ποικιλότητα των οικοσυστημάτων (π.χ. μεσογειακά, αλπικά, ερημικά κτλ) καθώς και η πλούσια γεωμορφολογία (οροσειρές, νησιά, έρημοι) είναι οι κύριοι παράγοντες στους οποίους μπορούν να αποδοθούν τα υψηλά ποσοστά ενδημισμού και βιοποικιλότητας. Για την ευρωπαϊκή της πλευρά έχει δημοσιευτεί πληθώρα φυλογενετικών εργασιών που καλύπτουν μεγάλο εύρος οργανισμών. Ενδεικτικά: ερπετά (Poulakakis *et al.*, 2003; Pinho *et al.*, 2008; Ursenbacher *et al.*, 2008; Kornilios *et al.*, 2010), θηλαστικά (Ruedi & Castella, 2003; Deffontaine *et al.*, 2005), ασπόνδυλα (Ribera & Vogler, 2004; Papadopoulou *et al.*, 2009; Jesse *et al.*, 2010), αμφίβια (Lymberakis *et al.*, 2007; Espregueira Themudo *et al.*, 2009; Wielstra & Arntzen, 2011), φυτά (Alain *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2006). Οι εργασίες αυτές έχουν αποτελέσει τη βάση για τη βαθύτερη κατανόηση των μηχανισμών ειδογένεσης στην Ευρωπαϊκή πλευρά της Μεσογειακής λεκάνης, οι οποίοι έχουν αναλυθεί σε μεγάλο αριθμό συνθετικών εργασιών (Baquero & Tellería, 2001; Mayer & von Helversen, 2001; Schönswetter *et al.*, 2005; Gómez & Lunt, 2007; Weiss & Ferrand, 2007; Lymberakis & Poulakakis, 2010; Fløjgaard *et al.*, 2011; Poulakakis *et al.*, 2014).

Σε αντίθεση με την αναπτυγμένη γνώση της Ευρωπαϊκής Μεσογείου, η γνώση μας για την εξελικτική ιστορία της πανίδας της Αφρικανικής και της Ασιατικής πλευράς παραμένει ελλιπής (Gvozdik *et al.*, 2010; Brito *et al.*, 2013). Για την ορθότερη μελέτη και εκτίμηση της βιοποικιλότητας που είναι συγκεντρωμένη στη Μεσογειακή ζώνη, είναι απαραίτητη η μελέτη της ευρύτερης περιοχής της Βόρειας Αφρικής και της Μέσης Ανατολής. Τα τελευταία χρόνια η χρήση σύγχρονων τεχνικών μοριακής φυλογένεσης έχει αυξήσει το ρυθμό μελέτης (Bilgin, 2011; Brito *et al.*, 2013).

2.1.1. Παλαιογεωγραφία

Η διαμόρφωση της ευρύτερης περιοχής της Μεσογείου όπως την παρατηρούμε σήμερα είναι προϊόν πολύπλοκων και μακρόχρονων γεωλογικών διαδικασιών. Το γεγονός αυτό οφείλεται στη γεωγραφική της θέση, αφού επηρεάζεται από την κίνηση τριών κύριων τεκτονικών πλακών (Αφρικανική, Ευρασιατική, Ινδική) αλλά και την εμπλεκόμενη κίνηση πολλών δευτερευόντων πλακών (Αραβική, Ιρανική, Ιβηρική κ.α.). Η περιοχή διαμορφώνεται σταδιακά από την φάση του διαχωρισμού της Ευρασίας από την Αφρική (σπάσιμο της Παγγαίας) το οποίο τοποθετείται στις αρχές του Μεσοζωικού περίπου στα 200 εκ. χρ. πριν (Dietz & Holden, 1970).

Από την Κρητιδική εποχή και μετά παρατηρείται η σύγκλιση των δύο μεγάλων τεκτονικών πλακών της Αφρικής και της Ευρασίας. Η πλάκα της Αφρικής-Αραβίας, κινείται βόρεια με μεγαλύτερη ταχύτητα στο ανατολικό άκρο της, σύμφωνα με τη συνολικότερη αριστερόστροφη περιστροφή της, ενώ το δυτικό άκρο παραμένει σταθερό σε σύγκριση με την Ιβηρική χερσόνησο, κατά τη διάρκεια του Καινοζωικού Αιώνα (Meulenkamp & Sissingh, 2003 και αναφορές εκεί). Η κίνηση αυτή έχει σαν αποτέλεσμα τη διαμόρφωση της Μεσογειακής λεκάνης, της Ερυθράς θάλασσας και της Αλπικής ζώνης. Στην Αλπική ζώνη συμπεριλαμβάνονται σημαντικές οροσειρές, τόσο της Β. Αφρικής (σύστημα Άτλαντα και Ριφ στο Μαρόκο) όσο και της Μέσης Ανατολής (Ταυρίδες στην Ανατολία και Ζάγκρος στο Ιράκ και το Ιράν) (Dewey *et al.*, 1973). Τα παλαιογεωγραφικά γεγονότα με την πιο βαρύνουσα σημασία στη διαμόρφωση της πανίδας της Αφρικής και της Μέσης Ανατολής, ήταν τα συσχετιζόμενα με την κίνηση της Αραβικής Χερσονήσου που είχε ως τελικό αποτέλεσμα την πρόσκρουσή της με την πλάκα της Ανατολίας και τον σχηματισμό της Ερυθράς.

Η σύγκρουσή της Αραβικής Χερσονήσου με την Ευρασία οδήγησε στο τελικό κλείσιμο της Τυθής και τη δημιουργία της Μέσης Ανατολής, όπως την παρατηρούμε σήμερα (Rögl, 1999; Popov *et al.*, 2004). Διακριτά κύματα μετανάστευσης χερσαίας πανίδας και πολλαπλά επεισόδια απομόνωσης σε θαλάσσια μαλάκια (Harzhauser *et al.*, 2008), υποδεικνύουν ότι η σύνδεση των δύο πλακών ήταν μια πολύπλοκη διαδικασία που πραγματοποιήθηκε σε πολλά στάδια (Harzhauser *et al.*, 2007).

Σύμφωνα με τα απολιθώματα, πρωτόγονα ελεφαντοείδη εποίκισαν την Ινδο-Πακιστανική πλάκα τουλάχιστον κατά το πρώιμο Μειόκαινο (~21-22 εκ. χρ. πριν, Tassy, 1989). Η εποίκηση αυτή μαρτυρά ότι οι πρώτες βραχυπρόθεσμες γέφυρες ξηράς δημιουργήθηκαν ήδη από το Ακουιτάνιο (~20-23 εκ. χρ. πριν, Harzhauser et al., 2007). Ωστόσο η τελική γέφυρα ξηράς δημιουργήθηκε ~19 εκ. χρ. πριν και είναι γνωστή ως «*Gomphotherium land-bridge*» (Rögl, 1999). Η δημιουργία της επέτρεψε εκτεταμένη ανταλλαγή χερσαίων οργανισμών με πιο επιφανή την μετακίνηση των προβοσκιδωτών, τα οποία εποίκισαν την Ευρασία από την Αφρική περίπου εκείνη την περίοδο (Harzhauser et al., 2007).

Ο σχηματισμός της Ερυθράς θάλασσας, ως αποτέλεσμα της ίδια τεκτονικής διαδικασίας, έχει παίξει επίσης κεντρικό ρόλο στη διασπορά ειδών μεταξύ της Αφρικής και της Ασίας, συμπεριλαμβανομένου και του σύγχρονου ανθρώπου (Fernandes et al., 2006; Portik & Papefuss, 2011). Κατά το ανώτερο Ολιγόκαινο (~27,5-23,8) δημιουργήθηκε το αρχικό ρήγμα στο νότιο τμήμα της Ερυθράς θάλασσας. Στη συνέχεια στα ~24 εκ. χρ. πριν, μια νέα φάση ηφαιστειότητας παρουσιάστηκε σχεδόν ταυτόχρονα κατά μήκος όλης της Ερυθράς και οδήγησε στη διάνοιξη του ρήγματος μέχρι τον Βορρά. Η ηφαιστειακή δραστηριότητα διακόπηκε μέχρι τα ~20 εκ. χρ. πριν, όταν επανενεργοποιήθηκε και οδήγησε στην κύρια διάνοιξη του ρήγματος (Bosworth et al., 2005). Στη συνέχεια, το ρήγμα της Ερυθράς επαναδραστηριοποιήθηκε με τη διάνοιξη του ρήγματος του κόλπου του Aden ~17,6 εκ. χρ. πριν (Leroy et al., 2004; Bosworth et al., 2005; Autin et al., 2009). Τέλος, στα 14 εκ. χρ. πριν το ρήγμα της Ερυθράς επεκτάθηκε πιο βόρεια τέμνοντας το Σινά και το Λίβανο μέχρι το σημείο πρόσκρουσης της Αραβικής Χερσονήσου με την πλάκα της Ανατολίας (Bosworth et al., 2005).

Από το μέσο Μειόκαινο μέχρι και το Τεταρτογενές έχουν καταγραφεί τουλάχιστον τέσσερις διακριτές εναποθέσεις εβαποριτών στην Ερυθρά (Orszag-Sperber et al., 1998), οι οποίες υποδεικνύουν τη μείωση της στάθμης της θάλασσας και τη δημιουργία πιθανών γεφυρών ξηράς. Η πιο εκτεταμένη εναπόθεση που έχει παρατηρηθεί σε όλο το μήκος της Ερυθράς, χρονολογείται κατά το μέσο με ανώτερο Μειόκαινο (~10 εκ. χρ. πριν). Το εύρος των εβαποριτών είναι τέτοιο που πιθανώς σημαίνει το κλείσιμο της Ερυθράς από το νότο (Bosworth et al., 2005). Το γεγονός αυτό έχει συνδεθεί με τη δημιουργία γέφυρας στα στενά του «Bab-el-Mandeb» και τη διασπορά χερσαίων οργανισμών από και προς την Αφρική (Jones, 1999). Η θαλάσσια

επικοινωνία με τον Ινδικό ωκεανό φαίνεται να αποκαταστάθηκε ~5,3 εκ. χρ. πριν (Bosworth et al., 2005). Λεπτό σώμα εβαποριτών έχει χρονολογηθεί και στο Τεταρτογενές (Orszag-Sperber et al., 1998), σύμφωνα όμως με πρόσφατες μελέτες, δεν υπήρξε γέφυρα ξηράς κατά μήκος της Ερυθράς μετά το Μειόκαινο (Fernandes et al., 2006).

Σημαντικοί σχηματισμοί που λειτούργησαν ως δευτερεύουσας σημασίας φίλτρα στη διασπορά χερσαίων οργανισμών μεταξύ της Αφρικής και της Ευρασίας υπήρξαν ο κόλπος του Σουέζ (δυτικά της χερσονήσου του Σινά) και το Wādī ‘Araba (ανατολικά της χερσονήσου του Σινά). Το μεγαλύτερο μέρος της επέκτασης του κόλπου του Σουέζ εκτιμάται ότι συνέβη μέχρι το Ανώτερο Μειόκαινο (Garfunkel, 1997). Το Wādī ‘Araba μαζί με την Νεκρά θάλασσα αποτελούν την προέκταση του ρήγματος της Ερυθράς προς το βορρά, που όπως αναφέρθηκε νωρίτερα η δημιουργία τους χρονολογείται στα ~14 εκ. χρ. πριν (Garfunkel, 1997; Bosworth et al., 2005). Ανατολικά του Wādī ‘Araba βρίσκεται μια από τις πιο ερημικές περιοχές που είναι πολύ δύσκολο να διαπεραστεί ακόμα και από τα πιο ερημικά είδη (Arnold, 1987). Η κίνηση της Αραβικής Χερσονήσου πέραν των ρηγμάτων είχε ως αποτέλεσμα και την ανύψωση της οροσειράς της Ζάγκρου στα δυτικά σύνορα του Ιράν. Η οροσειρά σχηματίζεται σταδιακά από το Ολιγόκαινο μέχρι σήμερα ως αποτέλεσμα της υποβύθισης της Αραβικής πλάκας κάτω από την Ιρανική μικροπλάκα (Agard et al., 2011). Η ανύψωση του κυρίως ορεινού όγκου της οροσειράς («*High Zagros*») χρονολογείται στα ~10 εκ. χρ. πριν, όπου τοποθετείται και η αποκόλληση ενός κομματιού της βυθιζόμενης Αραβικής πλάκας. Τέλος, ένας ακόμα σημαντικός σχηματισμός που αφορά τη διαμόρφωση της πανίδας της περιοχής μελέτης είναι ο ποταμός του Νείλου. Σε γεωλογικούς όρους είναι ένας νέος ποταμός, αφού η συνενωση των τμημάτων που τον συνιστούν συνέβη πρόσφατα. Πρότερα στάδια της εξέλιξης του ποταμού (συστήματα «*Gilf*» και «*Qena*») είναι γνωστά από το ανώτερο Ολιγόκαινο (24 εκ. χρ. πριν) μέχρι το ανώτερο Μειόκαινο (Goudie, 2005). Κατά το Μεσσήνιο η ταπείνωση της στάθμης της Μεσογείου θάλασσας οδήγησε στον σχηματισμό φαραγγιού τέσσερις φορές πιο βαθύ από το Grand Canyon ως αποτέλεσμα έντονης διάβρωσης ενώ έκτοτε παγιώθηκε το σύστημα του Νείλου όπως το παρατηρούμε σήμερα (Goudie, 2005).

2.1.2. Παλαιοκλιματολογία

Πέραν των τεκτονικών κινήσεων, στη διάπλαση της πανίδας της Βόρειας Αφρικής ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο έχει παίζει το εκάστοτε κλίμα που είχε σαν συνέπεια την αλλαγή των τύπων και του μεγέθους των οικοτόπων στην περιοχή μελέτης (Schleich *et al.*, 1996; Le Houérou, 1997; Anderson, 1999). Η Αραβική Χερσόνησος και η Βόρεια Αφρική έχουν επιδείξει παράλληλη κλιματική ιστορία, ενώ σε διαφορετική κλιματική ζώνη ανήκει το οροπέδιο του Ιράν (Wolfart, 1987). Η εκτίμηση της παλαιοκλιματολογίας της περιοχής μελέτης, σε βάθος χρόνου, αποτελεί δύσκολο εγχείρημα. Η ακραία αιολική και υδατική διάβρωση, λόγω των πολλαπλών εναλλαγών υγρού-ξηρού κλίματος από το Μειόκαινο, έχουν οδηγήσει στην καταστροφή των γεωχρονολογικών δεδομένων (Kroepelin, 2006). Λόγω αυτού του φαινομένου τα περισσότερα δεδομένα αφορούν την περίοδο του Τεταρτογενούς, ενώ η εγκυρότητά τους πριν από αυτή είναι αμφιλεγόμενη.

Κατά τη διάρκεια του Καινοζωικού, το κλίμα άλλαξε σταδιακά από θερμό και υγρό στο ψυχρότερο κλίμα του Τεταρτογενούς («*icehouse phase*») που χαρακτηρίζεται από παγετώδεις και μεσοπαγετώδεις περιόδους (Zachos *et al.*, 2001). Ανάμεσα στους λόγους που προκάλεσαν την παγκόσμια αυτή κλιματική αλλαγή είναι η ανύψωση του Οροπεδίου του Θιβέτ και του ανατολικού ρήγματος της Αφρικής. Τα δύο αυτά γεωλογικά φαινόμενα πιθανότατα οδήγησαν στην εμφάνιση των ξηρών περιόδων στην Β. Αφρική και την Αραβία (Sepulchre *et al.*, 2006; Micheels *et al.*, 2009). Ταυτόχρονα η σημαντική θερμοκρασιακή μείωση στους πόλους και η αύξηση των πάγων στην Ανατολική Ανταρκτική επέφερε σημαντικές επιπτώσεις στην ατμοσφαιρική κυκλοφορία, περιλαμβάνοντας πιθανόν επιπτώσεις στο «δακτύλιο του Hadley»⁵ (Flower & Kennet, 1994 και αναφορές εκεί) με τον οποίο συνδέεται η ανάπτυξη των ερημικών περιοχών. Την ίδια περίοδο έχουμε την πρώτη καταγραφή ξηρών λιβαδιών στην Αφρική συνοδευόμενη από έντονες πανιδικές αλλαγές (Flower & Kennett, 1994), αλλά και συνολική τάση προς αυξημένη ξηρασία στα μέσα γεωγραφικά πλάτη παγκοσμίως.

Το φαινόμενο της ευρύτερης ξηρασίας στη Βόρεια Αφρική αναγνωρίζεται ευρέως ότι προέκυψε κατά το Μειόκαινο-Πλειόκαινο (Le Houérou, 1997; Schuster *et*

⁵ Ένα σύστημα κάθετης και οριζόντιας ανακυκλοφορίας του αέρα που κυριαρχεί στις τροπικές και υποτροπικές περιοχές και δημιουργεί έντονα καιρικά φαινόμενα.

al., 2006b, a; Micheels *et al.*, 2009). Σύμφωνα με ενδείξεις ωστόσο, παρόμοιες ερημικές συνθήκες έχουν εμφανιστεί τουλάχιστον 7 εκ. χρ. πριν (Brunet & M.P.F.T., 2000; Schuster *et al.*, 2006a, b), αλλά για μικρότερα χρονικά διαστήματα σε σύγκριση με τη διάρκεια τους στο Τεταρογενές (Schuster *et al.*, 2006a). Κάποιοι ερευνητές αμφισβητούν την εγκυρότητα αυτών των ευρημάτων (Kroepelin, 2006; Swezey, 2006) και αντιτείνουν ότι η εμφάνιση της Σαχάρας χρονολογείται στα ~2.5 εκ. χρ. πριν (Kroepelin, 2006). Οι χρονολογήσεις μοριακών φυλογενέσεων συμφωνούν με τη νεότερη εμφάνιση ερημικών συνθηκών αφού η διάσπαση και εξάπλωση πολλών ερημικών ειδών συνέβη νωρίτερα από το Πλειόκαινο (Carranza *et al.*, 2008 και αναφορές εκεί).

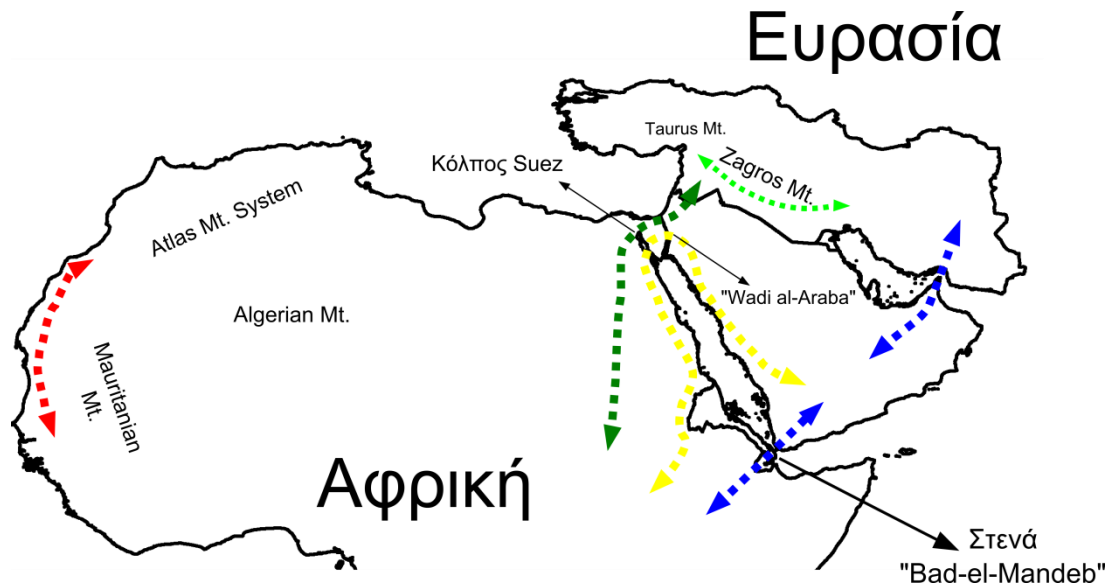
Στο ανώτερο Πλειόκαινο, τουλάχιστον για την Β. Αφρική που υπάρχουν περισσότερα δεδομένα, είναι καταγεγραμμένοι τουλάχιστον οχτώ με δέκα κύκλοι εναλλαγής ξηρών με υγρές περιόδους (Le Houérou, 1997). Οι επαναλαμβανόμενοι αυτοί κύκλοι είχαν ως επακόλουθο την αύξηση και τη μείωση οικοτόπων που πιθανόν να προκάλεσαν επαναλαμβανόμενα συμβάντα απομόνωσης και δευτερογενών επαφών των αντίστοιχων πληθυσμών (Douady & Douzery, 2003). Ωστόσο, η εναλλαγή των κλιματικών συνθηκών συνέβη με τόσο δυναμικό τρόπο που η ανίχνευσή τους, καθώς και η επίπτωσή τους στην εξέλιξη των ειδών της περιοχής τους να είναι έως και αδύνατη (Fonseca *et al.*, 2008; Fonseca *et al.*, 2009).

2.1.3. Φυλογεωγραφική γνώση για τη Βόρεια Αφρική και τη Μέση Ανατολή

Μέχρι σήμερα η πλειοψηφία των φυλογεωγραφικών μελετών στη Β. Αφρική συγκεντρώνεται στο δυτικό της κομμάτι (Brown *et al.*, 2002; Harris *et al.*, 2007; Carranza *et al.*, 2008; Fonseca *et al.*, 2008; Fonseca *et al.*, 2009), ενώ στη Μέση Ανατολή οι περισσότερες μελέτες αφορούν την Ανατολία (Tarkhishvili *et al.*, 2001; Veith *et al.*, 2003; Gunduz *et al.*, 2005; Gunduz *et al.*, 2007; Akin *et al.*, 2010; Bilgin, 2011). Σημαντικά λιγότερες είναι οι μελέτες που συμπεριλαμβάνουν δείγματα από την Βόρειο-Ανατολική Αφρική και από τη Μέση Ανατολή, εκτός της Ανατολίας (Kapli *et al.*, 2008; Kyriazi *et al.*, 2008; Kornilios *et al.*, 2010; Kornilios *et al.*, 2011). Η Αραβική Χερσόνησος είναι από τις πιο σημαντικές φυλογεωγραφικές περιοχές της

ευρύτερης Ανατολικής Μεσογείου, δεδομένου ότι έχει μακρά ιστορία ανταλλαγής πανίδας τόσο με την Αφρική όσο και με την Μέση Ανατολή (Arnold, 1987). Εντούτοις, οι μελέτες (Amer & Kumazawa, 2005; Carranza et al., 2008; Pook *et al.*, 2009; Metallinou *et al.*, 2012) με εκτενή δειγματοληψία στην Αραβική Χερσόνησο είναι πολύ λίγες.

Η μελέτη μοριακών φυλογενέσεων καθώς και η επεξεργασία σύγχρονων κατανομών έχει οδηγήσει στον εντοπισμό κάποιων βασικών ιστορικών μηχανισμών που έχουν επηρεάσει ευρέως την πανίδα της Β. Αφρικής και της Μέσης Ανατολής. Το κλείσιμο της Τηθύος και η δημιουργία της Ερυθράς θάλασσας ως δυναμικές διαδικασίες (Poron et al., 2004; Harzhauser et al., 2007) που άλλοτε οδηγούσαν στη δημιουργία γεφυρών ξηράς μεταξύ Αφρικής και Ευρασίας και άλλοτε στην απομόνωσή τους, έχουν υπάρξει από τους κύριους παράγοντες ειδογένεσης. Ως αποτέλεσμα μια τέτοιας διαδικασίας παρατηρούνται πολύπλοκα πρότυπα κατανομών στην ευρύτερη περιοχή (Amer & Kumazawa, 2005; Pook et al., 2009; Metallinou et al., 2012). Στην Εικόνα 2.1 παρουσιάζονται οι κύριοι διάδρομοι διασποράς μεταξύ Αφρικής, Αραβικής Χερσονήσου και Ευρασίας, οι οποίοι στηρίζονται σε μελέτες μοριακών φυλογενέσεων (Amer & Kumazawa, 2005; Pook et al., 2009; Metallinou et al., 2012), απολιθωμάτων (Jones, 1999; Fernandes et al., 2006), αλλά και ζωογεωγραφικών αναλύσεων βάσει σύγχρονων κατανομών ζώων (Arnold, 1987; Disi *et al.*, 2001; Amer & Kumazawa, 2005). Οι δύο σημαντικότεροι δίοδοι επικοινωνίας μεταξύ των περιοχών αυτών είναι μέσω της χερσονήσου του Σινά και των στενών του «Bad-el-Mandeb» (Por, 1987; Jones, 1999; Fernandes et al., 2006; Brito et al., 2013). Ενδεικτικό της πολύπλοκης παλαιογεωγραφίας της περιοχής είναι ότι οι πιο απότομες πανιδικές αλλαγές (τουλάχιστον για την ερπετοπανίδα) παρατηρούνται στα δύο ρήγματα εκατέρωθεν της χερσονήσου του Σινά («Suez» σε συνδυασμό με τον Νείλο και «Wādī ‘Araba» Εικόνα 2.1) (Arnold, 1987). Η έντονη τεκτονική δραστηριότητα καθώς και η αντίθεση των ενδιαιτημάτων που χαρακτηρίζουν το ανατολικό (μια από τις πιο ακραία ερημικές περιοχές του πλανήτη) και το δυτικό άκρο της χερσονήσου (κοιλιάδα Νείλου) αποτελούν ισχυρό φίλτρο στην εκατέρωθεν μετακίνηση της πανίδας (Arnold, 1987).



Εικόνα 2.1.: Καταγεγραμμένοι διάδρομοι πανιδικών μετακινήσεων (στικτές γραμμές) στην περιοχή μελέτης (από Por, 1987; Jones, 1999; Fernandes et al., 2006; Brito et al., 2013)

Στη Β. Αφρική σύμφωνα με φυλογεωγραφικές μελέτες το μεγαλύτερο μέρος της παρατηρούμενης ποικιλότητας οφείλεται στη διακύμανση της έκτασης των ερημικών εκτάσεων (Carranza et al., 2008). Η εμφάνιση της Σαχάρας λειτούργησε βικαριανιστικά απομονώνοντας πληθυσμούς είτε σε ξεκάθαρα πρότυπα (π.χ., βορρά και νότου Douady *et al.*, 2003) είτε δημιουργώντας πιο περίπλοκες φυλογενέσεις (Carranza et al., 2008; Fonseca et al., 2009; Gonçalves *et al.*, 2012). Για πολλούς από τους οργανισμούς σημαντικό ρόλο φαίνεται να έχουν παίξει οι ορεινοί όγκοι της Αφρικής, το σύστημα Άτλαντα στο Μαρόκο, της Αλγερίας και της Τυνησίας καθώς και οι οροσειρές στο νότιο μέρος της Αλγερίας και της Μαυριτανίας (Schleich et al., 1996; Brito et al., 2013). Οι ορεινοί αυτοί όγκοι έχουν δράσει ως καταφύγια κατά τη διάρκεια παγετωδών περιόδων, αλλά και ως πηγή ανατροφοδότησης των πεδινών περιοχών σε μεσοπαγετώδεις περιόδους (Schleich et al., 1996; Gonçalves et al., 2012; Brito et al., 2013). Το σύστημα οροσειρών του Άτλαντα έχει επίσης προταθεί ως βικαριανιστικός παράγοντας (Bons & Geniez, 1995; Schleich et al., 1996; Fonseca et al., 2009) ωστόσο η μελέτη ευρύτερων κατανομών έχει βρεθεί ότι αναιρεί το παραπάνω πρότυπο (Gonçalves et al., 2012).

Για τη Μέση Ανατολή, όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, λόγω της έλλειψης βασικών φυλογεωγραφικών μελετών στην περιοχή δεν έχουν καταγραφεί βασικά φυλογεωγραφικά πρότυπα. Από τις ζωογεωγραφικές μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι τώρα, οι πεδινές ερημικές εκτάσεις της Αραβικής

Χερσονήσου (Σαουδική Αραβία, Συρία, Ιορδανία, Ισραήλ και Ιράκ) χαρακτηρίζονται από πολλά κοινά πανιδικά στοιχεία με τις ερημικές εκτάσεις της Β. Αφρικής (Arnold, 1987; Joger, 1987). Αντίστοιχη συγγένεια έχει παρατηρηθεί μεταξύ της Αφροτροπικής πανίδας με τους ορεινούς όγκους του νότιο-δυτικού τμήματος της χερσονήσου (Joger, 1987). Οι γειτονικές περιοχές της Αραβικής Χερσονήσου (Ανατολία και Ιράν) οριοθετούνται σαφώς από την πρώτη, τόσο γεωγραφικά όσο και πανιδικά βάσει των Ταυρίδων και της οροσειράς της Ζάγκρου αντίστοιχα (Anderson, 1999; Bilgin, 2011).

2.1.4. Στόχοι παρόντος κεφαλαίου

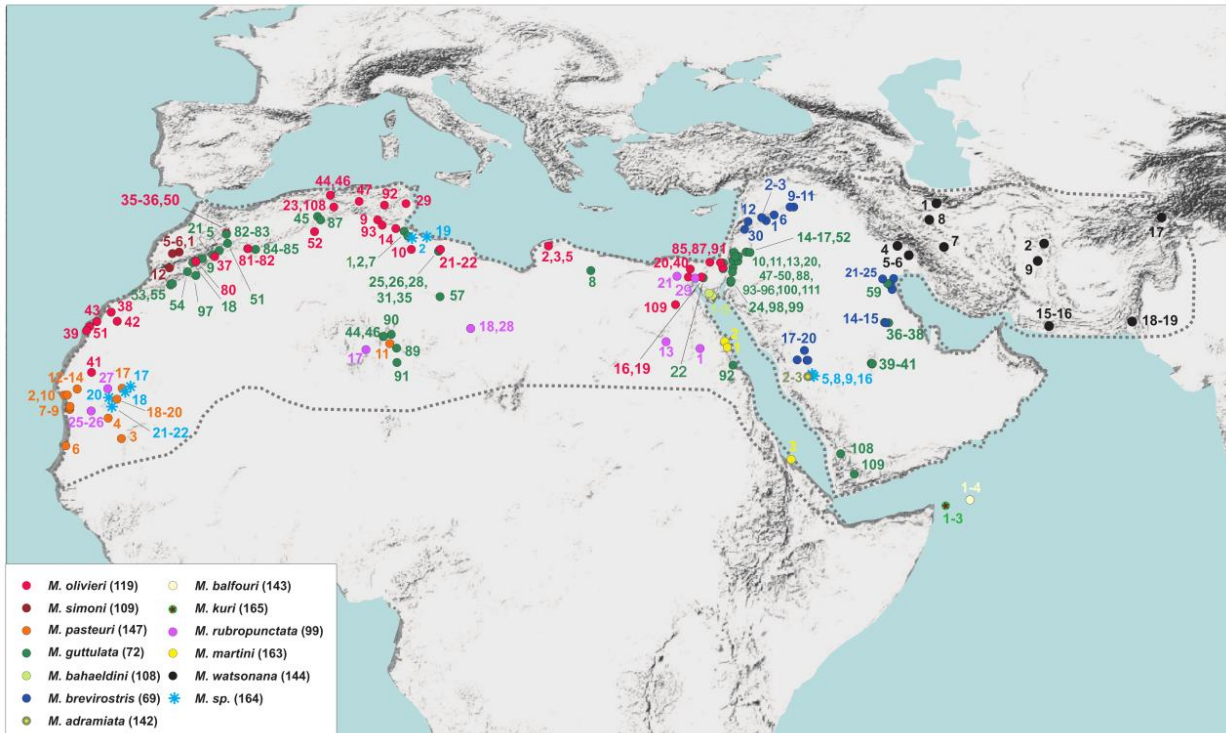
Στόχος του παρόντος κεφαλαίου ήταν η εξερεύνηση των φυλογεωγραφικών προτύπων της Β. Αφρικής και της Μέσης Ανατολής, όπως έχουν αποτυπωθεί στην εξελικτική ιστορία των πληθυσμών του γένους *Mesalina*. Πιο συγκεκριμένα σκοπός ήταν η διερεύνηση της επιρροής των τεκτονικών και κλιματικών αλλαγών της περιοχής μελέτης στη διαμόρφωση των εξελικτικών σχέσεων του γένους. Η *Mesalina*, εκτός των προτερημάτων της για την μελέτη φυλογεωγραφικών ερωτημάτων ως σαύρα (βλ., παράγραφος 1.5), αποτελεί ιδανικό τάξο για την εξερεύνηση των φυλογεωγραφικών προτύπων της Β. Αφρικής και της Μέσης Ανατολής, λόγω της εκτεταμένης κατανομής της και στις δύο περιοχές (Χάρτης 1.2). Υπάρχουν δύο προηγούμενες μελέτες της φυλογεωγραφίας του γένους (Karlı et al., 2008; Šmíd & Frynta, 2012), ωστόσο και οι δύο βασίζονται σε περιορισμένο αριθμό ειδών, δειγμάτων και γεωγραφικής εξάπλωσης. Σε αντίθεση με τις προηγούμενες μελέτες στην παρούσα διατριβή καλύφθηκε η πλειονότητα του αριθμού ειδών του γένους και η μέγιστη δυνατή κατανομή τους.

2.2. Υλικά και Μέθοδοι

2.2.1. Δειγματοληψία

Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη, βρίσκονται κατατεθειμένα στις συλλογές του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας του Πανεπιστημίου Κρήτης (είτε ολόκληρο το ζώο είτε κομμάτι ιστού) και αφορούν δείγματα τα οποία είτε συλλέχθηκαν κατά τη διάρκεια των εξερευνητικών αποστολών των ερευνητών του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας Κρήτης είτε αποτελούν δάνειο από ιδιωτικές συλλογές ή συλλογές άλλων Πανεπιστημίων και Μουσείων Φυσικής Ιστορίας της Ευρώπης και της Αμερικής (Παράρτημα Ι). Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 193 δείγματα ιστού, τα οποία αντιστοιχούν σε 12 από τα 14 είδη του γένους. Τα δύο είδη που λείπουν είναι τα μικροενδημικά *M. ercolinii* και *M. ayunensis*, τα οποία απαντώνται σε σημειακούς πληθυσμούς της Σομαλίας (Arnold *et al.*, 1998) και του Ομάν (Arnold, 1980) και είναι γνωστά μόνο από την περιοχή περιγραφής τους. Το σύνολο των δειγμάτων αλληλουχήθηκαν για τμήμα του μιτοχονδριακού γονιδίου κυτόχρωμα β (*cyt b*) και του 16S ριβοσωμικό DNA (16S rRNA). Για την εκτίμηση των φυλογενετικών σχέσεων του γένους βάσει ενός ανεξάρτητα κληρονομούμενου γενετικού τόπου, επιλέχθηκε ένα αντιπροσωπευτικό υποσύνολο (56 δείγματα) σύμφωνα με την τοπολογία που προέκυψε βάσει των μιτοχονδριακών γονιδίων. Το υποσύνολο αυτό αλληλουχήθηκε για το 7^ο ιντρόνιο του πυρηνικού γονιδίου β -fibrinogen (β -fibrin7). Για τη χρήση τους ως παραομάδα αλληλουχήθηκαν επτά δείγματα του γένους *Gallotia* και δύο του γένους *Eremias*.

Για την εκτίμηση των χρόνων απόσχισης χρησιμοποιήθηκαν οι αντίστοιχες μιτοχονδριακές αλληλουχίες για 14 επιπλέον τάξα (*Psammodromus algirus*, *Podarcis cretensis*, *Po. peloponnesiaca*, *Po. bocagei*, *Po. carboneli* και *Po. hispanica*). Λεπτομέρειες για τους κωδικούς, το γεωγραφικό στίγμα για το σύνολο των δειγμάτων δίνονται στο Παράρτημα 1 και τον Χάρτη 2.1.



Χάρτης 2.1.: Γεωγραφική απεικόνιση των δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Με στικτική γραμμή παρουσιάζεται η κατανομή του γένους στη Β. Αφρική και τη Μέση Ανατολή (Sindaco & Jeremčenko, 2008)

2.2.2. Εξαγωγή DNA/Πολλαπλασιασμός γονιδίων στόχων/Αλληλούχηση

Το σύνολο των εργαστηριακών αναλύσεων που αναφέρονται στην παρούσα παράγραφο, πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Μοριακής Συστηματικής του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας Κρήτης.

Η εξαγωγή του DNA πραγματοποιήθηκε βάσει των Aljanabi & Martinez (1997), που αποτελεί μια από τις πιο κλασικές μεθόδους εξαγωγής βάσει αλάτων. Για τη διεξαγωγή του δεν απαιτείται ακριβός εξοπλισμός και δεν χρησιμοποιούνται επικίνδυνα αντιδραστήρια τόσο για τον ερευνητή όσο και για το περιβάλλον. Η ποσότητα του ιστού που απαιτείται αντιστοιχεί σε ~50–100 mg, αν και για την εξαγωγή κακό-διατηρημένων δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν μεγαλύτερες ποσότητες. Η ποσότητα και η ποιότητα του εξαγόμενου γενωμικού υλικού ήταν επαρκής για την πραγματοποίηση έως και δεκάδων αντιδράσεων PCR.

Κεφάλαιο 2^ο : Ιστορική βιογεωγραφία του γένους *Mesalina*

Για τα δείγματα που ήταν διατηρημένα σε φορμόλη προηγήθηκε ξέπλυμα ιστού σε 1 ml Tris-HCl (pH 8.0, 10mM) για τρία εικοσιτετράωρα, που θεωρείται κατάλληλη προεργασία για την εξαγωγή από δείγματα μουσειακών συλλογών (Austin & Melville, 2006). Για τον πολλαπλασιασμό των τριών γονιδίων στόχων, χρησιμοποιήθηκαν συνολικά έξι ζεύγη εκκινητών. Τρία από αυτά σχεδιάστηκαν συγκεκριμένα για τα είδη του γένους *Mesalina* με τη βοήθεια του προγράμματος FastPCR (Kalendar *et al.*, 2009), το οποίο διασφαλίζει την υψηλή πολυπλοκότητα της αλληλουχίας των εκκινητών και την αποφυγή δημιουργίας διμερών⁶. Τα ζεύγη των εκκινητών, καθώς και πληροφορίες που σχετίζονται με τις αλληλουχίες, το μέγεθος του προϊόντος που παράγουν δίνονται στον Πίνακα 2.1. Οι συνθήκες της PCR που χρησιμοποιήθηκαν για τον πολλαπλασιασμό των γονιδίων δίνονται στον Πίνακα 2.2.

Πίνακας 2.1.: Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν για τα γονίδια *cyt b*, 16S rRNA και β -fibint7

Γονίδιο	Εκκινητής	Αλληλουχία Εκκινητή	Μήκος	Αναφορά
<i>cyt b</i>	GLUDG-L	5'-TGACTTGAARAACCAAYCGTTG-3'	~450bp	(Palumbi <i>et al.</i> , 1991)
	CB2-H	5'-CCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA-3'		
	Mes_cytb_F	5'-CGWAAACAACACCCVATCCT-3'	~400bp	Παρούσα εργασία
	Mes_cytb_R	5'-GATATTTGTCCTCADGGHA-3'		Παρούσα εργασία
16S rRNA	16SAR-L	5'-CGC CTG TTT ATC AAA AAC AT-3'	~530bp	(Palumbi, 1996)
	16SBR-H	5'-CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG T-3'		
	Mes_16S_F	5'-CCGCGGTATCCTAACCCGTGCAA-3'	~500bp	Παρούσα εργασία
	Mes_16S_R	5'-TTAATCGTTGAACAAACGAACC-3'		Παρούσα εργασία
β -fibint7	BFXF	5'-CAG GGA GAG CTA CTT TTG ATT AGA C-3'	~600bp	(Sequeira <i>et al.</i> , 2008)
	BF8	5'-CAC CAC CGT CTT CTT TGG AAC ACT G-3'		
	Mes_fib7_F	5'-AGA GAC AAT GAT GGC TGG TAT G-3'	~570bp	Παρούσα εργασία
	Mes_fib7_R	5'-TGG AAC ACT GTT TCT TTG GGT C-3'		

⁶ Τα διμερή εκκινητών αντιστοιχούν σε πιθανά παραπροϊόντα της PCR τα οποία οφείλονται σε υβριδισμούς μεταξύ των εκκινητών λόγω υψηλής συμπληρωματικότητας.

Κεφάλαιο 2^ο : Ιστορική βιογεωγραφία του γένους *Mesalina*

Πίνακας 2.2.: Οι συνθήκες της PCR που εφαρμόστηκαν για τον πολλαπλασιασμό των γονιδίων στόχων.

Γονίδιο	Ζεύγος εκκινητών	Συνθήκες			Συγκέντρωση MgCl ₂
		Στάδιο	Θ ^ο C	Χρόνος	
Cyt <i>b</i>	GLUDG-L /CB-2	Αποδιάταξη	94	60 sec	1,5mM
		Σύνδεση	47	60 sec	
	Mes_cytb_F/Mes_cytb_R	Επιμήκυνση	72	60 sec	
		Αποδιάταξη	94	60 sec	
		Σύνδεση	51	60 sec	
		Επιμήκυνση	72	60 sec	
16S rRNA	16SAR-L/16SBR-H	Αποδιάταξη	94	60 sec	3mM
		Σύνδεση	47	60 sec	
	Mes_16S_F/Mes_16S_R	Επιμήκυνση	72	60 sec	
		Αποδιάταξη	94	60 sec	
		Σύνδεση	51	60 sec	
		Επιμήκυνση	72	60 sec	
<i>β</i> -fibint7	BFXF/BF8	Αποδιάταξη	94	60 sec	1,5mM
		Σύνδεση	54,9	60 sec	
	Mes_fib7_F/Mes_fib7_R	Επιμήκυνση	94	60 sec	
		Αποδιάταξη	94	60 sec	
		Σύνδεση	50	60 sec	
		Επιμήκυνση	72	63 sec	

Τα αντιδραστήρια της PCR που ήταν σε περίσσεια απομακρύνθηκαν από το τελικό προϊόν με τη χρήση του πακέτου αντιδραστηρίων «NucleoSpin PCR kit» της εταιρείας «Macherey–Nagel». Η αλληλούχηση των καθαρισμένων πλέον προϊόντων της PCR πραγματοποιήθηκε απευθείας για τα μιτοχονδριακά γονίδια χρησιμοποιώντας τους αντίστοιχους κάθε φορά εκκινητές. Για το πυρηνικό γονίδιο προηγήθηκε κλωνοποίηση του προϊόντος με τη χρήση του πακέτου αντιδραστηρίων «pCR2.1/TOPO vector», της εταιρείας «Invitrogen». Μετά την κλωνοποίηση των πυρηνικών αλληλουχιών, επιλέχθηκαν πέντε τυχαίες αποικίες οι οποίες διαλύθηκαν σε 100 μl απιονισμένου νερού η κάθε μία. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν στους 100^οC για 10 λεπτά με σκοπό την διάρρηξη των μεμβρανών του κυττάρου και την απελευθέρωση του γενωμικού τους υλικού. Κατόπιν χρησιμοποιήθηκε 1 μl ως μήτρα

για τον πολλαπλασιασμό του ένθετου γονιδίου στα πλασμίδια των αποικιών με τη χρήση των ειδικευμένων εκκινητών M13. Μετά τον πολλαπλασιασμό επιλεγόταν το πιο πλούσιο προϊόν ανά δείγμα για καθαρισμό και αλληλούχηση με τους αντίστοιχους εκκινητές. Ο προσδιορισμός των αλληλουχιών έγινε μετά από αντίδραση αλληλούχησης με τη χρήση του ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit v. 3.1 (Applied Biosystems) και την ηλεκτροφόρηση του προϊόντος που προέκυψε σε αυτοματοποιημένη συσκευή αλληλούχησης (PE-ABI 3730), ακολουθώντας τις οδηγίες του κατασκευαστή.

2.2.3. Φυλογενετικές αναλύσεις

Οι αναλύσεις που περιγράφονται στην παρούσα παράγραφο πραγματοποιήθηκαν στον cluster υπολογιστών του Μουσείου Φυσικής Κρήτης που ήταν διαθέσιμος την περίοδο που διεξάγονταν οι αναλύσεις (84 επεξεργαστές, 8 GB μνήμη RAM ανά επεξεργαστή) και στον προσωπικό μου υπολογιστή [τέσσερις επεξεργαστές (δύο πυρήνες ανά επεξεργαστή) 4 GB μνήμη RAM].

2.2.3.1. Στοιχίση αλληλουχιών/επιλογή καταλληλότερου μοντέλου νουκλεοτιδικής υποκατάστασης

Αφού έγινε προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας του προϊόντος της PCR, ακολούθησε η στοιχίση των αλληλουχιών. Η στοιχίση αποσκοπεί στον προσδιορισμό των ομόλογων θέσεων των αλληλουχιών, αφού με βάση τις διαφορές σε αυτές τις θέσεις υπολογίζονται οι εξελικτικές σχέσεις των υπό μελέτη αλληλουχιών.

Η στοιχίση για το κωδικό γονίδιο *cyt b* πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του προγράμματος MAFFT v.6 (Kato & Toh, 2008) υπό τις προεπιλεγμένες παραμέτρους (διαθέσιμο στην διεύθυνση <http://align.bmr.kyushu-u.ac.jp/mafft/online/server/>). Στη συνέχεια οι στοιχισμένες αλληλουχίες μεταφράστηκαν σε αμινοξέα προκειμένου να εντοπιστούν πιθανά κωδικόνια λήξης τα οποία αποτελούν πιθανή ένδειξη ψευδογονιδίων, ή λαθών κατά τη διαδικασία της

αλληλούχησης. Η στοίχιση των 16S rRNA και του β -fibrinogen7 πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα Fast Statistical Alignment (FSA, Bradley *et al.*, 2009). Η μέθοδος αυτή μειώνει σημαντικά την πιθανότητα να παραχθούν εσφαλμένες υποθέσεις ομολογίας (false positive), παράγοντας ενδεχομένως λιγότερο πληροφοριακά αλλά πιο ασφαλή αποτελέσματα (Bradley *et al.*, 2009). Αυτή η μέθοδος στοίχισης είναι κατάλληλη για μη κωδικά γονίδια και εσόνια κωδικών γονιδίων που είναι επιρρεπή σε στοιχίσεις με υψηλό ποσοστό κενών λόγω συχνών εισαγωγών ή διαγραφών νουκλεοτιδίων.

Δημιουργήθηκαν δύο διαφορετικά σύνολα δεδομένων, ένα για τα μιτοχονδριακά γονίδια (193 δείγματα της υπό μελέτη ομάδας και 9 δείγματα για την παραομάδα) και ένα για το πυρηνικό γονίδιο (56 δείγματα του γένους *Mesalina* και ένα δείγμα ως παραομάδα).

2.2.3.2. Επιλογή μοντέλου νουκλεοτιδικής υποκατάστασης

Το καταλληλότερο μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης για το κάθε γονίδιο επιλέχθηκε χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα jModelTest (v. 2.1.1) (Darriba *et al.*, 2012). Οι παράμετροι υπό τις οποίες έγινε η εκτίμηση του μοντέλου με τη μέγιστη πιθανοφάνεια είναι οι εξής: 1) τρία σχήματα νουκλεοτιδικής υποκατάστασης, [Jukes-Cantor (JC), Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) και το Generalised Time Reversible (GTR)], τα οποία καλύπτουν όλες τις πιθανές επιλογές μοντέλων στα προγράμματα φυλογενετικών αναλύσεων που θα χρησιμοποιηθούν στη συνέχεια (BEAST, MrBayes), 2) συχνότητα νουκλεοτιδίων, και 3) για τη διακύμανση του ρυθμού εξέλιξης συνυπολογίστηκε η πιθανότητα ο ρυθμός να ακολουθεί γάμμα κατανομή (G, ncat=4) και η πιθανότητα να υπάρχει σημαντικό ποσοστό αμετάβλητων θέσεων («*Invariable sites*»). Το σύνολο αυτών των ρυθμίσεων ορίζουν 24 πιθανά μοντέλα, από τα οποία αγνοήθηκαν εκείνα που συμπεριλάμβαναν τόσο την παράμετρο I όσο και την G (Yang, 2006). Κατά συνέπεια τα πιθανά προς επιλογή μοντέλα ελαττώθηκαν σε 18 από το σύνολο των 1.624 μοντέλων που είναι διαθέσιμα στο πρόγραμμα. Η αξιολόγηση των 18 μοντέλων μετά τον υπολογισμό της πιθανότητας τους, δεδομένου των στοιχισμένων αλληλουχιών, έγινε σύμφωνα με το Μπεϋζιανό κριτήριο (BIC), το οποίο μετά από πειράματα με προσομοιωμένα σύνολα δεδομένων αποδείχτηκε να είναι το πιο ακριβές (Darriba *et al.*, 2012). Τέλος, παρόλο που δεν

υπάρχει συνισταμένη για το ποια επιλογή είναι καταλληλότερη για το μέγεθος του δείγματος που πρέπει να ληφθεί υπόψη, στην συγκεκριμένη περίπτωση χρησιμοποιήθηκε ο αριθμός των τάξων επί τον αριθμό των χαρακτήρων του στοιχισμένου συνόλου δεδομένων (NxL) που θεωρείται η πιο αυστηρή (D. Darriba, προσωπική επικοινωνία).

2.2.3.3. Φυλογενετικά δέντρα

Μπεϋζιανή Συμπερασματολογία

Οι χαρακτήρες σε όλες τις αναλύσεις εκτίμησης φυλογενετικών σχέσεων θεωρήθηκαν διακριτοί και τυχαίας σειράς. Η ανάλυση της Μπεϋζιανής Συμπερασματολογίας («*Bayesian Inference*», BI) πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα MrBayes (v3.1.2) (Huelsenbeck & Ronquist, 2001). Συνολικά, οι υπολογισμοί έγιναν τέσσερις ανεξάρτητες φορές και την κάθε φορά χρησιμοποιούνταν οχτώ αλυσίδες (εξερευνητές στον χώρο των πιθανοτήτων), μία από τις οποίες συνέλεγε τα δεδομένα («*hot chain*»). Η κάθε ανάλυση πραγματοποιήθηκε για 10^7 γενεές, ενώ φυλάσσονταν στη μνήμη μία ανά 100 γενεές, το οποίο κατέληξε στη συλλογή 10^5 πιθανών φυλογενέσεων και παραμέτρων για τις αντίστοιχες φυλογενέσεις. Από τα αποτελέσματα απορρίφθηκε το 10% ως πιθανόν τυχαίες λύσεις («*burnin*»), καταλήγοντας στο σύνολο των 10^4 φυλογενέσεων και πιθανών παραμέτρων. Οι παράμετροι που συλλέχθηκαν από την ανάλυση οπτικοποιήθηκαν με τη χρήση του προγράμματος Tracer v1.5 (Rambaut & Drummond, 2008), προκειμένου να διαπιστωθεί εάν έγινε επαρκής δειγματοληψία του χώρου των πιθανοτήτων βάσει της παραμέτρου «Effective Sample Size» [εκτίμηση των ανεξάρτητων δειγμάτων που έχουν συλλεχθεί κατά τη διάρκεια της ανάλυσης, επαρκής θεωρείται η ανάλυση όταν τα δείγματα αυτά είναι περισσότερα από 200 (ESS>200)]. Επιπλέον, ελέγχθηκε εάν οι ανεξάρτητες αναλύσεις συνέκλιναν στις ίδιες τιμές για κάθε παράμετρο, ως ένδειξη εύρεσης του καθολικού βέλτιστου («*global optimum*»). Μετά την απόρριψη των τυχαίων λύσεων υπολογίστηκε το συναινετικό με τη μέθοδο της πλειοψηφίας (δηλαδή, οι κλάδοι του τελικού δέντρου θα πρέπει να βρίσκονται τουλάχιστον στο 50% του συνόλου των δέντρων που

συλλέχθηκαν). Το ποσοστό στο οποίο βρέθηκε κάθε κλάδος του συναινετικού δέντρου, αποτελεί και την εκ των υστέρων πιθανότητα του ($\geq 95\%$ δηλώνει στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα) (Huelsenbeck & Ronquist, 2001). Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για το μιτοχονδριακό και για το πυρηνικό σύνολο δεδομένων ξεχωριστά.

Μέγιστη Πιθανοφάνεια

Η εκτίμηση των φυλογενέσεων υπό το κριτήριο της Μέγιστης Πιθανοφάνειας («*Maximum Likelihood*», ML) πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα RAxML v. 7.2.7 (Stamatakis, 2006a). Το μοντέλο που χρησιμοποιήθηκε και για τα τρία γονίδια ήταν το GTRGAMMA. Προκειμένου να αυξήσουμε την πιθανότητα ανεύρεσης του δέντρου ML, πραγματοποιήθηκαν 200 ανεξάρτητες εκτιμήσεις, από τις οποίες επιλέχθηκε εκείνο με την μέγιστη πιθανοφάνεια. Επιπλέον, για την αξιολόγηση της τοπολογικής παρέκκλισης μεταξύ των 200 δέντρων ML που εκτιμήθηκαν υπολογίστηκαν οι αποστάσεις Robinson – Foulds (RF, Robinson & Foulds, 1981). Η μέση RF απόσταση μεταξύ των 200 δέντρων ML (δηλαδή, παρόμοιες φυλογενετικές σχέσεις) μπορεί να ερμηνευτεί ως ισχυρό φυλογενετικό σήμα στη στοίχιση των αλληλουχιών που χρησιμοποιήθηκαν. Αντιθέτως, οι μεγάλες RF αποστάσεις ανάμεσα σε φυλογενετικά δέντρα που εκτιμώνται βάσει των ίδιων αλληλουχιών πιθανώς οφείλονται σε τυχαίες εκτιμήσεις λόγω αδύναμου φυλογενετικού σήματος. Η στατιστική ισχύς των κλάδων του ML δέντρου αξιολογήθηκε επιπλέον με τη διεξαγωγή 10^3 επαναλήψεων της ανάλυσης βάσει 10^3 «στοιχίσεων bootstrap»⁷. Για την πραγματοποίηση των εκτιμήσεων ML βάσει των «στοιχίσεων bootstrap» χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο GTRCAT (και για τα δύο γονίδια), το οποίο σύμφωνα με αποτελέσματα πραγματικών δεδομένων όσο και προσομοιωμένων παρέχει αξιόπιστα αποτελέσματα ενώ υπολογιστικά είναι σημαντικά φτηνότερο (Stamatakis, 2006b).

⁷ Η «στοίχιση bootstrap» (ΣΒ) αναφέρεται σε μία στοίχιση ίσου μήκους με την αρχική στοίχιση των αλληλουχιών (ΑΣ) που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση των φυλογενετικών σχέσεων. Οι στήλες της ΣΒ προέρχονται από τυχαία δειγματοληψία στηλών της ΑΣ με επανατοποθέτηση.

2.2.3.4. Εκτίμηση χρόνων απόσχισης

Διαχωρισμός ενδο- και διά-ειδικής ποικιλότητας

Για την εκτίμηση των χρόνων απόσχισης χρησιμοποιήθηκε το μιτοχονδριακό σύνολο δεδομένων, ως πιο ολοκληρωμένο από άποψη αριθμού δειγμάτων. Στην βιβλιογραφία έχει διατυπωθεί η πιθανότητα ο παρατηρούμενος ρυθμός εξέλιξης να διαφέρει μεταξύ διαφορετικών χρονικών πλαισίων (π.χ. μεταξύ γενεών, πληθυσμών, ειδών), λόγω διαφόρων παραγόντων (Ho, 2007; Ho *et al.*, 2011). Ως αποτέλεσμα, η βαθμονόμηση ενός συνόλου δεδομένων που συνδυάζει δύο χρονικά πλαίσια μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένα αποτελέσματα (Ho *et al.*, 2011). Το σύνολο των μιτοχονδριακών αλληλουχιών της *Mesalina*, μπορεί να διαιρεθεί σε δύο χρονικές κλίμακες, μεταξύ πληθυσμών και μεταξύ ειδών. Πέραν των προβληματισμών που έχουν αναφερθεί λόγω των στοχαστικών διαδικασιών που μπορεί να προκαλέσουν προβλήματα σε τέτοιου τύπου δεδομένα, δεν υπάρχει κάποιο διαθέσιμο μοντέλο για την βαθμονόμηση μιας φυλογένεσης που να μπορεί να διαχειριστεί ταυτόχρονα ενδο- και δια-ειδικά δεδομένα.

Για να αποφύγουμε την πιθανότητα λανθασμένων εκτιμήσεων για τους λόγους που περιγράφηκαν, χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο Generalized Mixed Yule-Coalescent (GMYC) (Pons *et al.*, 2006; Fontaneto *et al.*, 2007), βάσει του οποίου μπορεί να εντοπιστεί το σημείο (ή σημεία) του δέντρου τα οποία οριοθετούν τη μετάβαση από ενδο- σε δια-ειδική ποικιλότητα. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το πακέτο SPLITS της R (SPecies LIimits by Threshold Statistics, <http://r-forge.r-project.org/projects/splits/>, Fujisawa & Barraclough, 2013). Η ανάλυση μπορεί να πραγματοποιηθεί θεωρώντας είτε ένα σημείο μετάβασης κατά μήκος της φυλογένεσης είτε διαφορετικά σημεία ανάλογα με τον κλάδο (Monaghan *et al.*, 2009). Ως δεδομένο εισόδου για την πραγματοποίηση της ανάλυσης είναι απαραίτητη η βαθμονομημένη φυλογένεση των μελετώμενων τάξεων, μετά την αφαίρεση πιθανών αλληλουχιών που παράγουν πολυτομικές σχέσεις. Την κύρια πηγή πολυτομικών σχέσεων αποτελεί η ύπαρξη αλληλουχιών με μηδενική γενετική απόσταση. Για την αφαίρεση των τελευταίων σχεδιάστηκε και χρησιμοποιήθηκε ειδικό script σε γλώσσα Python. Μετά την αφαίρεση των όμοιων απλοτύπων πραγματοποιήθηκε ανάλυση ML (όπως περιγράφεται παραπάνω). Στη συνέχεια το δέντρο μετατράπηκε σε

βαθμονομημένη φυλογένεση χρησιμοποιώντας τη μέθοδο «penalized likelihood» με τον αλγόριθμο TN που είναι διαθέσιμα στο πρόγραμμα r8s v1.8 (Sanderson, 2003). Για την κατασκευή του δέντρου αυτού είναι απαραίτητος ο υπολογισμός της παραμέτρου α («smoothing parameter»), ο οποίος πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο «cross validation», για εύρος τιμών από 1 έως 10^3 , όπως περιγράφεται στις οδηγίες χρήσης του προγράμματος. Οι πολυτομίες που σχηματίστηκαν μετά από αυτή τη διαδικασία λύθηκαν σε τυχαίες διχοτομήσεις, με τη χρήση της λειτουργίας «multi2di» της βιβλιοθήκης «geiger» στη γλώσσα προγραμματισμού R (Harmon *et al.*, 2008).

Τέλος, το παραγόμενο βαθμονομημένο δέντρο χρησιμοποιήθηκε για τον διαχωρισμό της ένδο- από τη δια-ειδική ποικιλότητα βάσει και των δύο διαθέσιμων μεθόδων, «single-threshold» και «multiple-threshold».

Μέθοδος βαθμονόμησης

Η εκτίμηση των χρόνων απόσχισης για το γένος *Mesalina* έγινε με τη χρήση του προγράμματος BEAST v1.7.2 (Drummond & Rambaut, 2007). Οι αλληλουχίες που χρησιμοποιήθηκαν αντιστοιχούν σε διαειδικό επίπεδο ποικιλότητας όπως ορίστηκε από την προηγούμενη διαδικασία. Οι επιλεγμένες αλληλουχίες στοιχήθηκαν εξ αρχής ενώ το μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης για κάθε γονίδιο υπολογίστηκε εκ νέου. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για $2 * 10^6$ γενεές, 25 ανεξάρτητες φορές. Στην μνήμη καταγράφονταν μία στις 10^3 γενεές ανά ανάλυση, καταλήγοντας σε σύνολο $2 * 10^3$ βαθμονομημένες φυλογενέσεις και αντίστοιχων παραμέτρων ανά ανάλυση. Από κάθε ανεξάρτητη ανάλυση απορρίφθηκε το 10% ως «burnin». Τα μοντέλα και οι εκ των προτέρων πεποιθήσεις («priors») που ορίστηκαν διαφορετικά από τις προεπιλογές ήταν οι εξής: 1) νουκλεοτιδικά μοντέλα υποκατάστασης: 16S - GTR+G; cyt *b* - HKY+G, 2) μοντέλο μοριακού ρολογιού: «Relaxed Uncorrelated Lognormal Clock»; 3) μοντέλο κλαδογένεσης: «Yule process of speciation».

Σημεία βαθμονόμησης

Λόγω έλλειψης εσωτερικών σημείων βαθμονόμησης για το γένος *Mesalina* χρησιμοποιήθηκαν «εξωτερικά». Οι ηλικίες των Κανάριων νήσων (κατ' επέκταση και η ηλικία των ενδημικών ειδών του γένους *Gallotia*) χρησιμοποιήθηκαν ως βασικά σημεία βαθμονόμησης, όπως έχουν χρησιμοποιηθεί και σε άλλες φυλογενέσεις της οικογένειας Lacertidae (Arnold *et al.*, 2007; Cox *et al.*, 2010; Šmíd & Frynta, 2012). Με σκοπό τη διασταύρωση των εκτιμώμενων χρόνων, χρησιμοποιήθηκαν και δύο ανεξάρτητα σημεία βαθμονόμησης 1) η διάσπαση της *Podarcis cretensis* από την *P. peloponnesiaca* που συνέβη λόγω του διαχωρισμού της Κρήτης από την Πελοπόννησο (Poulakakis *et al.*, 2003), καθώς και 2) η διάσπαση των Ιβηρικών ειδών του γένους *Podarcis* (Kaliontzopoulou *et al.*, 2011). Τέλος πραγματοποιήθηκε και μια τελική χρονολόγηση χρησιμοποιώντας όλα τα διαθέσιμα σημεία βαθμονόμησης (Πίνακας 2.3).

Τα αποτελέσματα όλων των αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν με το Beast εικονοποιήθηκαν και αναλύθηκαν με το Tracer με την ίδια λογική που αναλύθηκαν και τα αποτελέσματα από το πρόγραμμα MrBayes. Το σύνολο των παραγόμενων φυλογενέσεων και των αντίστοιχων παραμέτρων από τις 25 ανεξάρτητες αναλύσεις ενοποιήθηκαν σε ένα αρχείο με τη χρήση του προγράμματος Logcombiner. Το τελικό βαθμονομημένο δέντρο, «maximum clade credibility tree» υπολογίστηκε με το TreeAnnotator. Τα δύο τελευταία προγράμματα περιέχονται στο ευρύτερο πακέτο βαθμονόμησης BEAST v1.7.2 (Drummond & Rambaut, 2007).

2.2.3.5. Εκτίμηση προγονικών κατανομών

Για την εκτίμηση των προγονικών κατανομών του γένους χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Bayesian Binary MCMC (BBM) η οποία είναι διαθέσιμη στο πρόγραμμα RASP (Yu *et al.*, 2010)]. Οι εκτιμήσεις έγιναν βάσει του δέντρου που προέκυψε από την ανάλυση της χρονολόγησης. Με τη βοήθεια των δύο φυλογενετικών βιβλιοθηκών της R, «geiger» (Harmon *et al.*, 2008) και «ape» (Paradis *et al.*, 2004) που είναι διαθέσιμες στη γλώσσα προγραμματισμού R, αφαιρέθηκαν τα τάξα που

χρησιμοποιήθηκαν ως παραομάδες, εκτός από το συγγενέστερο (*Eremias*) πριν την πραγματοποίηση της ανάλυσης.

Η Αφρική και η Αραβία/Ασία ορίστηκαν ως οι δύο βασικές περιοχές κατανομής. Διεξήχθησαν δύο ανεξάρτητοι υπολογισμοί με δέκα αλυσίδες ο κάθε ένας. Η εκτιμώμενη προγονική κατανομή αποθηκευόταν κάθε 100 γενεές. Το μοντέλο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το Fixed JC + G (Jukes-Cantor + Gamma), ενώ ορίστηκε και η κατανομή της παραομάδας.

2.3. Αποτελέσματα

2.3.1. Στοίχιση αλληλουχιών - καταλληλότερο Μοντέλο Νουκλεοτιδικής Υποκατάστασης

Οι στοιχισμένες θέσεις για τις μιτοχονδιακές αλληλουχίες ήταν 1.051, από τις οποίες 590 αντιστοιχούν στο 16S και 461 στο *cyt b*. Για το σύνολο των αλληλουχιών του γένους βρέθηκαν 386 ποικιλόμορφες θέσεις, οι οποίες αυξήθηκαν σε 441 όταν συμπεριλήφθηκαν και οι παρα-ομάδες. Για τα 64 δείγματα που αλληλουχήθηκαν για το πυρηνικό γονίδιο ανακτήθηκαν 957 ομόλογες θέσεις. Από αυτές 186 και 277 ήταν πολυμορφικές για την ενδοομάδα (*Mesalina*) και το σύνολο της ενδοομάδας και των παραομάδων, αντίστοιχα. Αξίζει να σημειωθεί ότι στη στοίχιση του πυρηνικού γονιδίου εμφανίστηκαν πολλές περιοχές διαγραφής/εισαγωγής νουκλεοτιδίων, το μέγεθος των οποίων κυμαίνονταν από ένα έως 93 νουκλεοτίδια (μεταξύ της *M. watsonana* και των υπολοίπων αλληλουχιών).

Το καταλληλότερο μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης που επιλέχθηκε ήταν το GTR + G για το *cyt b* και για το 16S rRNA, ενώ για το πυρηνικό γονίδιο επιλέχθηκε το HKY + G.

2.3.2. Φυλογενετικά δέντρα

2.3.2.1. Μιτοχονδριακά γονίδια

Η Μπεϋζιανή συμπερασματολογία πραγματοποιήθηκε υπό το μοντέλο GTR +G και για τα δύο γονίδια, όπως υποδείχθηκε από το jModeltest. Τρεις από τις παραμέτρους που εκτιμήθηκαν από την ανάλυση [shape parameter (*alpha*), relative partition rates (*m*) and tree length (TL)] δεν σταθεροποιήθηκαν («*reach stationarity*»). Οι δύο πρώτες παράμετροι (*alpha* και *m*) παρουσίασαν δικόρυφη εκ των υστέρων κατανομή («*posterior distribution*»), για τρεις από τις τέσσερις ανεξάρτητες διεξαγωγές της ανάλυσης, ενώ το μήκος του δέντρου ήταν αναπάντεχα μεγάλο και για τις τέσσερις αναλύσεις. Το φαινόμενο αυτό, δηλαδή η συσχέτιση μεγάλου μήκους δέντρων με απροσδόκητες τιμές για τις παραμέτρους *m* και *alpha* έχει παρατηρηθεί τόσο σε πραγματικά όσο και σε προσομοιωμένα δεδομένα με την χρήση της BI (Brown *et al.*, 2010; Marshall, 2010). Στη συγκεκριμένη περίπτωση η τιμή TL που εκτιμήθηκε από την BI ήταν κατά προσέγγιση μία τάξη μεγέθους μεγαλύτερη από εκείνη που εκτιμήθηκε από την ανάλυση της ML. Παρόλα αυτά, όπως και σε προηγούμενες περιπτώσεις (Marshall, 2010), δεν υπήρξε κάποια παρατηρήσιμη επιρροή του φαινομένου στην εκτιμώμενη τοπολογία.

Για να διαπιστωθεί εάν οι απότομες αλλαγές των παραμέτρων *alpha* και *m* συσχετίζονται με κάποια τοπολογική διαφορά, απομονώθηκαν τοπολογίες από τις δύο ακραίες τιμές του *m* και συγκρίθηκαν με το μάτι. Οι τοπολογικές διαφορές που παρατηρήθηκαν φαίνεται να είναι τυχαίες σε σχέση με τις αυξομειώσεις του *m* και του *alpha* (αντίστοιχες τοπολογικές διαφορές παρατηρήθηκαν και σε σημεία που δεν παρατηρούνταν η αντίστοιχη συμπεριφορά). Το δέντρο BI ήταν σύμφωνο με το δέντρο που εκτιμήθηκε από την ML (Εικόνα 2.3). Η τοπολογική ποικιλότητα που αξιολογήθηκε σύμφωνα με τις αποστάσεις RF βρέθηκε να είναι σχετικά χαμηλή (0,09).

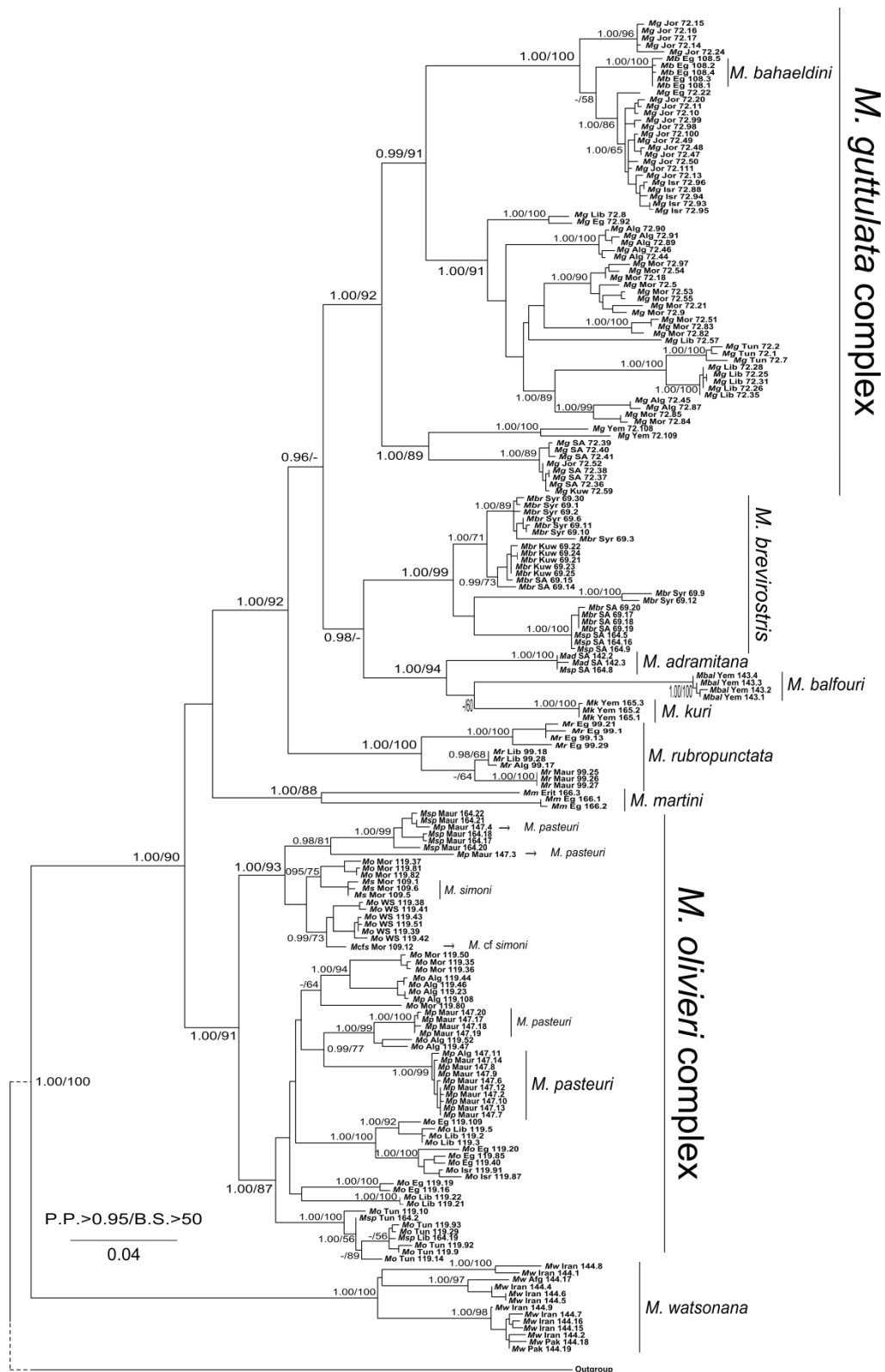
Στην Εικόνα 2.3. παρουσιάζεται η τοπολογία που προέκυψε από το δέντρο ML. Η μονοφυλία του γένους, σύμφωνα με τη διαθέσιμη δειγματοληψία, στηρίχθηκε και από τις δύο αναλύσεις με καλή στατιστική υποστήριξη (1.00 p.p./90 b.s.⁸). Συνολικά ανακτήθηκαν τέσσερις κύριοι κλάδοι οι οποίοι αντιστοιχούν είτε σε είδη

⁸ Στη συνέχεια του κειμένου οι εκ των υστέρων πιθανότητες της ανάλυσης BI θα αναφέρονται ως «p.p.» (posterior probability) ενώ η στατιστική υποστήριξη της ανάλυσης ML θα αναφέρεται ως b.s. (bootstrap support).

Κεφάλαιο 2^ο : Ιστορική βιογεωγραφία του γένους *Mesalina*

είτε σε συμπλέγματα ειδών του γένους. Ο πρώτος κλάδος αντιστοιχεί στους πληθυσμούς του είδους *M. watsonana* οι οποίοι καλύπτουν το ανατολικότερο κομμάτι της κατανομής του γένους. Τόσο η BI όσο και η ML δεν κατάφεραν να επιλύσουν την επόμενη διχοτόμηση του δέντρου, με αποτέλεσμα να παρατηρείται πολυτομία μεταξύ των υπολοίπων βασικών κλάδων: 1) *M. martini*, 2) σύμπλεγμα ειδών *M. guttulata* (δηλαδή, *M. guttulata* και *M. bahaeldini*) με τα συγγενικά της είδη (*M. kuri*, *M. balfouri*, *M. adramitana* και *M. rubropunctata*) και 3) το σύμπλεγμα ειδών *M. olivieri* (*M. olivieri*, *M. simoni* και *M. pasteuri*).

Κεφάλαιο 2^ο : Ιστορική βιογεωγραφία του γένους *Mesalina*



Εικόνα 2.2.: Οι φυλογενετικές σχέσεις μεταξύ των 12 υπό εξέταση ειδών σύμφωνα με την τοπολογία που προέκυψε από την ανάλυση Μέγιστης Πιθανοφάνειας για τα μιτοχονδριακά γονίδια. Οι αριθμοί στους κλάδους αντιστοιχούν στις εκ των υστέρων πιθανότητες υποστήριξης των κλάδων της BI (παρουσιάζονται μόνο οι τιμές >0.95) ακολουθούμενες από τις τιμές bootstrap για τη ML (μόνο οι τιμές μεγαλύτερες από 50% παρουσιάζονται για 1.000 επαναλήψεις). Τα είδη *Gallotia galloti* *G. stehlini*, *G. simonyi*, *Eremias velox* και *E. brenchleyi* χρησιμοποιήθηκαν ως παραομάδα.

2.3.2.2. Πυρηνικό γονίδιο

Η BI και η ML κατέληξαν σε παρόμοιες τοπολογίες, οι οποίες είναι ως ένα βαθμό σύμφωνες με τη μιτοχονδριακή τοπολογία (Εικόνα 2.4). Ανακτήθηκαν τρεις κύριοι κλάδοι που αντιστοιχούν σε τρεις κύριες ομάδες του γένους 1) *M. watsonana*, 2) σύμπλεγμα ειδών *M. guttulata* και τα συγγενικά είδη (*M. rubropunctata*, *M. brevirostris*, *M. kuri*, *M. balfouri* και *M. adramitana*) και 3) σύμπλεγμα ειδών *M. olivieri*, συμπεριλαμβανομένου της *M. martini* της οποίας η θέση δεν είχε επιλυθεί βάσει του μιτοχονδριακού συνόλου δεδομένων.

2.3.3. Εκτίμηση χρόνων απόσχισης

Οι ανεξάρτητα εξελισσόμενες μιτοχονδριακές γραμμές που αναγνωρίστηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο «single threshold» ($\log L_{\text{null}}=84.43596$, $\log L_{\text{GMYC}}=93,42465$, $p=0,0004$) και «multiple threshold» ($\log L_{\text{GMYC}}=97,93994$, $p=0,0001$) βάσει του μοντέλου GMYC ήταν 73 και 74 αντίστοιχα. Δεδομένου ότι καμία από τις δύο μεθόδους δεν έδωσε στατιστικά σημαντικότερο αποτέλεσμα, για τη συνέχεια της ανάλυσης υιοθετήθηκε το αποτέλεσμα της μεθόδου «single threshold», το οποίο έχει φανεί σε προσομοιώσεις ότι υπερέχει σε σχέση με τη μέθοδο «multiple threshold» (Fujisawa & Barraclough, 2013). Το αποτέλεσμα της μεθόδου παρουσιάζεται στο Παράρτημα II.

Οι τρεις ανεξάρτητες αναλύσεις για το μιτοχονδριακό σύνολο δεδομένων, με το πρόγραμμα Beast παρήγαγαν παρόμοια τοπολογία η οποία παρουσιάζεται στην Εικόνα 2.5. Με τη βοήθεια του προγράμματος Tracer διαπιστώθηκε ότι και οι τρεις αναλύσεις συνέκλιναν προς την ίδια εκτίμηση για όλες τις παραμέτρους με καλή δειγματοληψία του χώρου των πιθανοτήτων ($ESS > 200$ για όλες τις παραμέτρους). Όπως φαίνεται στην Εικόνα 2.5. και στον Πίνακα 2.3. οι τρεις διαφορετικές στρατηγικές βαθμονόμησης απέδωσαν παρόμοιους χρόνους απόσχισης για τους κύριους κλάδους του γένους. Σύμφωνα με τις εκτιμήσεις αυτές η καταγωγή του γένους χρονολογείται στις αρχές του Μειόκαινου (~22 εκ. χρ. πριν) με την απόσχιση της *M. watsonana* από τα υπόλοιπα είδη του γένους. Οι επακόλουθοι διαχωρισμοί του

Κεφάλαιο 2^ο : Ιστορική βιογεωγραφία του γένους *Mesalina*

γένους που οδήγησαν στα είδη (ή συμπλέγματα ειδών) που αναγνωρίζουμε σήμερα χρονολογούνται στο μέσο με ανώτερο Μειόκαινο.

Πίνακας 2.3.: Εκτιμώμενοι χρόνοι απόσχισης σε εκατομμύρια χρόνια πριν και τα αντίστοιχα διαστήματα εμπιστοσύνης για τις εξωομάδες καθώς και για τους βασικούς κλάδους της *Mesalina* (A-G) (παρουσιάζονται στην Εικόνα 2.4.). Με έντονους χαρακτήρες παρουσιάζονται τα σημεία βαθμονόμησης που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε μέθοδο βαθμονόμησης (1^η, 2^η και 3^η).

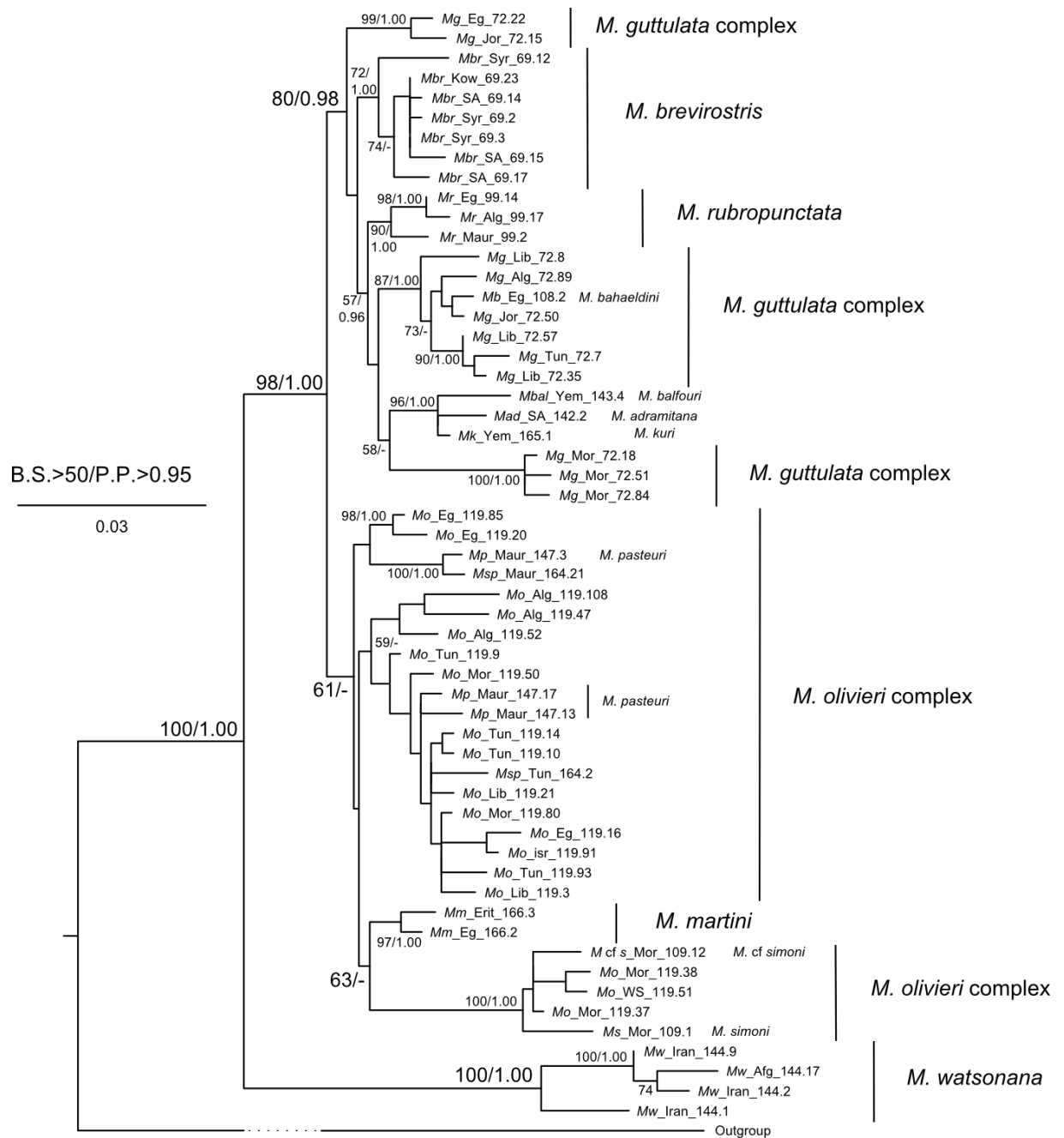
Τάξο/Κλάδος	1 ^η μέθοδος Βαθμονόμησης	2 ^η μέθοδος Βαθμονόμησης	3 ^η μέθοδος Βαθμονόμησης
Lacertidae	37 (16,78, 47,41)	39,2 (14,29, 49,34)	39 (17,74, 47,92)
Gallotinae	¹(17,5 ,19,66)	16,3 (6,49, 23,91)	¹(17,5 ,19,66)
Eremiadini	32,1 (9,74, 42,94)	34 (12,21, 45,43)	33,9 (11,26, 43,30)
<i>Gallotia</i>	¹(10,72, 12,61)	12,6 (5,15, 23,91)	¹(10,72, 12,61)
<i>G. galloti /G. Caesaris</i>	¹(3,14, 3,74)	3,7 (1,37, 5,93)	¹(3,14, 3,74)
<i>P. cretensis/P. peloponnesiacus</i>	4,1 (1,21, 6,22)	²(5, 5,5)	²(5, 5,5)
<i>P. hispanicus I/P. bocagei</i>	4,3 (0,96, 6,24)	³(5,17, 6,05)	³(5,17, 6,05)
<i>P. hispanicus II/P. carbonelli</i>	6 (1,74, 8,72)	³(3,81, 6,19)	³(3,81, 6,19)
A	21,64 (6,34, 29,38)	23,22 (8,13, 31,43)	22,97 (7,17, 29,73)
B	16,14 (6,29, 21,42)	17,37 (8,37, 23,35)	17,13 (7,52, 21,61)
C	13,28 (5,15, 17,61)	14,35 (7,86, 19,19)	14,13 (6,60, 17,99)
D	12,4 (5,42, 16,43)	13,41 (8,33, 17,91)	13,2 (8,06, 16,98)
E	10,4 (3,83, 14,03)	11,3 (5,38, 15,04)	11,1 (4,88, 14,21)
F	10,66 (4,81, 14,56)	11,51 (7,28, 15,73)	11,3 (7,10, 15,05)
G	8,3 (3,04, 11,17)	8,94 (4,51, 12,21)	8,78 (4,27, 11,76)

¹Cox *et al.* (2010), 2010, ²Poulakakis *et al.* (2003), ³Kaliontzopoulou *et al.* (2011)

2.3.4. Εκτίμηση προγονικών κατανομών

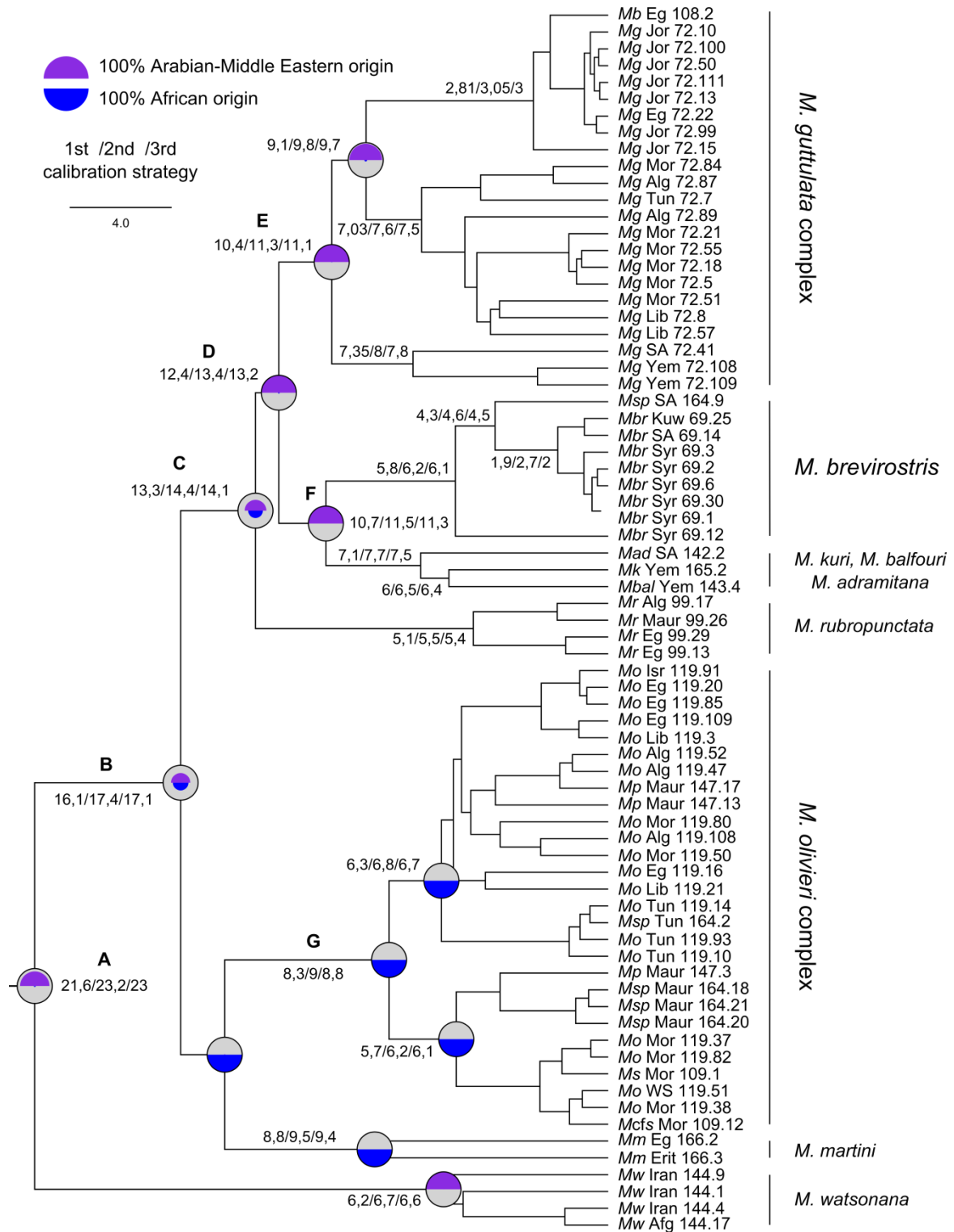
Τα αποτελέσματα της ανάλυσης BBM για τους κύριους κλάδους του δέντρου παρουσιάζονται στην Εικόνα 2.5. Οι δύο ανεξάρτητες εκτελέσεις της ανάλυσης οδήγησαν σε πανομοιότυπα αποτελέσματα (η απόσταση μεταξύ τους ήταν 0.0003). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα η καταγωγή του γένους τοποθετείται κάπου στην Αραβία – Μέση Ανατολή. Στην ίδια περιοχή τοποθετείται και η καταγωγή των περισσότερων ειδών του γένους με εξαίρεση τα είδη του συμπλέγματος *M. olivieri* που φαίνεται να είναι Αφρικανικής καταγωγής.

Κεφάλαιο 2^ο : Ιστορική βιογεωγραφία του γένους *Mesalina*



Εικόνα 2.3.: Οι φυλογενετικές σχέσεις μεταξύ των 12 υπό εξέταση ειδών σύμφωνα με την τοπολογία που προέκυψε από την ανάλυση Μέγιστης Πιθανοφάνειας για το πυρηνικό γονίδιο. Οι αριθμοί στους κλάδους αντιστοιχούν στις εκ των υστέρων πιθανότητες υποστήριξης των κλάδων της BI (παρουσιάζονται μόνο οι τιμές >0.95) ακολουθούμενες από τις τιμές bootstrap για την ML (μόνο οι τιμές μεγαλύτερες από 50% παρουσιάζονται για 1.000 επαναλήψεις). Τα είδη *G. galloti*, *G. stehlini*, *G. simonyi*, και *Eremias sp.* χρησιμοποιήθηκαν ως παραομάδα.

Κεφάλαιο 2^ο : Ιστορική βιογεωγραφία του γένους *Mesalina*



Εικόνα 2.4.: Βαθμονομημένη φυλογένεση σύμφωνα με το πρόγραμμα BEAST, βάσει των μιτοχονδριακών γονιδίων. Οι αριθμοί στους κλάδους αντιστοιχούν στον διάμεσο εκτιμώμενο χρόνο (εκατομμύρια χρόνια πριν) διάσπασης με την 1^η, 2^η and 3^η στρατηγική βαθμονόμησης. Στους κυρίως κλάδους της φυλογένεσης δίνονται οι εκτιμώμενες προγονικές κατανομές (το μέγεθος του άνω ημικυκλίου είναι ανάλογο με την πιθανότητα η προγονική κατανομή να είναι στην Αραβία/Μέση Ανατολή ενώ το κάτω είναι ανάλογο με την πιθανότητα να είναι στην Αφρική).

2.4. Συζήτηση

Συνολικά το γένος παρουσίασε υψηλή γενετική διαφοροποίηση και πολύπλοκα φυλογενετικά πρότυπα (πάρα/πολυ-φυλίες) τόσο για τα μιτοχονδριακά όσο και για τα πυρηνικά γονίδια (Εικόνες 2.3 και 2.4). Με τα δεδομένα αυτά αλλάζει σημαντικά η εικόνα μας για τη συστηματική και την γενετική ποικιλότητά του. Ωστόσο το θέμα αυτό θα αποτελέσει το αντικείμενο συζήτησης του επόμενου κεφαλαίου. Η ανεπαρκής επίλυση των φυλογενετικών σχέσεων σύμφωνα με το πυρηνικό γονίδιο σε αντίθεση με τα μιτοχονδριακά, μπορεί να αποδοθεί σε δύο πιθανούς παράγοντες: α) στη μειωμένη φυλογενετική πληροφορία και συνεπώς την ανεπαρκή επίλυση των φυλογενετικών σχέσεων είτε β) στο φαινόμενο της ατελούς διαλογής γενεαλογικών γραμμών («*incomplete lineage sorting*»), δεδομένου ότι απαιτείται περισσότερος χρόνος για τα πυρηνικά γονίδια να φτάσουν σε μονοφυλία (Moore, 1995). Ο ίδιος πυρηνικός τύπος έχει παρουσιάσει αντίστοιχη εικόνα και στη μελέτη άλλων ειδών της οικογένειας Lacertidae (Pinho et al., 2008; Fonseca et al., 2009).

Σύμφωνα με την εκτίμηση των χρόνων απόσχισης η αρχική διαφοροποίηση της *Mesalina* συνέβη κατά τις αρχές του Μειόκαινου (~22 εκ. χρ. πριν), περίπου 6 εκ. χρ. νωρίτερα από προηγούμενες εκτιμήσεις (Karpli et al., 2008; Šmid & Frynta, 2012) και ~2 εκ. χρ. πριν από τον σχηματισμό της γέφυρας ξηράς «*Gomphotherium*». Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες χρονολόγησης μοριακών φυλογενέσεων της οικογένειας Lacertidae, η γέφυρα «*Gomphotherium*» έχει συνδεθεί με τη διάσπαση της υποοικογένειας Lacertinae με την εισβολή τους στην Αραβική Χερσόνησο και την εξέλιξη των Eremiadini⁹ (Arnold et al., 2007; Pavlicev & Mayer, 2009). Ωστόσο υπάρχουν και εκτιμήσεις που τοποθετούν την ίδια διάσπαση πολύ νωρίτερα (58-56 εκ. χρ. πριν, Hipsley et al., 2009). Η εκτίμηση της αρχικής διάσπασης της οικογένειας Lacertidae στην παρούσα μελέτη, προηγείται οποιασδήποτε σύνδεσης της Αραβικής Χερσονήσου με την Ευρασία ωστόσο είναι ενδιάμεση από τις δύο προηγούμενες υποθέσεις.

⁹ Η οικογένεια Laceridae διαιρείται στις δύο υποοικογένειες Lacertinae και Gallotinae, ενώ η πρώτη διαιρείται περαιτέρω στα δύο tribe Lacertini και Eremiadini. Η *Mesalina* είναι ένα από τα γένη του tribe Eremiadini

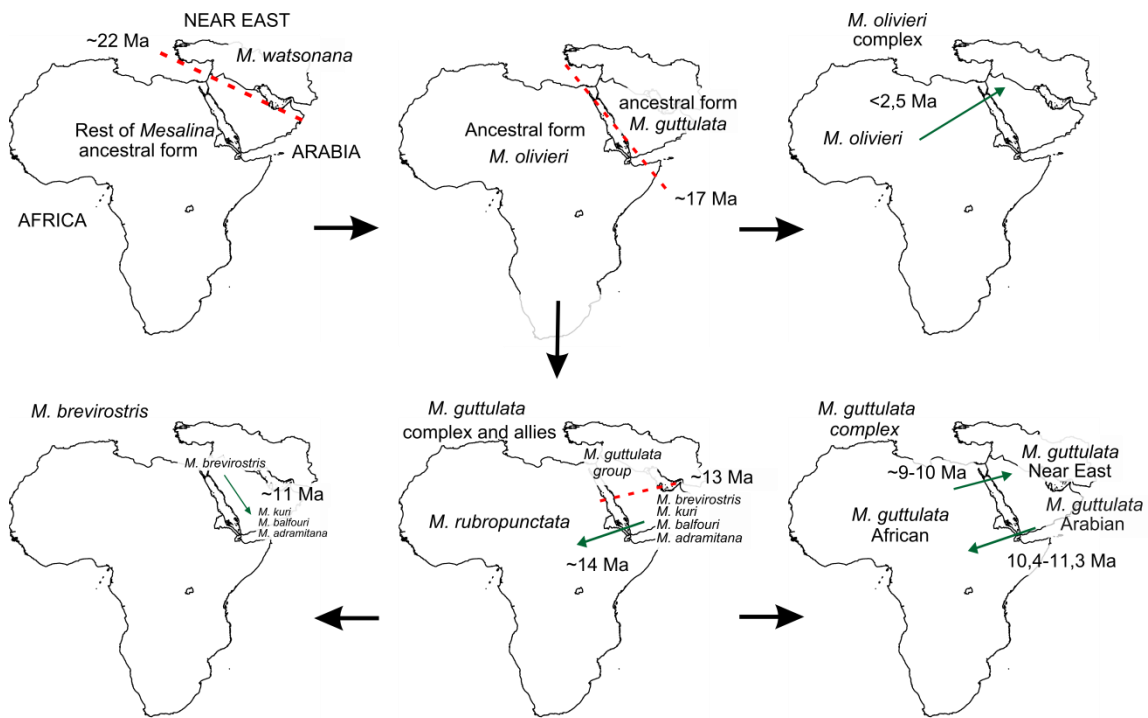
2.4.1. Γένος *Mesalina*

Οι εκτιμώμενοι χρόνοι διάσπασης και κατά συνέπεια το φυλογεωγραφικό σενάριο που προτείνεται στην παρούσα μελέτη, διαφέρει σημαντικά από τις προηγούμενες προσεγγίσεις (Karli et al., 2008; Šmíd & Frynta, 2012). Η απόκλιση που παρατηρείται μπορεί να αποδοθεί στην έλλειψη σημαντικού αριθμού ειδών και γεωγραφικών περιοχών στις προηγούμενες μελέτες. Μια απλοποιημένη εικονοποίηση του προτεινόμενου φυλογεωγραφικού σεναρίου παρουσιάζεται στην Εικόνα 2.5. Πριν από τον σχηματισμό της πρώτης κύριας γέφυρας ξηράς μεταξύ Ευρασίας και Αραβίας («*Gomphotherium* land-bridge») έχουν καταγραφεί μεταναστεύσεις θηλαστικών από την Αφρική στην Ευρασία που αποδόθηκαν σε βραχύβιες συνδέσεις ξηράς μεταξύ των δύο πλακών (Harzhauser et al., 2007). Η πρώτη διάσπαση του γένους συμπίπτει με την περίοδο αυτή, ενώ εκτιμάται ότι κατανέμονταν κάπου στη Μέση Ανατολή (Εικόνα 2.4). Τα στοιχεία αυτά συνάδουν με την πιθανότητα οι πληθυσμοί να επηρεάστηκαν από αυτές τις πρώτες γέφυρες ξηράς. Κάποιοι πληθυσμοί του γένους ενδεχομένως παρέμειναν στην Ευρασία και οδήγησαν στο σύγχρονο είδος *M. watsonana*, ενώ κάποιοι άλλοι εξαπλώθηκαν στην Αραβία οδηγώντας στα υπόλοιπα είδη του γένους. Η επακόλουθη ανύψωση της οροσειράς της Ζάγκρου (Agard et al., 2011) καθώς και τα ισχυρά τεκτονικά γεγονότα που έλαβαν χώρα στη ζώνη σύγκρουσης των δύο πλακών (Poron et al., 2004), πιθανότατα οδήγησαν στην τελική απομόνωση των δύο γενεαλογικών γραμμών. Παρόμοια υπόθεση έχει διατυπωθεί και για το είδος *Echis carinatus*, το οποίο απομονώθηκε στην Ασία ~20 εκ. χρ. πριν (Pook et al., 2009).

Η ασαφής θέση του κλάδου της *M. martini*, δυσκολεύει την ερμηνεία της δεύτερης μεγάλης διάσπασης του γένους που εκτιμάται στα ~16-17 εκ. χρ. πριν. Κατά την περίοδο αυτή η Αραβική πλάκα υπέστη σημαντική ανύψωση (Poron et al., 2004; Autin et al., 2009), ενώ ταυτόχρονα συμβαίνει μια από τις σημαντικότερες κλιματικές αλλαγές του Μειόκαινου (Zachos et al., 2001). Η δραστική κλιματική αλλαγή έγκειται στη σημαντική πτώση της θερμοκρασίας που ακολούθησε μετά το «Mid-Miocene Climatic Optimum» κατά το οποίο καταγράφονται οι υψηλότερες θερμοκρασίες του Μειοκαινού. Ο συνδυασμός των κλιματικών και τεκτονικών συμβάντων πιθανόν αποτελεί την κινητήρια δύναμη για τη δεύτερη διάσπαση του γένους. Κατά την περίοδο αυτή ένας κλάδος εξαπλώθηκε στην Αφρικανική ήπειρο

Κεφάλαιο 2^ο : Ιστορική βιογεωγραφία του γένους *Mesalina*

οδηγώντας στο σημερινό σύμπλεγμα ειδών της *M. olivieri*, ενώ ο συγγενικός της κλάδος (προγονικός της *M. guttulata* και των συγγενικών της ειδών) παρέμεινε στην Αραβία. Την ίδια περίοδο [17,4 (Pook et al., 2009), 16,4 (Wüster et al., 2007)] έχει εκτιμηθεί η απομόνωση των Αφρικανικών



Εικόνα 2.5.: Υποθετικό φυλογεωγραφικό σενάριο για την εξάπλωση των ειδών του γένους *Mesalina*, βάσει των δεδομένων που προέκυψαν στην παρούσα μελέτη.

από τα Ασιατικά είδη του γένους *Naja* (κόμπρα). Αν και οι λόγοι της απομόνωσής τους δεν έχουν διευκρινιστεί, θα μπορούσε να είναι παρόμοιοι με αυτούς που προτείνονται για την περίπτωση της *Mesalina*.

Η θέση του κλάδου της *M. martini* δεν έχει επιλυθεί. Λαμβάνοντας ωστόσο υπόψη τόσο την μέχρι τώρα γνώση μας στους μορφολογικούς χαρακτήρες (Arnold, 1986a; Arnold, 1986b) όσο και την τοπολογία του πυρηνικού γονιδίου, η πιθανότερη υπόθεση είναι ότι είναι συγγενικό του κλάδου της *M. olivieri*. Σύμφωνα με την υπόθεση αυτή οι προγονικοί πληθυσμοί του κλάδου *M. martini* - *M. olivieri* διασπάστηκαν στην Αφρική, ενώ η *M. martini* αργότερα εποίκησε την Αραβία μέσω γεφυρών ξηράς που δημιουργήθηκαν μεταξύ των δύο πλακών (Jones, 1999).

Στην πολύπλοκη παλαιογεωγραφία της Αραβικής Χερσονήσου έχουν αποδοθεί οι διασπάσεις πολλών ερπετών (Εικόνα 2.6) κατά το κατώτερο και μέσο Μειόκαινο (Amer & Kumazawa, 2005; Pook et al., 2009; Metallinou et al., 2012) Στην περίπτωση του γένους *Echis* (Pook et al., 2009) και του *Stenodactylus* (Metallinou et al., 2012) η εκτίμηση των ανάλογων συμβάντων τοποθετείται νωρίτερα (19,4 και 21,8 εκ. χρ. πριν αντίστοιχα). Οι εκτιμήσεις αυτές αποδόθηκαν στην έντονη ηφαιστειακή δραστηριότητα κατά μήκος της Ερυθράς Θάλασσας (~24 εκ. χρ. πριν) καθώς και τη διάνοιξη του ρήγματος (~20 εκ. χρ. πριν) λίγο αργότερα (Bosworth et al., 2005). Η διαφοροποίηση των Αφρικανικών από τους Αραβικούς πληθυσμούς του γένους *Uromastix* εκτιμάται πολύ αργότερα, κατά το μέσο Μειόκαινο (11-15 εκ. χρ. πριν). Σε αντίθεση με τις προηγούμενες περιπτώσεις που αποδόθηκαν σε βικαριανιστικά γεγονότα, ο διαχωρισμός των Αραβικών από τους Αφρικανικούς πληθυσμούς του *Uromastix* αποδόθηκε σε διασπορά λόγω κλιματικών αλλαγών (Amer & Kumazawa, 2005). Ωστόσο, η εγκυρότητα της εκτίμησης αυτής έχει αμφισβητηθεί από άλλους ερευνητές (Metallinou et al., 2012).

Συνολικά η δημιουργία της Ερυθράς Θάλασσας όπως αναλύθηκε νωρίτερα (βλ. Εισαγωγή), είναι μια δυναμική διαδικασία με έντονα ηφαιστειακά φαινόμενα να εκτυλίσσονται από το ανώτερο Ολιγόκαινο μέχρι και την έναρξη της διάνοιξής της κατά το Βουρδιγάλιο (Poron et al., 2004). Κατά συνέπεια είναι αναμενόμενο να παρατηρούνται πολλαπλά βικαριανιστικά φαινόμενα σε διαφορετικές χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας.

2.4.1.1. *Mesalina guttulata* και συγγενικά τάξα – Αραβικός κλάδος

Η εξέλιξη του Αραβικού κλάδου μπορεί να αποδοθεί σε διαδοχικά γεγονότα βικαριανισμού και διασποράς, οριζόμενα κατά κύριο λόγο από την κίνηση της Αραβικής Χερσονήσου. Η πρώτη διάσπαση του κλάδου συμπίπτει χρονικά με τη δημιουργία γεφυρών ξηράς κατά το Κατώτερο με Μέσο Σεραβάλλιο (~12-13 Mya) (Jones, 1999 και αναφορές εκεί) μεταξύ της Αφρικής και της Αραβικής Χερσονήσου. Η μετακίνηση πληθυσμών στην Αφρική και η επακόλουθη διακοπή της επικοινωνίας μεταξύ των δύο περιοχών θα μπορούσε να εξηγήσει το παρατηρούμενο πρότυπο που οδήγησε στην εξέλιξη των πληθυσμών της *M. rubropunctata* στην Αφρική. Η

σημαντική πτώση της θερμοκρασίας μετά το «Mid-Miocene Climatic Optimum» (14,1-14,8 εκ. χρ. πριν) οδήγησε σε αύξηση της ξηρασίας σε μέσα γεωγραφικά πλάτη (Flower & Kennett, 1994), γεγονός που μπορεί να επηρέασε επιπλέον τη διασπορά των προγονικών πληθυσμών της *M. rubropunctata*. Η σχεδόν ταυτόχρονη απομόνωση μεταξύ πληθυσμών (*M. guttulata* από τα υπόλοιπα αραβικά είδη) εντός της Αραβικής Χερσονήσου μπορεί να οφείλεται στην ίδια κλιματική αλλαγή, οδηγώντας τους πληθυσμούς σε διαφορετικά καταφύγια και κατά συνέπεια σε αλλοπάτρια ειδογένεση.

Η περαιτέρω διάσπαση των πληθυσμών της *M. guttulata* και η σημερινή της κατανομή στη Μέση Ανατολή και τη Β. Αφρική μπορεί να αποδοθεί σε δύο διαδοχικά επεισόδια διασποράς. Κατά το ανώτερο Σεραβάλλιο με Τορτόνιο (~11-9 εκ. χρ. πριν) δύο γέφυρες ξηράς θεωρείται ότι δημιουργήθηκαν μεταξύ της Αραβίας και της Αφρικής, μία στην περιοχή του Σινά και μία στα στενά του «Bad-el-Mandeb» (Jones, 1999). Υποθέτοντας ότι ο αρχικά το είδος βρισκόταν στην Αραβική Χερσονήσο εισέβαλε στην Αφρική μέσω των γεφυρών ξηράς ~11 εκ. χρ. πριν, πιθανότατα από τα στενά του «Bad-el-Mandeb». Οι Αφρικανικοί πληθυσμοί είναι πιο συγγενικοί με τους πληθυσμούς της Β. Αραβικής Χερσονήσου, γεγονός που υποδεικνύει την δευτερογενή εισβολή του είδους από την περιοχή του Σινά. Σύμφωνα με την υπόθεση αυτή η επακόλουθη διάνοιξη των στενών του «Bad-el-Mandeb» στο νότο και αργότερα η δημιουργία του Νείλου στο Βορρά (Goudie, 2005) απέκοψαν την επικοινωνία των αντίστοιχων πληθυσμών. Οι μετακινήσεις των πληθυσμών της *M. guttulata*, καθώς και η διάσπαση των πληθυσμών της *M. brevirostris* από τα συγγενικά της είδη (*M. kuri*, *M. balfouri* and *M. adramitana*) ενδεχομένως επιτάθηκαν από κλιματικές διακυμάνσεις που έχουν καταγραφεί την ίδια περίοδο και έχουν συνδεθεί και με εκτεταμένες διασπορές θηλαστικών (Elewa, 2005). Η δεύτερη διάσπαση εντός του είδους *M. brevirostris* συμπίπτει με τη διάσπαση και άλλων ερπετών στην περιοχή (Kornilios et al., 2011) που έχουν επίσης αποδοθεί σε κλιματικές αλλαγές προς πιο ερημικές συνθήκες (Eronen et al., 2009).

Περαιτέρω διάσπαση των πληθυσμών της *M. guttulata* στη Βόρεια Αφρική (*M. bahaeldini* και οι δύο πληθυσμοί της *M. guttulata* που απαντώνται στην Ιορδανία) πιθανώς να οφείλονται σε βικαριανιστικά συμβάντα λόγω της διάνοιξης του ρήγματος του Suez, της Νεκράς θάλασσας καθώς και του Wādī ‘Araba. Το τελευταίο βρίσκεται κατά μήκος του ρήγματος στην ένωση της Αφρικής με την Αραβία και έχει σημειωθεί

ότι λόγω των ακραίων ερημικών συνθηκών παίζει ρυθμιστικό ρόλο στην μετακίνηση της πανίδας από την Αφρική στην Αραβία και αντίστροφα (Arnold, 1987; Disi et al., 2001). Η ερημοποίηση κατά το μέσο Πλειόκαινο (~ 3,2 – 2,6 Ma) (DeMenocal, 2004) πιθανότατα επιδείνωσε τις συνθήκες στο Wādī ‘Araba καθιστώντας την εποίκισή του αδύνατη. Υποθέτοντας ότι πληθυσμοί της *M. guttulata* βρίσκονταν στην περιοχή από πριν, πιθανώς οι επερχόμενες ακραίες συνθήκες να διαχώρισαν τους πληθυσμούς ανατολικά και δυτικά του ρήγματος. Η *M. brevirostris* και η *M. rubropunctata* αδυνατούν να το διασχίσουν προς τη Δύση και προς την Ανατολή αντίστοιχα (Arnold, 1987), γεγονός που υποδηλώνει ότι έφτασαν στην περιοχή μετά την ερημοποίηση του Wādī ‘Araba. Η *M. olivieri* βρίσκεται και από τις δύο πλευρές (Disi et al., 2001), παραμένει ωστόσο ασαφές εάν οι πληθυσμοί υπέστησαν βικαριανισμό όπως στην περίπτωση της *M. guttulata* ή όχι.

2.4.1.2. Συμπλεγμα ειδών *Mesalina olivieri* – Αφρικανικός κλάδος

Το σύμπλεγμα της *M. olivieri* σχηματίζει δύο καλά υποστηριζόμενους κλάδους. Ο ένας εξαπλώνεται στο Δυτικό Maghreb (Μαρόκο, Δυτική Σαχάρα και Μαυριτανία) ενώ ο άλλος εκτείνεται από το Maghreb μέχρι και την Μέση Ανατολή. Οι δύο κλάδοι συναντιούνται στην Μαυριτανία [παρουσιάζοντας παρόμοιο πρότυπο εξάπλωσης με τα είδη του γένους *Agama*, τρεις από τους κύριους κλάδους του οποίου απαντώνται στη Μαυριτανία (Gonçalves et al., 2012)] και στο Μαρόκο. Το πρότυπο αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί στο γεγονός ότι οι ορεινές περιοχές στη Βόρεια Αφρική έχουν υπάρξει καταφύγια κατά τη διάρκεια έντονων κλιματικών αλλαγών (Schleich et al., 1996; Brito et al., 2013).

Η κύρια διάσπαση του συμπλέγματος εκτιμάται στα ~8 εκ. χρ. πριν. Στον ίδιο χρόνο εκτιμάται η απομόνωση του *Agama tassilensis* από τα *A. boueti* και του *A. impalearis* (8.15 Mya) (Gonçalves et al., 2012) στην περιοχή. Τα δύο γεγονότα συμπίπτουν με τη χλωριδική μετάβαση από C₃ (υγρόφιλα) σε C₄¹⁰ (ξηρικά) φυτά η οποία εκτιμάται στα ~ 7.8 εκ. χρ. πριν (Cerling et al., 1997; Zachos et al., 2001). Κατά το μέσο Μειόκαινο προκύπτει η διάσπαση και άλλων ερπετών (π.χ.

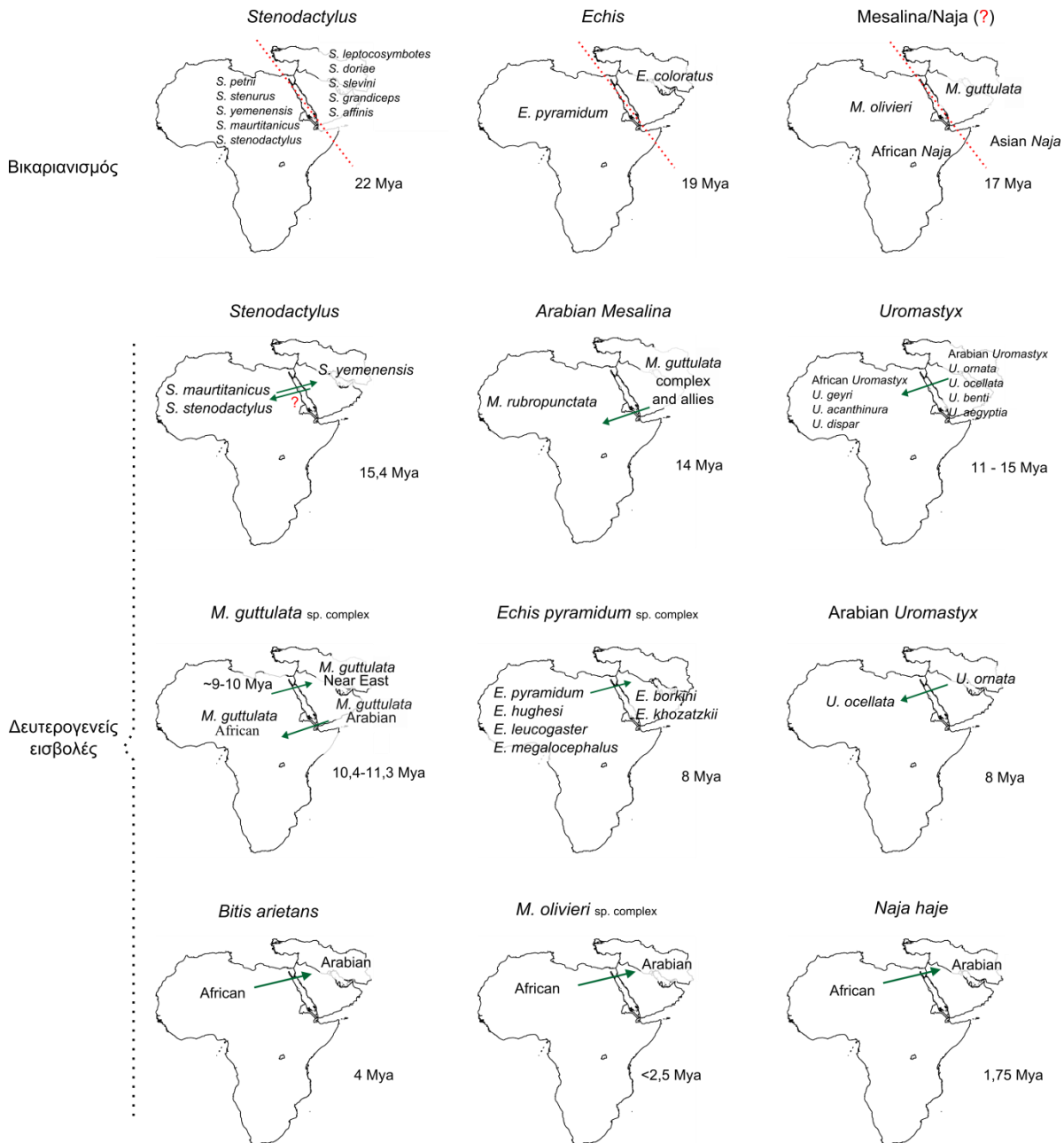
¹⁰ Οι χαρακτηρισμοί C₃ και C₄ αναφέρονται σε διαφορετικές στρατηγικές φωτοσύνθεσης. Τα C₄ φυτά, αποτελούν την μειονότητα των φυτών και διαθέτουν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα υπό συνθήκες λειψυδρίας, υψηλού φωτισμού και περιορισμένων συγκεντρώσεων CO₂ και N

Acanthodactylus, *Stenodactylus*, *Agama*) που είναι προσαρμοσμένα σε ξερικά περιβάλλοντα (Fonseca et al., 2009; Gonçalves et al., 2012; Metallinou et al., 2012). Συνεπώς ενισχύεται η άποψη προηγούμενων ερευνητών (Carranza et al., 2008; Metallinou et al., 2012) ότι οι ερημικές συνθήκες επικρατούσαν ήδη από το Μειόκαινο, επιτρέποντας τη διάσπαση ερημικών ειδών.

Σε αρκετές περιπτώσεις ερπετών και αμφιβίων στην Β. Αφρική έχει παρατηρηθεί ότι οι πληθυσμοί της Τυνησίας σχηματίζουν μονοφυλετικό κλάδο (Recuero et al., 2007; Carranza et al., 2008; Kaliontzopoulou et al., 2011). Στην περίπτωση των πληθυσμών της Τυνησίας η απομόνωσή τους από τους υπόλοιπους της Β. Αφρικής εκτιμάται στο Μεσσήνιο. Η εκτίμηση αυτή είναι σημαντικά νωρίτερη σε σχέση με τα υπόλοιπα ερπετά που έχουν μελετηθεί ως τώρα. Την περίοδο αυτή σημειώθηκε σημαντική ορογενετική δραστηριότητα στην περιοχή (Bouaziz et al., 2002), που πιθανότατα έδρασε βικαριανιστικά ανάμεσα στους πληθυσμούς της Τυνησίας και της Β. Αφρικής. Ενδεχομένως πιο πρόσφατες απομονώσεις να οφείλονται σε κλιματικές αλλαγές, κατά τις οποίες οι ορεινοί όγκοι της Τυνησίας έχουν δράσει ως καταφύγια, όπως έχει παρατηρηθεί για τους ορεινούς όγκους της Αλγερίας και της Μαυριτανίας (Gonçalves et al., 2012; Brito et al., 2013). Συνολικά, μπορούμε να υποθέσουμε ότι η Τυνησία αποτελεί διακριτή βιογεωγραφική μονάδα της Β. Αφρικής ως αποτέλεσμα τόσο κλιματικών όσο και τεκτονικών γεγονότων.

Τέλος η εποίκηση των πληθυσμών της *M. olivieri* στη Μέση Ανατολή είναι πολύ πιο πρόσφατη σε αντίθεση με την *M. guttulata* και πιθανόν να επιτράπηκε κατά το Πλειστόκαινο με την ξήρανση του Νείλου, η οποία διήρκεσε περίπου ένα εκατομμύριο χρόνια (Baha El Din, 2006).

Κεφάλαιο 2^ο : Ιστορική βιογεωγραφία του γένους *Mesalina*



Εικόνα 2.6.: Γεγονότα βικριανισμού (στικτή κόκκινη γραμμή) και διασποράς (τα πράσινα βέλη δείχνουν την κατεύθυνση της διασποράς) μεταξύ της Αφρικής και της Αραβίας βάσει των αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης και βιβλιογραφικών αναφορών.

2.4.2. Συμπεράσματα

Το γένος μπορεί να διαιρεθεί σε τρεις κύριες γεωγραφικές ομάδες σύμφωνα με την καταγωγή των ειδών (ή συμπλέγματα ειδών): 1) Ιράν-Αφγανιστάν-Πακιστάν (*M. watsonana*), 2) Αραβία και Μέση Ανατολή (συμπλέγματα ειδών *M. guttulata*, *M. brevirostris*, *M. balfouri*, *M. adramitana*, *M. kuri* και *M. rubropunctata*) και 3) Βόρεια Αφρική (σύμπλεγμα ειδών *M. olivieri* και πιθανά *M. martini*). Παρόμοιες ομαδοποιήσεις έχουν προσδιοριστεί και για άλλα είδη ερπετών με παρόμοια κατανομή (π.χ., *Echis*, *Uromastyx*, *Stenodactylus*). Η κύρια πηγή διαφοροποίησης για όλες αυτές τις περιπτώσεις είναι η κίνηση της Αραβικής Χερσονήσου, η οποία έχει δώσει έναυσμα τόσο σε βικαριανιστικά όσο και σε επεισόδια διασποράς (Εικόνα 2.6). Καθώς τα είδη του γένους *Mesalina* είναι γρήγορα εξελισσόμενα (ακολουθώντας *r*-στρατηγική) και ιδιαίτερα ευκίνητα (Schleich et al., 1996) είναι πιθανώς πιο επιρρεπή σε διασπορά σε σύγκριση με τα είδη του γένους *Uromastyx* και *Echis*. Κατ' επέκταση μετακινήθηκαν από την Αραβία στην Αφρική πολλές φορές (Εικόνα 2.5 και 2.6).

Τόσο η Αφρική όσο και η Αραβία χαρακτηρίζονται από απέραντες πεδιάδες, οι οποίες σε περιόδους ακραίων κλιματικών συνθηκών (δηλαδή, ξηρασίας και χαμηλών θερμοκρασιών) δεν προσφέρουν κατάλληλα καταφύγια ακόμα και για οργανισμούς προσαρμοσμένους σε ερημικές συνθήκες. Πιθανόν αυτός είναι ο λόγος που η κύρια συγκέντρωση ποικιλότητας απαντάται στις ορεινές περιοχές (π.χ. Μαρόκο, Μαυριτανία, Υεμένη, δυτική ακτή της Σαουδικής Αραβίας) που αποτέλεσαν καταφύγια (Schleich et al., 1996; Brito et al., 2013) κατά τη διάρκεια υπέρξηρων περιόδων, όπως έχει παρατηρηθεί και στην ερημική ζώνη της Αυστραλίας (Pepper et al., 2011). Τόσο στην περιοχή μελέτης όσο και παγκοσμίως, οι κλιματικές αλλαγές προς ψυχρότερες και ξηρότερες συνθήκες προέκυψαν πολλαπλώς μετά το «mid-Miocene climatic optimum» (Zachos et al., 2001; Le Houérou, 2003; Schuster et al., 2006) παίζοντας σημαντικό ρόλο στα πρότυπα βιοποικιλότητας της ερπετοπανίδας τόσο της Βόρειας Αφρικής (Brito et al., 2013) όσο και της Αραβίας.

2.5. Βιβλιογραφία

- Agard, P., Omrani, J., Jolivet, L., Whitechurch, H., Vrielynck, B., Spakman, W., Monie, P., Meyer, B. & Wortel, R. (2011) Zagros orogeny: a subduction-dominated process. *Geological Magazine*, **148**, 692-725.
- Akın, Ç., Can Bilgin, C., Beerli, P., Westaway, R., Ohst, T., Litvinchuk, S.N., Uzzell, T., Bilgin, M., Hotz, H., Guex, G.D. & Plötner, J. (2010) Phylogeographic patterns of genetic diversity in eastern Mediterranean water frogs were determined by geological processes and climate change in the Late Cenozoic. *Journal of Biogeography*, 2111–2124.
- Alain, K., Ollagnon, M., Desbruyères, D., Page, A., Barbier, G., Juniper, S.K., Quérellou, J. & Cambon-Bonavita, M.-A. (2002) Phylogenetic characterization of the bacterial assemblage associated with mucous secretions of the hydrothermal vent polychaete *Paralvinella palmiformis*. *FEMS microbiology ecology*, **42**, 463-476.
- Aljanabi, S.M. & Martinez, I. (1997) Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research*, **25**, 4692-4693.
- Amer, S.A.M. & Kumazawa, Y. (2005) Mitochondrial DNA sequences of the Afro-Arabian spiny-tailed lizards (genus *Uromastyx*; family Agamidae): phylogenetic analyses and evolution of gene arrangements. *Biological Journal of the Linnean Society*, **85**, 247-260.
- Anderson, S.C. (1999) *The lizards of Iran*. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, St. Louis, MO.
- Arnold, E. (1986a) The hemipenis of lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae): structure, variation and systematic implications. *Journal of Natural History*, **20**, 1221-1257.
- Arnold, E., Lanza, B., Poggesi, M. & Corti, C. (1998) Notes on the anatomy and phylogenetic position of *Eremias ercolinii* Lanza & Poggesi 1975 (Reptilia Lacertidae). *Tropical Zoology*, **11**, 235-240.
- Arnold, E.N. (1980) The scientific results of the Oman flora and fauna survey 1977 (Dhofar). The reptiles and amphibians of Dhofar, southern Arabia. *Journal of Oman studies special report*, **2**, 273-332.
- Arnold, E.N. (1986b) The hemipenis of lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae): structure, variation and systematic implications. *Journal of Natural History*, **20**, 1221 - 1257.
- Arnold, E.N. (1987) Zoogeography of the Reptiles and Amphibians of Arabia. *Symposium on the Fauna and Zoogeography of the Middle East* (ed by F. Krupp, W. Schneider and R. Kinzelbach), pp. 245-256. Mainz, 1985.
- Arnold, E.N., Arribas, O. & Carranza, S. (2007) Systematics of the Palaeartic and Oriental lizard tribe Lacertini (Squamata: Lacertidae: Lacertinae), with descriptions of eight new genera. *Zootaxa*, **1430**, 1-86.
- Autin, J., Leroy, S., Beslier, M.O., d'Acremont, E., Razin, P., Ribodetti, A., Bellahsen, N., Robin, C. & Al Toubi, K. (2009) Continental break-up history of a deep magma-poor margin based on seismic reflection data (northeastern Gulf of Aden margin, offshore Oman). *Geophysical Journal International*, **180**, 501-519.
- Baha El Din, S. (2006) *A guide to the Reptiles and Amphibians of Egypt*. The American University in Cairo Press, Cairo, Egypt.

- Baquero, R.A. & Tellería, J.L. (2001) Species richness, rarity and endemism of European mammals: a biogeographical approach. *Biodiversity and Conservation*, **10**, 29-44.
- Bilgin, R. (2011) Back to the Suture: The Distribution of Intraspecific Genetic Diversity in and Around Anatolia. *International Journal of Molecular Sciences*, **12**, 4080-4103.
- Bons, J. & Geniez, P. (1995) Contribution to the systematics of the lizard *Acanthodactylus erythrurus* (Sauria, Lacertidae) in Morocco. *Herpetological Journal*, **5**, 271-271.
- Bosworth, W., Huchon, P. & McClay, K. (2005) The Red Sea and Gulf of Aden basins. *Journal of African Earth Sciences*, **43**, 334-378.
- Bouaziz, S., Barrier, E., Soussi, M., Turki, M.M. & Zouari, H. (2002) Tectonic evolution of the northern African margin in Tunisia from paleostress data and sedimentary record. *Tectonophysics*, **357**, 227-253.
- Bradley, R.K., Roberts, A., Smoot, M., Juvekar, S., Do, J., Dewey, C., Holmes, I. & Pachter, L. (2009) Fast Statistical Alignment. *PLoS Computational Biology*, **5**, e1000392.
- Brito, J.C., Godinho, R., Martínez-Freiría, F., Pleguezuelos, J.M., Rebelo, H., Santos, X., Vale, C.G., Velo-Antón, G., Boratyński, Z. & Carvalho, S.B. (2013) Unravelling biodiversity, evolution and threats to conservation in the Sahara–Sahel. *Biological Reviews*, **89**, 215-231.
- Brown, J.M., Hedtke, S.M., Lemmon, A.R. & Lemmon, E.M. (2010) When trees grow too long: investigating the causes of highly inaccurate Bayesian branch-length estimates. *Systematic Biology*, **59**, 145-161.
- Brown, R.P., Suarez, N.M. & Pestano, J. (2002) The Atlas mountains as a biogeographical divide in North-West Africa: evidence from mtDNA evolution in the Agamid lizard *Agama impalearis*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **24**, 324-332.
- Brunet, M. & M.P.F.T. (2000) Chad: Discovery of a vertebrate fauna close to the Mio-Pliocene boundary. *Journal of Vertebrate Paleontology*, **20**, 205-209.
- Carranza, S., Arnold, E.N., Geniez, P., Roca, J. & Mateo, J.A. (2008) Radiation, multiple dispersal and parallelism in the skinks, *Chalcides* and *Sphenops* (Squamata : Scincidae), with comments on *Scincus* and *Scincopus* and the age of the Sahara Desert. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **46**, 1071-1094.
- Cerling, T.E., Harris, J.M., MacFadden, B.J., Leakey, M.G., Quade, J., Eisenmann, V. & Ehleringer, J.R. (1997) Global vegetation change through the Miocene/Pliocene boundary. *Nature*, **389**, 153-158.
- Cox, S.C., Carranza, S. & Brown, R.P. (2010) Divergence times and colonization of the Canary Islands by *Gallotia* lizards. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **56**, 747-757.
- Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R. & Posada, D. (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, **9**, 772-772.
- Deffontaine, V., Libois, R., Kotlik, P., Sommer, R., Nieberding, C., Paradis, E., Searle, J.B. & Michaux, J.R. (2005) Beyond the Mediterranean peninsulas: evidence of central European glacial refugia for a temperate forest mammal species, the bank vole (*Clethrionomys glareolus*). *Molecular Ecology*, **14**, 1727-1739.
- DeMenocal, P.B. (2004) African climate change and faunal evolution during the Pliocene-Pleistocene. *Earth and Planetary Science Letters*, **220**, 3-24.

- Dewey, J.F., Pitman, W.C., Ryan, W.B. & Bonnin, J. (1973) Plate tectonics and the evolution of the Alpine system. *Geological Society of America Bulletin*, **84**, 3137-3180.
- Dietz, R.S. & Holden, J.C. (1970) Reconstruction of Pangaea: Breakup and dispersion of continents, Permian to present. *Journal of Geophysical Research*, **75**, 4939-4956.
- Disi, A.M., Modry, D., Necas, P. & Rifai, L. (2001) *Amphibians and reptiles of the Hashemite Kingdom of Jordan. An atlas and field guide*. Chimaira, Frankfurt am Main, Germany.
- Douady, C.J. & Douzery, E.J.P. (2003) Molecular estimation of eulipotyphlan divergence times and the evolution of "Insectivora". *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **28**, 285-296.
- Douady, C.J., Catzeflis, F., Raman, J., Springer, M.S. & Stanhope, M.J. (2003) The Sahara as a vicariant agent, and the role of Miocene climatic events, in the diversification of the mammalian order Macroscelidea (elephant shrews). *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **100**, 8325-8330.
- Drummond, A.J. & Rambaut, A. (2007) BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, **7**, 214.
- Elewa, A.M. (2005) *Migration of Organisms: Climate, Geography, Ecology*. Springer, Heidelberg, Germany.
- Eronen, J.T., Atabadian, M.M., Micheelsb, A., Karme, A., Bernor, R.L. & Fortelius, M. (2009) Distribution history and climatic controls of the Late Miocene Pliocene chronofauna. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**, 11867-11871.
- Espregueira Themudo, G., Wielstra, B. & Arntzen, J. (2009) Multiple nuclear and mitochondrial genes resolve the branching order of a rapid radiation of crested newts (*Triturus*, Salamandridae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **52**, 321-328.
- Fernandes, C.A., Rohling, E.J. & Siddall, M. (2006) Absence of post-Miocene Red Sea land bridges: biogeographic implications. *Journal of Biogeography*, **33**, 961-966.
- Fløjgaard, C., Normand, S., Skov, F. & Svenning, J.C. (2011) Deconstructing the mammal species richness pattern in Europe—towards an understanding of the relative importance of climate, biogeographic history, habitat heterogeneity and humans. *Global Ecology and Biogeography*, **20**, 218-230.
- Flower, B.P. & Kennett, J.P. (1994) The Middle Miocene Climatic Transition: East Antarctic ice sheet development, deep ocean circulation and global carbon cycling. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology*, **108**, 537-555.
- Fonseca, M.M., Brito, J.C., Paulo, O.S., Carretero, M.A. & Harris, D.J. (2009) Systematic and phylogeographical assessment of the *Acanthodactylus erythrurus* group (Reptilia: Lacertidae) based on phylogenetic analyses of mitochondrial and nuclear DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **51**, 131-142.
- Fonseca, M.M., Brito, J.C., Rebelo, H., Kalbousi, M., Larbes, S., Carretero, M.A. & Harris, D.J. (2008) Genetic variation among spiny-footed lizards in the *Acanthodactylus pardalis* group from North Africa. *African Zoology*, **43**, 8-15.
- Fontaneto, D., Herniou, E.A., Boschetti, C., Caprioli, M., Melone, G., Ricci, C. & Barraclough, T.G. (2007) Independently evolving species in asexual bdelloid rotifers. *Plos Biology*, **5**, 914-921.

- Fujisawa, T. & Barraclough, T.G. (2013) Delimiting Species Using Single-locus Data and the Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC) Approach: A Revised Method and Evaluation on Simulated Datasets. *Systematic Biology*, **62**, 707-724.
- Garfunkel, Z. (1997) The History and the Formation of the Dead Sea Basin. *The Dead Sea, The lake and its setting* (ed. by T.M. Niemi, Z. Ben-Avraham and J.R. Gat), pp. 36-56. Oxford University Press, New York, USA.
- Gómez, A. & Lunt, D.H. (2007) Refugia within refugia: patterns of phylogeographic concordance in the Iberian Peninsula. *Phylogeography of southern European refugia*, pp. 155-188. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Gonçalves, D.V., Brito, J.C., Crochet, P.A., Geniez, P., Padial, J.M. & Harris, D.J. (2012) Phylogeny of North African *Agama* lizards (Reptilia: Agamidae) and the role of the Sahara desert in vertebrate speciation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **64**, 582-591.
- Goudie, A.S. (2005) The drainage of Africa since the Cretaceous. *Geomorphology*, **67**, 437-456.
- Gunduz, I., Rambau, R.V., Tez, C. & Searle, J.B. (2005) Mitochondrial DNA variation in the western house mouse (*Mus musculus domesticus*) close to its site of origin: studies in Turkey. *Biological Journal of the Linnean Society*, **84**, 473-485.
- Gunduz, I., Jaarola, M., Tez, C., Yenyurt, C., Polly, P.D. & Searle, J.B. (2007) Multigenic and morphometric differentiation of ground squirrels (*Spermophilus*, Scuriidae, Rodentia) in Turkey, with a description of a new species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **43**, 916-935.
- Gvozdkik, V., Moravec, J., Klutsch, C. & Kotlik, P. (2010) Phylogeography of the Middle Eastern tree frogs (*Hyla*, Hylidae, Amphibia) as inferred from nuclear and mitochondrial DNA variation, with a description of a new species. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **55**, 1146-1166.
- Harmon, L.J., Weir, J.T., Brock, C.D., Glor, R.E. & Challenger, W. (2008) GEIGER: investigating evolutionary radiations. *Bioinformatics*, **24**, 129-131.
- Harris, D.J., Vaconcelos, R. & Brito, J.C. (2007) Genetic variation within African spiny-tailed lizards (Agamidae : *Uromastix*) estimated using mitochondrial DNA sequences. *Amphibia-Reptilia*, **28**, 1-6.
- Harzhauser, M., Mandic, O., Piller, W.E., Reuter, M. & Kroh, A. (2008) Tracing back the origin of the Indo-Pacific Mollusc fauna: Basal Tridacninae from the Oligocene and the Miocene of the Sultanate of Oman. *Palaeontology*, **51**, 199-213.
- Harzhauser, M., Kroh, A., Mandic, O., Piller, W.E., Gohlich, U., Reuter, M. & Berning, B. (2007) Biogeographic responses to geodynamics: a key study all around the Oligo-Miocene Tethyan Seaway. *Zoologischer Anzeiger*, **246**, 241-256.
- Hipsley, C.A., Himmelman, L., Metzler, D. & Muller, J. (2009) Integration of Bayesian molecular clock methods and fossil-based soft bounds reveals early Cenozoic origin of African lacertid lizards. *BMC Evolutionary Biology*, **9**, 151.
- Ho, S.Y.M. (2007) Calibrating molecular estimates of substitution rates and divergence times in birds. *Journal of Avian Biology*, **38**, 409-414.
- Ho, S.Y.W., Lanfear, R., Bromham, L., Phillips, M.J., Soubrier, J., Rodrigo, A.G. & Cooper, A. (2011) Time dependent rates of molecular evolution. *Molecular Ecology*, **20**, 3087-3101.
- Huelsenbeck, J.P. & Ronquist, F. (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, **17**, 754-755.

- Jesse, R., Schubart, C.D. & Klaus, S. (2010) Identification of a cryptic lineage within *Potamon fluviatile* (Herbst)(Crustacea: Brachyura: Potamidae). *Invertebrate Systematics*, **24**, 348-356.
- Joger, U. (1987) An interpretation of reptile zoogeography in Arabia, with special reference to Arabian herpetofaunal relations with Africa. *Proceedings of the Symposium on the Fauna and Zoogeography of the Middle East*, Mainz (ed by F. Krupp, W. Schneider and R. Kinzelbach), pp. 251-211. Mainz, Germany.
- Jones, R.W. (1999) Marine invertebrate (chiefly foraminiferal) evidence for the palaeogeography of the Oligocene–Miocene of western Eurasia, and consequences for terrestrial vertebrate migration. *Hominid Evolution and Environmental Change in the Neogene of Europe* (ed. by J. Agustí, L. Rook and P. Andrews), pp. 274-308. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Kalendar, R., Lee, D. & Schulman, A. (2009) FastPCR software for PCR primer and probe design and repeat search. *Genes, Genomes and Genomics*, **3**, 1-14.
- Kaliontzopoulou, A., Pinho, C., Harris, D.J. & Carretero, M.A. (2011) When cryptic diversity blurs the picture: a cautionary tale from Iberian and North African *Podarcis* wall lizards. *Biological Journal of the Linnean Society*, **103**, 779-800.
- Kapli, P., Lymberakis, P., Poulakakis, N., Mantziou, G., Parmakelis, A. & Mylonas, M. (2008) Molecular phylogeny of three *Mesalina* (Reptilia: Lacertidae) species (*M. guttulata*, *M. brevirostris* and *M. bahaeldini*) from North Africa and the Middle East: another case of paraphyly? *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49**, 102-110.
- Katoh, K. & Toh, H. (2008) Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. *Briefings in Bioinformatics*, **9**, 286-298.
- Kornilios, P., Kyriazi, P., Poulakakis, N., Kumlutas, Y., Ilgaz, C., Mylonas, M. & Lymberakis, P. (2010) Phylogeography of the ocellated skink *Chalcides ocellatus* (Squamata, Scincidae), with the use of mtDNA sequences: A hitch-hiker's guide to the Mediterranean. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **54**, 445-456.
- Kornilios, P., Ilgaz, Ç., Kumlutaş, Y., Lymberakis, P., Moravec, J., Sindaco, R., Rastegar-Pouyani, N., Afroosheh, M., Giokas, S. & Fraguédakis-Tsolis, S. (2011) Neogene climatic oscillations shape the biogeography and evolutionary history of the Eurasian blindsnake. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **62**, 856-873.
- Kroepelin, S. (2006) Revisiting the age of the Sahara desert. *Science*, **312**, 1138-1138.
- Kyriazi, P., Poulakakis, N., Parmakelis, A., Crochet, P.A., Moravec, J., Rastegar-Pouyani, N., Tsigenopoulos, C.S., Magoulas, A., Mylonas, M. & Lymberakis, P. (2008) Mitochondrial DNA reveals the genealogical history of the snake-eyed lizards (*Ophisops elegans* and *O. occidentalis*) (Sauria: Lacertidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49**, 795-805.
- Le Houérou, H.N. (2003) Bioclimatology and phytogeography of the Red Sea and Aden Gulf basins: a monograph (with a particular reference to the Highland evergreen sclerophylls and lowland halophytes). *Arid Land Research and Management*, **17**, 177-256.
- Le Houérou, H.N. (1997) Climate, flora and fauna changes in the Sahara over the past 500 million years. *Journal of Arid Environments*, **37**, 619-647.
- Leroy, S., Gente, P., Fournier, M., d'Acremont, E., Patriat, P., Beslier, M.-O., Bellahsen, N., Maia, M., Blais, A. & Perrot, J. (2004) From rifting to spreading in the eastern Gulf of Aden: a geophysical survey of a young oceanic basin from margin to margin. *Terra Nova*, **16**, 185-192.
- Lymberakis, P. & Poulakakis, N. (2010) Three continents claiming an archipelago: the evolution of Aegean's herpetofaunal diversity. *Diversity*, **2**, 233-255.

- Lymberakis, P., Poulakakis, N., Manthalou, G., Tsigenopoulos, C.S., Magoulas, A. & Mylonas, M. (2007) Mitochondrial phylogeography of *Rana (Pelophylax)* populations in the Eastern Mediterranean region. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **44**, 115-125.
- Marshall, D.C. (2010) Cryptic failure of partitioned Bayesian phylogenetic analyses: lost in the land of long trees. *Systematic Biology*, **59**, 108-117.
- Mayer, F. & von Helversen, O. (2001) Cryptic diversity in European bats. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, **268**, 1825-1832.
- Metallinou, M., Arnold, E.N., Crochet, P.A., Geniez, P., Brito, J.C., Lymberakis, P., El Din, S.B., Sindaco, R., Robinson, M. & Carranza, S. (2012) Conquering the Sahara and Arabian deserts: systematics and biogeography of *Stenodactylus* geckos (Reptilia: Gekkonidae). *BMC Evolutionary Biology*, **12**, 258.
- Meulenkamp, J.E. & Sissingh, W. (2003) Tertiary palaeogeography and tectonostratigraphic evolution of the Northern and Southern Peri-Tethys platforms and the intermediate domains of the African-Eurasian convergent plate boundary zone. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology*, **196**, 209-228.
- Micheels, A., Eronen, J. & Mosbrugger, V. (2009) The Late Miocene climate response to a modern Sahara desert. *Global and Planetary Change*, **67**, 193-204.
- Monaghan, M.T., Wild, R., Elliot, M., Fujisawa, T., Balke, M., Inward, D.J., Lees, D.C., Ranaivosolo, R., Eggleton, P., Barraclough, T.G. & Vogler, A.P. (2009) Accelerated Species Inventory on Madagascar Using Coalescent-Based Models of Species Delineation. *Systematic Biology*, **58**, 298-311.
- Moore, W.S. (1995) Inferring Phylogenies from mtDNA Variation Mitochondrial Gene Trees Versus Nuclear Gene Trees. *Evolution*, **49**, 718-726.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G.A.B. & Kent, J. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, **403**, 853-858.
- Orszag-Sperber, F., Harwood, G., Kendall, A. & Purser, B. (1998) A review of the evaporites of the Red Sea-Gulf of Suez rift. *Sedimentation and Tectonics in Rift Basins Red Sea:-Gulf of Aden* (ed. by B.H. Purser and D.W.J. Bosence), pp. 409-426. Chapman and Hall, London.
- Palumbi, S.R. (1996) Nucleic Acids II: The Polymerase Chain Reaction. *Molecular Systematics* (ed. by D.M. Hillis, C. Moritz and B.K. Mable), pp. 205-248. Sinauer, Sunderland, MA.
- Palumbi, S.R., Martin, A., Romano, S., McMillan, W.O., Stice, L. & Grabowski, G. (1991) *Simple fool's guide to PCR*. Department of Zoology, University of Hawaii, Honolulu, USA.
- Papadopoulou, A., Anastasiou, I., Keskin, B. & Vogler, A.P. (2009) Comparative phylogeography of tenebrionid beetles in the Aegean archipelago: the effect of dispersal ability and habitat preference. *Molecular Ecology*, **18**, 2503-2517.
- Paradis, E., Claude, J. & Strimmer, K. (2004) APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics*, **20**, 289-290.
- Park, J.-M., Kovačić, S., Liber, Z., Eddie, W.M. & Schneeweiss, G.M. (2006) Phylogeny and biogeography of isophyllous species of *Campanula* (Campanulaceae) in the Mediterranean area. *Systematic Botany*, **31**, 862-880.
- Pavlicev, M. & Mayer, W. (2009) Fast radiation of the subfamily Lacertinae (Reptilia: Lacertidae): History or methodical artefact? *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **52**, 727-734.

- Pepper, M., Fujita, M.K., Moritz, C. & Keogh, J.S. (2011) Palaeoclimate change drove diversification among isolated mountain refugia in the Australian arid zone. *Molecular Ecology*, **20**, 1529-1545.
- Pinho, C., Harris, D.J. & Ferrand, N. (2008) Non-equilibrium estimates of gene flow inferred from nuclear genealogies suggest that Iberian and North African wall lizards (*Podarcis spp.*) are an assemblage of incipient species. *BMC Evolutionary Biology*, **8**, 63.
- Pons, J., Barraclough, T.G., Gomez-Zurita, J., Cardoso, A., Duran, D.P., Hazell, S., Kamoun, S., Sumlin, W.D. & Vogler, A.P. (2006) Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology*, **55**, 595-609.
- Pook, C.E., Joger, U., Stumpel, N. & Wuster, W. (2009) When continents collide: Phylogeny, historical biogeography and systematics of the medically important viper genus *Echis* (Squamata: Serpentes: Viperidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **53**, 792-807.
- Popov, S.V., Rozanov, A.Y., Rögl, F., Steininger, F.F., Shcherba, I.G. & Kovac, M. (2004) Lithological–paleogeographic maps of Paratethys. *Courier Forschungsinstitut Senckenberg*, **250**, 1-46.
- Por, F. (1987) The levantine Landbridge: historical and present patterns. *Proceedings of the Symposium on the Fauna and Zoogeography of the Middle East* (ed by, p. 23.
- Portik, D.M. & Papenfuss, T.J. (2011) Monitors cross the Red Sea: The biogeographic history of *Varanus yemenensis*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*,
- Poulakakis, N., Lymberakis, P., Antoniou, A., Chalkia, D., Zouros, E., Mylonas, M. & Valakos, E. (2003) Molecular phylogeny and biogeography of the wall-lizard *Podarcis erhardii* (Squamata : Lacertidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **28**, 38-46.
- Poulakakis, N., Kapli, P., Lymberakis, P., Trichas, A., Vardinoyiannis, K., Sfenthourakis, S. & Mylonas, M. 2014. A review of phylogeographic analyses of animal taxa from the Aegean and surrounding regions. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* doi: 10.1111/jzs.12071.
- Rambaut, A. & Drummond, A.J. (2008) MCMC Trace Analysis Tool. Version v1.5.0, 2003-2009. <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>,
- Recuero, E., Iraola, A., Rubio, X., Machordom, A. & García-París, M. (2007) Mitochondrial differentiation and biogeography of *Hyla meridionalis* (Anura: Hylidae): an unusual phylogeographical pattern. *Journal of Biogeography*, **34**, 1207-1219.
- Ribera, I. & Vogler, A.P. (2004) Speciation of Iberian diving beetles in Pleistocene refugia (Coleoptera, Dytiscidae). *Molecular Ecology*, **13**, 179-193.
- Robinson, D.F. & Foulds, L.R. (1981) Comparison of phylogenetic trees. *Mathematical Biosciences*, **53**, 131-147.
- Rögl, F. (1999) Mediterranean and Paratethys. Facts and hypotheses of an Oligocene to Miocene paleogeography (short overview). *Geologica Carpathica*, **50**, 339-349.
- Ruedi, M. & Castella, V. (2003) Genetic consequences of the ice ages on nurseries of the bat *Myotis myotis*: a mitochondrial and nuclear survey. *Molecular Ecology*, **12**, 1527-1540.
- Sanderson, M.J. (2003) r8s: inferring absolute rates of molecular evolution and divergence times in the absence of a molecular clock. *Bioinformatics*, **19**, 301-302.

- Schleich, H.H., Kästle, W. & Kabisch, K. (1996) *Amphibians and Reptiles of North Africa: Biology, Systematics, Field Guide*. Koeltz Scientific Publishers, Koenigstein, Germany.
- Schönswetter, P., Stehlik, I., Holderegger, R. & Tribsch, A. (2005) Molecular evidence for glacial refugia of mountain plants in the European Alps. *Molecular Ecology*, **14**, 3547-3555.
- Schuster, M., Durringer, P., Ghienne, J.F., Vignaud, P., Mackaye, H.T., Likius, A. & Brunet, M. (2006a) The age of the Sahara Desert. *Science*, **311**, 821-821.
- Schuster, M., Durringer, P., Ghienne, J.F., Vignaud, P., Mackaye, H.T., Likius, A. & Brunet, M. (2006b) Revisiting the age of the Sahara desert - Response. *Science*, **312**, 1139-1139.
- Sepulchre, P., Ramstein, G., Fluteau, F., Schuster, M., Tiercelin, J.J. & Brunet, M. (2006) Tectonic uplift and Eastern Africa aridification. *Science*, **313**, 1419-1423.
- Sequeira, A.S., Lanteri, A.A., Albelo, R., Bhattacharya, S. & Sijapati, M. (2008) Colonization history, ecological shifts and diversification in the evolution of endemic Galapagos weevils. *Molecular Ecology*, **17**, 1089-1107.
- Sindaco, R. & Jeremčenko, V.K. (2008) *The reptiles of the Western Palearctic*. Edizioni Belvedere, Latina, Italy.
- Šmíd, J. & Frynta, D. (2012) Genetic variability of *Mesalina watsonana* (Reptilia: Lacertidae) on the Iranian plateau and its phylogenetic and biogeographic affinities as inferred from mtDNA sequences. *Acta Herpetologica*, **7**, 139-153.
- Stamatakis, A. (2006a) RAxML-VI-HPC: Maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, **22**, 2688-2690.
- Stamatakis, A. (2006b) Phylogenetic models of rate heterogeneity: a high performance computing perspective. *Parallel and Distributed Processing Symposium, 2006. IPDPS 2006. 20th International* (ed by, p. 8 pp.
- Swezey, C.S. (2006) Revisiting the age of the Sahara desert. *Science*, **312**, 1138-1139.
- Tarkhnishvili, D., Hille, A. & Böhme, W. (2001) Humid forest refugia, speciation and secondary introgression between evolutionary lineages: differentiation in a Near Eastern brown frog, *Rana macrocnemis*. *Biological Journal of the Linnean Society*, **74**, 141-156.
- Tassy, P. (1989) The “Proboscidean Datum Event:” How Many Proboscideans and How Many Events? *European neogene mammal chronology* (ed. by E.H. Lindsay, V. Fahlbusch and P. Mein), pp. 237-252. Plenum Press, New York, USA.
- Ursenbacher, S., Schweiger, S., Tomovic, L., Crnobrnja-Isailovic, J., Fumagalli, L. & Mayer, W. (2008) Molecular phylogeography of the nose-horned viper (*Vipera ammodytes*, Linnaeus (1758)): Evidence for high genetic diversity and multiple refugia in the Balkan peninsula. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **46**, 1116-1128.
- Veith, M., Schmidler, J.F., Kosuch, J., Baran, I. & Seitz, A. (2003) Palaeoclimatic changes explain Anatolian mountain frog evolution: a test for alternating vicariance and dispersal events. *Molecular Ecology*, **12**, 185-199.
- Weiss, S. & Ferrand, N. (2007) *Phylogeography of southern European refugia: Evolutionary perspectives on the origins and conservation of European biodiversity*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Wielstra, B. & Arntzen, J.W. (2011) Unraveling the rapid radiation of crested newts (*Triturus cristatus* superspecies) using complete mitogenomic sequences. *Bmc Evolutionary Biology*, **11**, 162.

- Wolfart, R. (1987) Late Cretaceous through Quaternary Paleogeographic Evolution of the Middle East. *Symposium on the Fauna and Zoogeography of the Middle East* (ed by F. Krupp, W. Schneider and R. Kinzelbach), pp. 9-22. Mainz, Germany.
- Wüster, W., Crookes, S., Ineich, I., Mané, Y., Pook, C.E., Trape, J.-F. & Broadley, D.G. (2007) The phylogeny of cobras inferred from mitochondrial DNA sequences: Evolution of venom spitting and the phylogeography of the African spitting cobras (Serpentes: Elapidae: *Naja nigricollis* complex). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **45**, 437-453.
- Yang, Z. (2006) *Computational molecular evolution*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Yu, Y., Harris, A.J. & He, X. (2010) S-DIVA (Statistical Dispersal–Vicariance Analysis): a tool for inferring biogeographic histories. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **56**, 848-850.
- Zachos, J., Pagani, M., Sloan, L., Thomas, E. & Billups, K. (2001) Trends, rhythms, and aberrations in global climate 65 Ma to present. *Science*, **292**, 686-693.

Κεφάλαιο 3^ο: Φυλογενετική προσέγγιση του αριθμού ειδών του γένους *Mesalina*

Στην εκπόνηση της έρευνας που περιγράφεται στο 3^ο κεφάλαιο συμμετείχαν οι:

N. Πουλακάκης, Π. Λυμπεράκης, J. Zhang, Θ. Φλουρής και Α. Σταματάκης
(Scientific Computing Group, Heidelberg Institute for Theoretical Studies, Heidelberg
Germany)

3.1. Εισαγωγή

3.1.1. Θεώρηση του Είδους

Το «είδος» αποτελεί μία από τις βασικές μονάδες της Βιολογίας, όπως θεμελιώδους σημασίας μονάδες θεωρούνται τα γονίδια, τα κύτταρα και οι οργανισμοί (Mayr, 1982; Agarow *et al.*, 2004). Παρ' όλη τη βαρύνουσα σημασία του, ο ορισμός του παραμένει ασαφής, και αντικείμενο συζήτησης μεταξύ πολλών ερευνητών (De Queiroz, 2007; Samadi & Barberousse, 2009; Barberousse & Samadi, 2010; Ereshefsky, 2010). Στη διεθνή βιβλιογραφία οι διαφωνίες αυτές ανακλώνται στην ύπαρξη τουλάχιστον 24 επίσημων (με την έννοια της επιστημονικής αποδοχής μέσω δημοσιεύσεων) ορισμών για το είδος (Mayden, 1997; De Queiroz, 2007). Νέο κύμα συζητήσεων και ορισμών επέφερε η ανάπτυξη φτηνών και γρήγορων μεθόδων απομόνωσης και αλληλούχησης γενετικών δεικτών. Πιο συγκεκριμένα, η διάδοση της ιδέας του DNA-barcoding (Arnot *et al.*, 1993; Hebert *et al.*, 2003b; Hebert *et al.*, 2003a) σε συνδυασμό με την ταυτόχρονη ανάπτυξη της τεχνολογίας αλληλούχησης νέας γενιάς, είχε ως αποτέλεσμα τη δημιουργία πολλών αλγορίθμων οριοθέτησης «ειδών» βάσει γενετικών δεδομένων (Pons *et al.*, 2006; Schloss & Westcott, 2011; Fu *et al.*, 2012; Puillandre *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2013). Δεδομένης της ασαφούς θεώρησης του «είδους», η άνθηση των αλγορίθμων αυτών επέφερε και νέους όρους που ταυτίστηκαν ή αντικατέστησαν τον όρο (π.χ. «Genospecies», «Phylopecies», «Recognizable Taxonomic Units», «Phylotypes», «Molecular Operational Taxonomic Units» κτλ).

Η εξομάλυνση μεταξύ των διαφορετικών ορισμών και ο συμβιβασμός μεταξύ των ερευνητών είναι ένα δύσκολο εγχείρημα, επιτυγχάνεται όμως με την ενωτική θεώρηση του είδους, όπως προτάθηκε από τον De Queiroz (2007). Σύμφωνα με τον ορισμό αυτό, η μόνη απαραίτητη ιδιότητα για την αποδοχή ενός είδους είναι να αποτελεί μια «Ανεξάρτητα Εξελισσόμενη Γενεαλογία Μεταπληθυσμών»¹¹ (ΑΕΓΜ,

¹¹ Σύμφωνα με τον ορισμό αυτό ο όρος «είδος» και ο χαρακτηρισμός «ΑΕΓΜ» είναι συνώνυμα. Στο υπόλοιπο του κειμένου για την αποφυγή σύγχυσης επιλέχθηκε ο όρος «ΑΕΓΜ» να χρησιμοποιείται στην αναφορά των ειδών όπως υπολογίζονται από τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν και ο όρος «είδος» για εκείνα που έχουν περιγραφεί σύμφωνα με τους επίσημους κανόνες της διεθνούς ονοματολογίας.

De Queiroz, 2007). Υπό αυτή τη θεώρηση, όλοι οι μέχρι τώρα περιγεγραμμένοι «ορισμοί» του είδους (π.χ. βιολογικός, φυλογενετικός, φαινοτυπικός) υποβιβάζονται σε ιδιότητες των οργανισμών (π.χ. γενετική απομόνωση, μονοφυλία, μορφολογία) οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως διαγνωστικά χαρακτηριστικά για το διαχωρισμό δύο εξελικτικών γραμμών.

Η αναγνώριση των ειδών του γένους *Mesalina* βασίστηκε στις φυλογενετικές σχέσεις των δειγμάτων που εξετάστηκαν. Πιο συγκεκριμένα και σύμφωνα με τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν, ζητούμενο σε μία φυλογένεση είναι το σημείο μετάβασης του ρυθμού κλαδογένεσης, το οποίο αντανάκλα τη μετάβαση μεταξύ ενδοειδικών και διαειδικών σχέσεων (Reid & Carstens, 2012; Zhang et al., 2013). Το χαρακτηριστικό αυτό συνάδει με το κεντρικό ζητούμενο του «ιστορικού φυλογενετικού είδους» (Hennig, 1966; Baum & Donoghue, 1995; Pons et al., 2006), δηλαδή, το σημείο μετάβασης μεταξύ αποκλινόντων («*divergent*») σχέσεων και σχέσεων δικτύου («*reticulate*») οι οποίες αντιστοιχούν σε διαειδικές και ενδοειδικές σχέσεις.

3.1.2. Οριοθέτηση ειδών βάσει γενετικών δεικτών

Η οριοθέτηση των ειδών αναφέρεται στην αναγνώριση της βιολογικής ποικιλότητας σε επίπεδο είδους. Όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, η μεγάλη παραγωγή γενετικών δεδομένων οδήγησε σε εκρηκτική ανάπτυξη νέων αλγορίθμων και μεθοδολογιών με στόχο την οριοθέτηση των ειδών ενός τάξου. Σε γενικές γραμμές, θα μπορούσαμε να διακρίνουμε τις διαφορετικές μεθόδους οριοθέτησης ειδών σε δύο βασικές κατηγορίες (για πιο εκτενή ανασκόπηση των πιο δημοφιλών μεθόδων βλέπε Camargo, 2013).

Η πρώτη κατηγορία αφορά μεθόδους που οριοθετούν νέα είδη βάσει ενός γονιδίου και μπορεί να χωριστεί περαιτέρω σε δύο υποκατηγορίες: α) τους αλγορίθμους που οριοθετούν νέα είδη βάσει μιας φυλογένεσης. Δύο αλγόριθμοι αυτής της κατηγορίας είναι γνωστοί στη διεθνή βιβλιογραφία, η μέθοδος που οριοθετεί τα είδη βάση του μοντέλου «Generalized Mixed Yule Coalescent» (GMYC, Pons et al., 2006; Fontaneto *et al.*, 2007; Fujisawa & Barraclough, 2013) και η μέθοδος που οριοθετεί τα είδη βάση του μοντέλου «Poisson Tree Process» (PTP,

Zhang et al., 2013). Βασικό χαρακτηριστικό και των δύο αυτών μεθόδων είναι η αποδοχή της υπόθεσης ότι η φυλογένεση που χρησιμοποιείται συμπίπτει με την φυλογένεση των ειδών του τάξου. β) Τους αλγορίθμους που οριοθετούν νέα είδη βάσει γενετικών αποστάσεων. Η ανάπτυξη των αλγορίθμων αυτών συνδυάστηκε και ωθήθηκε σε μεγάλο βαθμό παράλληλα με τον τομέα του «metabarcoding». Ο όρος αυτός αναφέρεται στην μέθοδο ταυτόχρονης αλληλούχησης ενός γονιδίου για πολλαπλά τάξα. Για τα ζώα αλλά και πολλούς μονοκύτταρους οργανισμούς το γονίδιο αυτό συνήθως είναι είτε το 16S ριβοσωμικό RNA είτε η κυτοχρωμική οξειδάση, ενώ για τα φυτά τα πιο δημοφιλή γονίδια είναι τα *matK* and *rbcL*. Παραδείγματα τέτοιων αλγορίθμων είναι η μπεϋζιανή μέθοδος CROP (Hao et al., 2011), το UCLUST (Edgar, 2010), το ABGD (Puillandre et al., 2012) ή μέθοδοι που λαμβάνουν υπόψη την τρέχουσα συστηματική (Meyer & Paulay, 2005; Ferri et al., 2009). Στο σύνολό τους οι μέθοδοι αυτής της κατηγορίας βασίζονται στην παραδοχή ότι η ποικιλότητα των αλληλουχιών εντός ενός είδους δεν ξεπερνά μια συγκεκριμένη τιμή, διαφορετικά αναφέρεται σε διαειδική ποικιλότητα. Το πλεονέκτημα των μεθόδων αυτών είναι ότι δεν είναι υπολογιστικά απαιτητικές και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε σύνολα δεδομένων της τάξης των εκατομμυρίων αλληλουχιών. Το βασικό τους μειονέκτημα είναι ότι δεν λαμβάνουν υπόψη την εξελικτική ιστορία του οργανισμού και βασίζονται σε αυθαίρετη θεώρηση ορίων που δεν ανακύπτουν από βιολογικά χαρακτηριστικά των υπό μελέτη ειδών. Στις περιπτώσεις που δεν είναι διακριτή κάποια ασυνέχεια (π.χ. σε περιπτώσεις υψηλού ρυθμού ειδογένεσης, Puillandre et al., 2012) μεταξύ των ενδο- και δια-ειδικών γενετικών αποστάσεων, οι μέθοδοι αυτές αποτυγχάνουν (Zhang et al., 2013).

Η δεύτερη ευρύτερη κατηγορία μεθόδων οριοθέτησης ειδών αφορά εκείνες που λαμβάνουν υπόψη περισσότερους από έναν γενετικούς τόπους και μπορούν να χωριστούν περαιτέρω σε μεθόδους που απαιτούν μια *a priori* υπόθεση για τον αριθμό των ειδών του μελετώμενου τάξου και σε εκείνες που δεν απαιτούν τέτοιου τύπου πληροφορίες. Στη δεύτερη περίπτωση περιλαμβάνεται μόνο το υπολογιστικό πακέτο «Brownie» (O'Meara, 2010). Το «Brownie» παίρνοντας ως δεδομένο τα δέντρα γονιδίων υπολογίζει ταυτόχρονα τόσο τον αριθμό των ειδών όσο και τις φυλογενετικές τους σχέσεις, βάσει δύο πιθανών προσεγγίσεων: α) η πρώτη προσέγγιση «KC delimitation» έχει ως ζητούμενο το δέντρο των ειδών που μεγιστοποιεί την πιθανότητα να παρατηρηθούν τα δέντρα γονιδίων και βασίζεται στη μεθοδολογία που είχε προταθεί από τους Knowles και Carstens (2007), β) η δεύτερη

προσέγγιση «non-parametric delimitation» βασίζεται σε δύο παραδοχές: i) ότι το πιο συχνό γονιδιακό δέντρο θα μοιάζει με το δέντρο ειδών και ii) οι κλάδοι των γονιδιακών δέντρων που είναι κοινοί στα διαφορετικά γονίδια πιθανώς αντιστοιχούν σε κλάδους μεταξύ ειδών. Η δεύτερη υποκατηγορία μεθόδων απαιτεί μια αρχική υπόθεση για τον αριθμό των ειδών του μελετώμενου τάξου, καθώς και για τις φυλογενετικές τους σχέσεις. Σε αυτή την κατηγορία συμπεριλαμβάνεται ο αλγόριθμος μπεϋζιανής προσέγγισης «Bayesian Phylogenetics and Phylogeography, BP&P» (Yang & Rannala, 2010), ο οποίος υπολογίζει την εκ των υστέρων πιθανότητα για κάθε υπόθεση συνόλου ειδών που αποτελεί υπο-περίπτωση («nested») της αρχικής υπόθεσης. Στον υπολογισμό του συνόλου ειδών με την υψηλότερη εκ των υστέρων πιθανότητα συνυπολογίζεται η αβεβαιότητα της τοπολογίας των δέντρων γονιδίων, καθώς και η πιθανότητα της ατελούς διαλογής γενεαλογικών γραμμών λόγω προγονικού πολυμορφισμού. Επιπλέον σε αυτή την κατηγορία μπορεί να συμπεριληφθεί η συνδυαστική χρήση προγραμμάτων εκτίμησης δέντρων ειδών [π.χ. *Beast (Heled & Drummond, 2010), BEST (Liu, 2008; Liu *et al.*, 2009), STEM (Kubatko *et al.*, 2009)] υπό διαφορετικές υποθέσεις για τον αριθμό ειδών του μελετώμενου τάξου και στη συνέχεια τη χρήση κάποιου στατιστικού αξιολόγησης όπως το «Bayes Factors» (BF, Kass & Raftery, 1995), το «Likelihood Ratio Test» ή το «Akaike Information Criterion» (AICM, Raftery *et al.*, 2007).

Η καταλληλότερη μέθοδος για την οριοθέτηση του αριθμού ειδών δεν είναι η ίδια για κάθε σύνολο δεδομένων. Ο ερευνητής καλείται να επιλέξει λαμβάνοντας υπόψη παραμέτρους όπως: το είδος και τον αριθμό των γενετικών δεικτών, τον αριθμό των δειγμάτων και τη συστηματική τους σχέση καθώς και τους διαθέσιμους υπολογιστικούς πόρους. Οι μέθοδοι όπως το BP&P ή το «Brownie» λαμβάνοντας υπόψη πολλαπλούς γενετικούς δείκτες καθώς και την πιθανότητα βαθιάς σύγκλισης (O'Meara, 2010; Yang & Rannala, 2010), αποτελούν τις πιο ρεαλιστικές από τις διαθέσιμες μεθόδους. Ωστόσο, η αυξανόμενη υπολογιστική τους πολυπλοκότητα γίνεται έως και απαγορευτική για σύνολα δεδομένων τα οποία αποτελούνται από μεγάλο αριθμό ειδών (>50) ή γενετικών δεικτών (Manual Bp&P, Rannala & Yang, 2013). Αρνητικός παράγοντας για την χρήση τόσο αυτών όσο και των μεθόδων PTP και GMYC, που βασίζονται σε στοίχιση των αλληλουχιών, αποτελεί και η μεγάλη συστηματική απόκλιση των μελετώμενων τάξων (Casiraghi *et al.*, 2010). Σε αδρές γραμμές, η χρήση μεθόδων που βασίζονται σε γενετικές αποστάσεις είναι κατάλληλες

Κεφάλαιο 3^ο : Φυλογενετική προσέγγιση του αριθμού ειδών του γένους *Mesalina*

για σύνολα δεδομένων που αποτελούνται από ένα γενετικό τόπο και πολλά τάξα που μπορεί να είναι ταξινομικά αποκλίνοντα (Human Microbiome Project Consortium, 2012; Yu *et al.*, 2012), ενώ η χρήση μεθόδων που βασίζεται σε φυλογενετικές σχέσεις ενδείκνυται για μελέτες που αφορούν συστηματικές μονάδες κατώτερες του γένους βάσει ενός ή πολλαπλών γενετικών δεικτών (Leaché & Fujita, 2010).

Πίνακας 3.1.: Συνοπτική παρουσίαση μερικών χαρακτηριστικών των κύριων μεθόδων οριοθέτησης ειδών, βάσει των αντίστοιχων δημοσιεύσεων και εμπειρικών εκτιμήσεων.

	Χαρακτηριστικά Μεθόδων					Αριθμός ειδών/δειγμάτων που μπορεί να αναλυθούν	
	Αριθμός γενετικών δεικτών	Ομαδοποίηση σύμφωνα με	<i>a priori</i> γνώση αριθμού ειδών	Υπολογιστικές απαιτήσεις	Ταξονομική συνάφεια		
Ενδεικτικές Μέθοδοι	PTP	ένας	εξελικτικές σχέσεις	δεν απαιτείται	μέτριες: εξαρτάται από τις ανάγκες προετοιμασίας των δεδομένων στοιχισή/εκτίμηση φυλογενετικών σχέσεων	μέτρια	μέτριος / πολύ μεγάλος σε συνδυασμό με « <i>Evolutionary placemet Algorithm</i> »
	GMYC	ένας	εξελικτικές σχέσεις	δεν απαιτείται	μέτριες: εξαρτάται από τις ανάγκες προετοιμασίας των δεδομένων στοιχισή/εκτίμηση φυλογενετικών σχέσεων / βαθμονόμηση φυλογενετικού δέντρου	μέτρια	μέτριος
	CROP	ένας	γενετικές αποστάσεις	δεν απαιτείται	χαμηλές	χαμηλή	πολύ μεγάλος
	UCLUST	ένας	γενετικές αποστάσεις	δεν απαιτείται	χαμηλές	χαμηλή	πολύ μεγάλος
	ABGD	ένας	γενετικές αποστάσεις	δεν απαιτείται	χαμηλές	χαμηλή	πολύ μεγάλος
	Brownie1/Brownie2	πολλοί	εξελικτικές σχέσεις	δεν απαιτείται / απαιτείται	υψηλές	μέτρια	μικρός
	BP&P	πολλοί	εξελικτικές σχέσεις	απαιτείται	υψηλές	υψηλή	μικρός

3.1.3. Συστηματική του γένους *Mesalina*

Ο Boulenger (1921) πρότεινε, χωρίς ωστόσο να γίνει αποδεκτό, την υποδιαίρεση του γένους *Eremias* σε «τομείς» («*sections*»), ένας από τους οποίους ήταν η *Mesalina*. Το τάξο αναγνωρίστηκε σε επίπεδο γένους από τον Szczerbak (1989), ο οποίος ταξινόμησε τα αφρικανικής καταγωγής είδη (που ως τότε εμπεριέχονταν στο γένος *Eremias*) σε πέντε γένη, ένα από τα οποία ήταν η *Mesalina* και της απέδωσε 13 είδη. Σε μια αναθεώρηση των αφρικανικής καταγωγής

Lacertidae, ο Mayer (1989) επισήμανε ότι ο Szczerbak (1974) δεν είχε λάβει υπόψη του τη δουλειά του Balletto (1968), ο οποίος πρότεινε τα είδη της Β. Αφρικής (εκείνα που φέρουν ευθύ κολάρο) να συμπεριληφθούν στο υπογένος *Pedioplanis*, το οποίο σήμερα είναι ευρέως αναγνωρισμένο σε επίπεδο γένους. Κατά συνέπεια τα 13 είδη της *Mesalina*, κατά Szczerbak (1974), μειώθηκαν σε έξι.

Λίγο αργότερα περιγράφηκε από το Ομάν ένα καινούριο είδος η *M. ayunensis* (Arnold, 1980). Σε αναθεώρηση του γένους *Mesalina*, βάσει της δομής του ημιπέους των ειδών, το υποείδος *M. g. watsonana* και τρία της *M. olivieri* (*M. o. simoni*, *M. o. balfouri* and *M. o. martini*) αναγνωρίστηκαν σε επίπεδο είδους (Arnold, 1986c), ενώ προτάθηκε η διαίρεση του γένους σε δύο ομάδες 1) *M. olivieri*, *M. simoni*, *M. pasteuri*, *M. martini* και 2) *M. guttulata*, *M. watsonana*, *M. adramitana*, *M. ayunensis*, *M. balfouri*, *M. brevirostris*, *M. rubropunctata*. Σε μια νέα αναθεώρηση την ίδια χρονιά προτάθηκε η διάκριση του γένους σε πέντε μονοφυλετικές ομάδες: 1) *M. guttulata*, *M. watsonana*, 2) *M. olivieri*, *M. simoni*, *M. pasteuri*, *M. martini*, 3) *M. brevirostris*, 4) *M. rubropunctata* and 5) *M. adramitana*, *M. ayunensis* (Arnold, 1986b). Σε μεταγενέστερες εργασίες, περιγράφηκαν τα νέα είδη: *Mesalina ercolinii* από τη Σομαλία (Arnold *et al.*, 1998), *M. kuri* από το Αρχιπέλαγος Σοκότρα της Υεμένης (Joger & Mayer, 2002) και *M. bahaeldini* από το όρος Σινά στην Αίγυπτο (Segoli *et al.*, 2002). Με αυτές τις προσθήκες, ο αριθμός των ειδών που συγκαταλέγονται στο γένος έφτασαν τα δεκατέσσερα.

Παράλληλα εκτός από τη διάκριση του γένους σε πέντε ομάδες (Arnold, 1986b) είναι γνωστά από τη βιβλιογραφία α) η συγγένεια των ειδών *M. adramitana*, *M. balfouri* και *M. kuri* (Joger & Mayer, 2002) β) η παραφυλία της *M. guttulata* όσο αφορά τη *M. bahaeldini* και ο υψηλός γενετικός πολυμορφισμός της *M. guttulata* και της *M. brevirostris* (Karli *et al.*, 2008). Από το σύνολο των παραπάνω ειδών, έχει υποτεθεί χωρίς ωστόσο να έχει διερευνηθεί ότι τα είδη *M. guttulata*, *M. olivieri* και *M. brevirostris* πιθανώς αποτελούν συμπλέγματα ειδών (Disi *et al.*, 2001; Moravec, 2004; Baha El Din, 2006; Mayer *et al.*, 2006; Karli *et al.*, 2008). Παρά την πληθώρα ερευνητών που έχει απασχολήσει το γένος, ακόμα επικρατεί σύγχυση όσο αφορά τη μορφολογική αναγνώριση και τη συστηματική των ειδών. Χαρακτηριστικό μπορεί να θεωρηθεί ότι σε τρεις σημαντικές ερπετολογικές συλλογές, του Βρετανικού Μουσείου, του Ζωολογικού Μουσείου της Βόννης και του Ερευνητικού κέντρου CEFÉ, υπάρχουν κατατεθειμένα δείγματα τα οποία είναι χαρακτηρισμένα ως

Mesalina sp. (δείγματα που δεν έχουν αναγνωριστεί σε επίπεδο είδους) ή ως *Mesalina* sp. nov. (δείγματα που έχουν αναγνωριστεί ως νέα είδη αλλά δεν έχουν περιγραφεί).

3.1.4. Στόχοι

Η μελέτη τόσο μοριακών (παρούσα διατριβή, Karli et al., 2008; Šmíd & Frynta, 2012) όσο και μορφολογικών δεικτών σε πληθυσμούς του γένους *Mesalina* (Arnold, 1986c; Mayer et al., 2006) υποδεικνύει την ανάγκη αναθεώρησης του αριθμού των ειδών του. Σκοπός του τρίτου κεφαλαίου της παρούσας διατριβής ήταν η πρόταση εναλλακτικών υποθέσεων για τον αριθμό των ειδών του γένους και η συγκριτική αξιολόγησή τους σε σύγκριση με τον αριθμό των ειδών της *Mesalina* βάσει της τρέχουσας συστηματικής.

Στο πλαίσιο αυτό επιλέχθηκε η προσέγγιση του αριθμού ειδών βάσει μεθόδων που λαμβάνουν υπόψη τους την εξελικτική ιστορία του μελετώμενου τάξου. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν οι αλγόριθμοι PTP, GMYC καθώς και η μέθοδος BP&P. Η εφαρμογή των μεθόδων PTP, GMYC πραγματοποιήθηκε έτσι ώστε να λαμβάνονται υπόψη δύο επιπλέον παράγοντες που αγνοούνταν στην παραδοσιακή τους εφαρμογή: 1) Στην χρήση των δύο μεθόδων γίνεται η παραδοχή ότι το γονιδιακό δέντρο που χρησιμοποιείται ταυτίζεται με το δέντρο των ειδών. Στην παρούσα διατριβή χρησιμοποιήθηκαν πέντε γενετικοί τόποι (δύο μιτοχονδριακοί και τρεις πυρηνικοί), τέσσερις από τους οποίους είναι ανεξάρτητα κληρονομήσιμοι, και πραγματοποιήθηκε εφαρμογή των αλγορίθμων ανεξάρτητα σε κάθε γονίδιο. Η τελική διαμόρφωση του συνόλου ειδών διαμορφώθηκε βάσει των αποτελεσμάτων και των τεσσάρων ανεξάρτητων γενετικών τόπων. 2) Επιπλέον, ενώ συνήθως η χρήση των αλγορίθμων πραγματοποιείται σε μια σημειακή εκτίμηση της εκάστοτε φυλογένεσης, στην παρούσα διατριβή εφαρμόστηκε σε 10^3 φυλογενετικές εκτιμήσεις για τον κάθε γενετικό τόπο. Με τον τρόπο αυτό λαμβάνεται υπόψη η αβεβαιότητα εκτίμησης των δέντρων γονιδίων και αποφεύγονται λανθασμένες αναγνωρίσεις ειδών. Τέλος, λαμβάνοντας υπόψη την επικρατέστερη υπόθεση για τον αριθμό των ειδών του γένους σκοπός ήταν η εκτίμηση των φυλογενετικών σχέσεων του δέντρου ειδών, λαμβάνοντας υπόψη τους πέντε διαθέσιμους γενετικούς τόπους.

3.2. Υλικά και Μέθοδοι

3.2.1. Δείγματα – PCR – αλληλούχηση

Οι εργαστηριακές αναλύσεις που αναφέρονται στην παρούσα παράγραφο, εκτός της διαδικασίας αλληλούχησης, πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Μοριακής Συστηματικής του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας Κρήτης. Η διαδικασία αλληλούχησης πραγματοποιήθηκε από την εταιρεία «Cellular and molecular immunological applications» (CEMIA) που εδρεύει στη Λάρισα.

Για την διεξαγωγή των αναλύσεων του παρόντος κεφαλαίου επιλέχθηκαν 52 δείγματα που αντιστοιχούν σε 12 από τα 14 περιγεγραμμένα είδη του γένους καθώς και ένα μορφότυπο (Παράρτημα I, Εικόνα 3.2). Τα δείγματα αυτά αλληλουχήθηκαν για τα δύο επιπλέον γονίδια «Kinesin Family member 24» (KIF24) και «Natural Killer-Tumor Recognition» (NKTR). Για τον πολλαπλασιασμό των δύο γονιδίων χρησιμοποιήθηκαν οι εκκινητές που περιγράφονται στους Portik et al. (2010, 2011) και Townsend et al. (2011) αντίστοιχα (Πίνακας 3.1). Για τον καθορισμό των συνθηκών πολλαπλασιασμού τους πραγματοποιήθηκε έλεγχος τόσο σε διαφορετικές συγκεντρώσεις MgCl₂ όσο και σε διαφορετικές θερμοκρασίες για την σύνδεση του εκκινητή με το DNA εκμαγείο («annealing») και για τους δύο γενετικούς τύπους. Οι συνθήκες πολλαπλασιασμού που επιλέχθηκαν για κάθε γονίδιο παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.2.

Πίνακας 3.1.: Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν για τα γονίδια KIF24 και NKTR

Γονίδιο	Εκκινητής	Αλληλουχία Εκκινητή	Μήκος	Αναφορά
KIF24	KIF24f	5'-SAA ACG TRT CTC CMA AAC GCA TCC-3'	~521bp	Portik et al., 2010
	KIF24r	5'-WGG CTG CTG RAA YTG CTG GTG-3		Portik et al., 2010
NKTR	NKTRf19	5'-GAT GAC ATG GAG ATY TGY ACT CC-3'	~617bp	Townsend et al., 2011
	NKTRr18	5'-CTY CTD GAY CGA CTT CTT GAG TGA CT-3'		Townsend et al., 2011

Κεφάλαιο 3^ο : Φυλογενετική προσέγγιση του αριθμού ειδών του γένους *Mesalina*

Πίνακας 3.2.: Οι συνθήκες της PCR που εφαρμόστηκαν για τον πολλαπλασιασμό των γονιδίων στόχων.

Γονίδιο	Συνθήκες			Συγκέντρωση MgCl ₂
	Στάδιο	Θ°C	Χρόνος	
NKTR	Αποδιάταξη	94	60 sec	3mM
	Σύνδεση	55	60 sec	
	Επιμήκυνση	72	60 sec	
KIF24	Αποδιάταξη	94	60 sec	3mM
	Σύνδεση	51	60 sec	
	Επιμήκυνση	72	60 sec	

Σε περιπτώσεις δειγμάτων που το προϊόν της αρχικής PCR δεν ήταν επαρκές για το στάδιο της αλληλούχησης και/ή πολλαπλασιάζονταν κι άλλοι γενετικοί τόποι (παραπροϊόντα), χρησιμοποιήθηκε η τεχνική «re-amplification» (δηλαδή, εκ νέου ενίσχυση του γονιδίου στόχου). Για την πραγματοποίηση της τεχνικής ακολουθήθηκαν τα εξής βήματα: 1) ηλεκτροφόρηση του προϊόντος της αρχικής PCR σε πήκτωμα αγαρόζης, 2) απομόνωση της ζώνης (θραύσματα DNA ορισμένου μεγέθους) ή σε περίπτωση που η ζώνη δεν ήταν ορατή, απομόνωση του σημείου όπου αναμένονταν η ύπαρξη της, 3) απομάκρυνση της αγαρόζης με αυτοσχέδιο φίλτρο από διηθητικό χαρτί και αποθήκευση της υδατινής φάσης 4) πραγματοποίηση PCR, χρησιμοποιώντας ως εκμαγείο 1μl από την υδατινή φάση του προηγούμενου βήματος. Η συγκεκριμένη τεχνική είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για μελέτες με χρήση μουσειακών δειγμάτων αφού έχει ως αποτέλεσμα την σημαντική ενίσχυση του γονιδίου στόχου με την χρήση ελάχιστου γενωμικού DNA (1μl).

Τα προϊόντα της PCR (ή της «re-amplification» PCR) και για τους δύο πυρηνικούς τόπους, καθαρίστηκαν από παραπροϊόντα και περίσσεια αντιδραστηρίων, με τη χρήση του kit «NucleoSpin[®] Gel and PCR Clean-up» (Macherey-Nagel). Στη συνέχεια ο προσδιορισμός των αλληλουχιών πραγματοποιήθηκε από την εταιρεία αλληλούχησης CEMIA (Λάρισα), σε αυτοματοποιημένη συσκευή αλληλούχησης. Οι εργαστηριακές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν επιτυχώς για 52 δείγματα του γένους *Mesalina* και για οχτώ δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν ως παραομάδες (επτά *Gallotia spp.* και ένα *Eremias spp.*).

3.2.2. Φυλογενετικές αναλύσεις

Οι αναλύσεις που περιγράφονται στην παρούσα παράγραφο πραγματοποιήθηκαν σε έναν από τους servers [hitssv109 και hitssv106 με τέσσερις επεξεργαστές (12 πυρήνες ανά επεξεργαστή) και 256 GB μνήμη RAM] της ομάδας Scientific Computing Group στη Χαϊδελβέργη, ανάλογα με τη διαθεσιμότητα, καθώς και στον προσωπικό μου υπολογιστή [τέσσερις επεξεργαστές (δύο πυρήνες ανά επεξεργαστή) 4 GB μνήμη RAM].

3.2.2.1. Στοιχισή αλληλουχιών - Διαχωρισμός απλοτύπων

Για την εκτίμηση του αριθμού των ειδών της *Mesalina* δημιουργήθηκαν τέσσερα σύνολα δεδομένων, ένα ανά γενετικό τόπο [μιτοχονδριακά γονίδια (cytochrome *b* και 16S ribosomal DNA), β -fibint7, KIF24 και NKTR]. Όλα τα σύνολα δεδομένων αποτελούνται από κοινά δείγματα και για τα πέντε γονίδια (52 του γένους *Mesalina*, μία του γένους *Eremias* και επτά του γένους *Gallotia*).

Η στοιχισή των δύο μιτοχονδριακών γονιδίων και του β -fibint7 πραγματοποιήθηκε όπως περιγράφεται στο προηγούμενο κεφάλαιο. Για τη στοιχισή των δύο νέων γονιδίων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα MAFFT v.6 (Katoh & Toh, 2008) (<http://align.bmr.kyushu-u.ac.jp/mafft/online/server/>). Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα Phase v 2.1.1 (Stephens *et al.*, 2001; Stephens & Donnelly, 2003; Stephens & Scheet, 2005) προκειμένου να εκτιμηθούν οι απλότυποι, στις περιπτώσεις που υπήρχαν περισσότερες από μια ετερόζυγες θέσεις. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε μόνο για το μέρος των αλληλουχιών που ήταν κοινό για όλα τα δείγματα, ενώ δεκτή γινόταν η επίλυση μιας ετεροζυγωτίας όταν η πιθανότητα ήταν πάνω από 90%. Συμπληρωματικά με το πρόγραμμα Phase χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SeqPhase (Flot, 2010) (<http://seqphase.mpg.de/seqphase/>), για την αυτόματη μορφοποίηση των αρχείων πριν και μετά την ανάλυση.

3.2.2.2. Επιλογή μοντέλου

Προκειμένου να προχωρήσουμε στη διερεύνηση των φυλογενετικών σχέσεων υπολογίστηκε το καταλληλότερο μοντέλο νουκελοτιδικής υποκατάστασης για κάθε

γενετικό τόπο. Ο προσδιορισμός του καταλληλότερου μοντέλου έγινε όπως περιγράφεται και στο προηγούμενο κεφάλαιο με τη χρήση του προγράμματος jModelTest (v.2.1.1) (Darriba *et al.*, 2012). Συνολικά αξιολογήθηκαν 18 μοντέλα βάσει του «Bayesian Information Criterio» (BIC). Σε οποιαδήποτε αλλαγή είτε της στοίχισης είτε του αριθμού των αλληλουχιών για την εκάστοτε ανάλυση το καταλληλότερο μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης υπολογιζόταν εξαρχής.

3.2.2.3. Εκτίμηση δέντρων γονιδίων («Gene Trees»)

Φυλογενέσεις

Για την εκτίμηση των δέντρων γονιδίων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα MrBayes (v3.1.2) (Ronquist *et al.*, 2005). Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε τέσσερις φορές ανεξάρτητα για κάθε γενετικό τόπο, με οχτώ αλυσίδες για $5 \cdot 10^6$ γενεές. Ανά 100 γενεές αποθηκευόταν στον φάκελο ένα δέντρο καταλήγοντας σε ένα σύνολο $5 \cdot 10^4$ δέντρων, από τα οποία 10% απορρίφθηκε ως «burnin». Από τα δέντρα που απέμειναν κατασκευάστηκε το συναινετικό δέντρο βάση του κανόνα της πλειοψηφίας («majority rule consensus»). Επιπλέον, οι φυλογενετικές σχέσεις εκτιμήθηκαν και με βάση το κριτήριο της Μέγιστης Πιθανοφάνειας, ανεξάρτητα για κάθε γενετικό τόπο. Η εκτίμηση πραγματοποιήθηκε με χρήση του προγράμματος RAxML (Stamatakis, 2014) υπό το μοντέλο GTRGAMMA ενώ για τον στατιστικό έλεγχο της ισχύος των κλάδων που προέκυψαν, πραγματοποιήθηκαν 10^3 ψευδοεπαναλήψεις («bootstraps replicates»).

Βαθμονομημένες φυλογενέσεις

Για την εκτίμηση βαθμονομημένων («ultrametric») δέντρων γονιδίων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα Beast v. 1.8.0 (Drummond & Rambaut, 2007). Προκειμένου να ερευνηθεί επαρκώς ο χώρος των πιθανών λύσεων και για να εξασφαλιστεί η ανεύρεση των καλύτερων, η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για $2 \cdot 10^6$ γενεές, 25 ανεξάρτητες φορές. Ανά 10^3 γενεές αποθηκευόταν στον φάκελο ένα δέντρο καταλήγοντας σε ένα σύνολο $2 \cdot 10^3$ δέντρων για κάθε ανάλυση. Για κάθε γονίδιο χρησιμοποιήθηκε το κατάλληλο μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης όπως επιλέχθηκε από το πρόγραμμα jModeltest. Οι υπόλοιπες ρυθμίσεις που διαφοροποιήθηκαν από τις προεπιλεγμένες του προγράμματος είναι: Clock model:

Uncorrelated Lognormal Clock, Tree model: Yule Process, Prior Distribution για την παράμετρο $uclid.mean: G(0,001, 1000)$. Τέλος, χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα *treeannotator* για την επιλογή του δέντρου με τη μέγιστη αθροιστική συχνότητα εμφάνισης των κλάδων του, στο σύνολο των δέντρων που συλλέχθηκαν («*maximum clade credibility tree*»). Σε αντίθεση με το συναινετικό δέντρο πλειοψηφίας («*majority rule consensus tree*») που υπολογίζεται σε άλλα προγράμματα μπεϋζιανής συμπερασματολογίας το τελικό δέντρο που παράγεται από το BEAST είναι ένα από τα δέντρα που έχουν συλλεχθεί από την ανάλυση.

3.2.3. Θεώρηση του αριθμού ειδών

Η θεώρηση του αριθμού των ειδών της *Mesalina* βασίστηκε σε τρεις διαφορετικές προσεγγίσεις: 1) την τρέχουσα συστηματική για το γένος, σύμφωνα με την οποία αναγνωρίζονται 14 μορφολογικά είδη 2) τη μέθοδο «Mixed Yule Coalescent» και 3) την μέθοδο «Poisson Tree Process».

3.2.3.1. Μέθοδος Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC)

Η μέθοδος GMYC επιτρέπει την οριοθέτηση ανεξάρτητα εξελισσόμενων γενεαλογικών γραμμών, βάσει ενός φυλογενετικού δέντρου. Ο όρος «ανεξάρτητα εξελισσόμενο», βασίζεται στο γεγονός ότι οι νέες μεταλλάξεις που προκύπτουν σε ένα είδος δεν είναι εύκολο (μόνο στην περίπτωση οριζόντιας μεταφοράς γενετικού υλικού) να εξαπλωθούν σε ένα άλλο είδος (Fujisawa & Barraclough, 2013). Η μέθοδος στηρίζεται στην πεποίθηση ότι διακριτά γενετικά συμπλέγματα διαχωρίζονται μεταξύ τους από μακρύτερους κλάδους (Barraclough *et al.*, 2003). Κατά συνέπεια οριοθετούνται τέτοια γενετικά συμπλέγματα, βρίσκοντας το σύνολο των κόμβων που ορίζουν καλύτερα τη μετάβαση από ενδο- σε δια-ειδικές σχέσεις (Pons *et al.*, 2006; Fontaneto *et al.*, 2007; Fujisawa & Barraclough, 2013).

Υπάρχουν δυο διαθέσιμες εφαρμογές της μεθόδου. Σύμφωνα με την πρώτη χρησιμοποιείται μια σημειακή εκτίμηση των φυλογενετικών σχέσεων του υπό μελέτη τάξου και επιλέγεται η λύση με την μέγιστη πιθανοφάνεια (Fujisawa & Barraclough, 2013). Το μειονέκτημα της προσέγγισης αυτής είναι ότι θεωρεί πως το εκτιμώμενο

δέντρο γονιδίων είναι και το πραγματικό. Η αδυναμία αυτή υπήρξε η αφορμή για την ανάπτυξη μιας Μπεϋζιανής προσέγγισης της μεθόδου (Reid & Carstens, 2012). Η προσέγγιση αυτή λαμβάνει υπόψη την πιθανότητα λάθους στην εκτίμηση της φυλογένεσης, χρησιμοποιώντας όχι μία αλλά ένα σύνολο εκτιμήσεων του γονιδιακού δέντρου.

Στην παρούσα μελέτη εφαρμόσαμε την μπεϋζιανή προσέγγιση στα τέσσερα ανεξάρτητα γονιδιακά δέντρα (μιτοχονδριακό, β -fibin7, NKTR, KIF24). Για κάθε ένα από αυτά λήφθηκαν υπόψη 10^3 βαθμονομημένα φυλογενετικά δέντρα, τα οποία παρήχθησαν από το πρόγραμμα Beast όπως περιγράφεται νωρίτερα. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για $5 \cdot 10^4$ γενεές σε κάθε μία από τις 10^3 φυλογενέσεις. Κάθε 100 γενεές διατηρούνταν ένα δείγμα, ενώ το 80% απορρίφθηκε ως «burnin» ακολουθώντας της οδηγίες των συγγραφέων. Ως αποτέλεσμα συλλέχθηκαν 10^4 λύσεις για κάθε γονίδιο και $4 \cdot 10^4$ για το σύνολο των διαθέσιμων γονιδίων.

3.2.3.2. Μέθοδος Poisson Tree Process (PTP)

Το PTP είναι μια πρόσφατα περιγραφείσα μέθοδος διάκρισης ενδο- και δια-ειδικής διαφοροποίησης βάση φυλογενετικών σχέσεων. Σε αντίθεση με το GMYC δεν απαιτείται η χρήση βαθμονομημένης φυλογένεσης ενώ βασίζεται στην πεποίθηση ότι ο αναμενόμενος αριθμός υποκαταστάσεων μεταξύ ειδών θα είναι σημαντικά μεγαλύτερος απ' ότι εντός των ειδών (Zhang et al., 2013).

Για την εκτίμηση της τοπολογικής ανασφάλειας η μέθοδος εφαρμόστηκε σε 10^3 φυλογενέσεις για τον κάθε γενετικό τόπο. Οι φυλογενέσεις που χρησιμοποιήθηκαν, εκτιμήθηκαν με το πρόγραμμα MrBayes, το οποίο εκτελέστηκε τέσσερις ανεξάρτητες φορές, υπό τις εξής παραμέτρους: $5 \cdot 10^6$ γενεές, 8 αλυσίδες ενώ συλλέγονταν $1/10^3$ δείγματα. Για κάθε γονίδιο χρησιμοποιήθηκαν οι τελευταίες 250 φυλογενέσεις από κάθε ανεξάρτητη ανάλυση [αφού είχε διαπιστωθεί σύγκλιση των αλυσίδων («split frequencies» < 0,01)] δημιουργώντας ένα σύνολο 10^3 φυλογενέσεων για κάθε γενετικό τόπο. Κατά συνέπεια η εφαρμογή του PTP στο σύνολο των 10^3 φυλογενέσεων οδήγησε στην παραγωγή 10^3 εκτιμήσεων αριθμού ειδών για κάθε γονίδιο και $4 \cdot 10^3$ για το σύνολο των διαθέσιμων γονιδίων.

3.2.3.3. Επιλογή συχνότερου συνόλου ειδών

Περιγραφή προβλήματος

Από το σύνολο των εκτιμήσεων ειδών που προέκυψε από τους δύο αλγορίθμους στόχος ήταν να επιλεγθεί σε κάθε περίπτωση ο συνδυασμός που προκύπτει στη μεγαλύτερη αθροιστική συχνότητα. Η εύρεση αυτού του συνδυασμού αποτελεί ιδιαίτερα απαιτητικό υπολογιστικά πρόβλημα, γνωστό στον κλάδο της θεωρητικής πληροφορικής ως «Exact Set Cover» (Karp, 1972) (Πλαίσιο 3.1.). Στην ίδια κατηγορία ανήκουν προβλήματα όπως το «Sudoku» και το «Pentomino» (Knuth, 2000).

Πλαίσιο 3.1: Περιγραφή του προβλήματος «Exact Set Cover» και «Συνόλου Ειδών»

Ορισμός προβλήματος απόφασης Exact Set Cover (Karp, 1972):

Δεδομένα εισόδου

- Σύνολο δειγμάτων $\mathcal{X} = \{1, 2, \dots, n\}$ και
- Τα σύνολα \mathcal{U} που αποτελούνται από υποσύνολα του του \mathcal{X}

Στόχος

Να απαντηθεί με «ναι» ή «όχι» το ερώτημα «Υπάρχει συνδυασμός συνόλων δειγμάτων, C , που αποτελείται από σύνολα $S \in \mathcal{U}$, έτσι ώστε:

1. $\forall T \in C : T \neq \emptyset$, το κάθε σύνολο που ανήκει στον συνδυασμό C περιέχει τουλάχιστον ένα στοιχείο,
2. $\forall K, T \in C : K \cap T = \emptyset$, κανένα ζευγάρι συνόλων (K, T) που ανήκει στον συνδυασμό C δεν έχει κοινό δείγμα,
3. $\cup_{T \in C} T = X$, η ένωση των συνόλων του συνδυασμού C να ισοδυναμεί με το σύνολο X

Ορισμός Προβλήματος συνόλου ειδών (όμοιο με το πρόβλημα βελτιστοποίησης

Exact Set cover):

Δεδομένα εισόδου

- Σύνολο δειγμάτων $\mathcal{X} = \{1, 2, \dots, n\}$ και
- Τα σύνολα ειδών \mathcal{U} που αποτελούν υποσύνολα δειγμάτων του \mathcal{X}
- Συνάρτηση κόστους $c: \mathcal{U} \rightarrow \mathbb{R}^+$ [π.χ. $c(s_3) = 5$ όπου $s_3 = \{1, 2, 5\} \in \mathcal{U}$]

Στόχος

Να βρεθεί ο συνδυασμός συνόλων δειγμάτων, C , που αποτελείται από σύνολα $S \in \mathcal{U}$, έτσι ώστε:

1. $\forall T \in C : T \neq \emptyset$, το κάθε σύνολο που ανήκει στον συνδυασμό C περιέχει τουλάχιστον ένα στοιχείο,
2. $\forall_{K,T} \in C : K \cap T = \emptyset$, κανένα ζευγάρι συνόλων (K, T) που ανήκει στον συνδυασμό C δεν έχει κοινό δείγμα,
3. $\sum_{T \in C} c(T) = \max$, το άθροισμα του κόστους $c(T)$, των συνόλων που ανήκουν στον συνδυασμό C είναι το μέγιστο δυνατό και
4. $\cup_{T \in C} T = X$, η ένωση των συνόλων του συνδυασμού C να ισοδυναμεί με το σύνολο X

Τα δύο προβλήματα έχουν δύο βασικές διαφορές: 1) Στην πρώτη περίπτωση οποιοδήποτε σύνολο C αποτελεί λύση του προβλήματος ενώ στη δεύτερη περίπτωση μόνο το C με την υψηλότερη τιμή κόστους αποτελεί λύση και 2) Στη δεύτερη περίπτωση είναι γνωστός ο ελάχιστος αριθμός των πιθανών συνδυασμών που μπορούν να δώσουν το C , ο οποίος ισούται με τον αριθμό των εκτιμήσεων ειδών που έχουν πραγματοποιηθεί.

Ανήκει στα «προβλήματα απόφασης», δηλαδή, τα προβλήματα που μπορούν να απαντηθούν με «ναι» ή «όχι» ή μπορούν να μετατραπούν σε ισοδύναμα προβλήματα που μπορούν να απαντηθούν με «ναι» ή «όχι». Το πρόβλημα μπορεί να μετατραπεί σε «πρόβλημα βελτιστοποίησης» αν η ζητούμενη λύση πληροί κάποιο κριτήριο («καλύτερη» λύση). Τόσο τα προβλήματα «απόφασης» όσο και τα προβλήματα «βελτιστοποίησης» μπορούν να χαρακτηριστούν σύμφωνα με τον βαθμό δυσκολίας επίλυσής τους (μετρούμενη σε υπολογιστικό χρόνο που απαιτείται για την επίλυσή τους): 1) «Polynomial» (P), περιλαμβάνει τα προβλήματα που επιλύονται από έναν αλγόριθμο σε πολυωνυμικό χρόνο¹² και την 2) «Non-deterministic Polynomial» (NP), που διαιρείται σε δύο υποκατηγορίες προβλημάτων, εκείνα που δεν επιλύονται αλλά επαληθεύονται σε πολυωνυμικό χρόνο («NP-complete») και εκείνα που ούτε επιλύονται ούτε επαληθεύονται σε πολυωνυμικό χρόνο («NP-hard»).

¹² **Χρονική πολυπλοκότητα:** Στη θεωρητική πληροφορική ο χρόνος που απαιτείται για την εκτέλεση ενός αλγορίθμου εκφράζεται ως συνάρτηση των υπολογιστικών βημάτων που απαιτούνται και του μεγέθους των δεδομένων εισόδου. Για παράδειγμα οι υπολογισμοί που πρέπει να πραγματοποιηθούν από ένα αλγόριθμο για δεδομένα εισόδου μεγέθους n είναι $2n^3 + 4n^2 + 5$. Ένας αλγόριθμος εκτελείται σε **πολυωνυμικό χρόνο** όταν εκφράζεται ως πολυώνυμο της μεταβλητής του n . Ωστόσο συνήθως αγνοούνται οι συντελεστές, οι σταθερές και οι όροι μικρότερου βαθμού, και γίνεται αναφορά στην ασυμπτωματική συμπεριφορά του αλγορίθμου [δηλαδή, όταν $n \rightarrow \infty$]. Στο συγκεκριμένο παράδειγμα, η ασυμπτωματική χρονική πολυπλοκότητα θα ήταν $\theta(n^3)$.

Ο πυρήνας των υπολογιστικών προβλημάτων του κλάδου της φυλογένεσης αποτελείται από «NP-hard» και «NP-complete» προβλήματα (π.χ., Felsenstein, 2004). Το «Exact Set Cover» έχει αποδειχθεί ότι ανήκει στην κατηγορία «NP-complete» ως «πρόβλημα απόφασης» και στα «NP-hard» ως «πρόβλημα βελτιστοποίησης», όπου κατεπέκταση μπορούμε να θεωρήσουμε ότι ανήκει και το πρόβλημα του «συνόλου ειδών».

Για την ακριβή επίλυση [δηλαδή, εξέταση όλων των πιθανών λύσεων και η επιλογή της καλύτερης («brute-force»)] «NP-hard» προβλημάτων, πολύ συχνά μπορεί να απαιτούνται εκατομμύρια ή τρισεκατομμύρια χρόνια χρησιμοποιώντας όλη την διαθέσιμη υπολογιστική δύναμη του πλανήτη. Υπάρχουν τουλάχιστον τρεις τρόποι αντιμετώπισης προβλημάτων αυτής της κατηγορίας. Υπάρχουν περιπτώσεις για τις οποίες μπορεί ο χρόνος επίλυσης να είναι εκθετικά αυξανόμενος ωστόσο παραμένει διαχειρίσιμος, όπως παραδείγματος χάρη: 1) τα δεδομένα εισόδου («input») είναι περιορισμένα [π.χ. οι συνδυασμοί όλων των πιθανών φυλογενετικών δέντρων για 6 τάξα είναι 945 ενώ για 20 είναι $\sim 8 \cdot 10^{42}$, στην πρώτη περίπτωση μπορούν να εξεταστούν όλοι οι πιθανοί συνδυασμοί, ενώ στη δεύτερη όχι (Felsenstein, 2004)], 2) τα δεδομένα εισόδου έχουν κάποια χαρακτηριστικά ή είναι επιδεκτικά κάποιας προεπεξεργασίας ώστε να μπορούν να επιλυθούν σε λογικό χρόνο, και 3) σε περίπτωση που τα δεδομένα εισόδου δεν ανήκουν σε μία από τις δύο προηγούμενες κατηγορίες, χρησιμοποιούνται προσεγγιστικοί αλγόριθμοι («approximation algorithms») οι οποίοι μπορούν να βρουν σχεδόν βέλτιστες λύσεις («near-optimal») (Cormen *et al.*, 2001). Τα περισσότερα προβλήματα του χώρου της φυλογένεσης (π.χ. βελτιστοποίηση φυλογενετικών σχέσεων, παραμέτρων εξελικτικών μοντέλων, χρόνων απόσχισης) ανήκουν στα «NP-hard» προβλήματα και συνήθως επιλύονται με προσεγγιστικούς αλγόριθμους.

Ωστόσο υπάρχουν προβλήματα για τα οποία δεν μπορεί να υπάρξει εκτίμηση της ακρίβειας του αποτελέσματος από κανένα προσεγγιστικό αλγόριθμο. Μια από τις δυσκολότερες κατηγορίες τέτοιων προβλημάτων είναι γνωστά ως «APX-hard». Για τα προβλήματα αυτά δεν μπορεί να βρεθεί ούτε προσεγγιστική λύση σε ασυμπτωματικά πολωνυμικό χρόνο, ούτε για το μέγεθος των δεδομένων εισόδου ούτε για τον συντελεστή ακρίβειας του προσεγγιστικού αλγορίθμου. Στην κατηγορία αυτή ανήκει το πρόβλημα βελτιστοποίησης του προβλήματος «Exact Set Cover» (Chan & Grant, 2011) και κατά συνέπεια του «συνόλου ειδών».

Τρόπος αντιμετώπισης

Όπως ειπώθηκε νωρίτερα, το πρόβλημα του «συνόλου ειδών» είναι «APX-hard», που σημαίνει ότι σε πολυωνυμικό χρόνο δεν μπορεί να βρεθεί ούτε ακριβής ούτε κατά προσέγγιση λύση. Ωστόσο η φύση του προβλήματος είναι τέτοια που μπορεί να υπολογιστεί η λύση σε σύντομο χρονικό διάστημα. Στον πίνακα 3.2 παρουσιάζεται ο αλγόριθμος που αναπτύχθηκε για την προ-επεξεργασία των δεδομένων, έτσι ώστε να μειωθούν στον μέγιστο δυνατό βαθμό και κατ' επέκταση να είναι δυνατή η εξαντλητική αναζήτηση της βέλτιστης λύσης.

Πλαίσιο 3.2: Περιγραφή αλγορίθμου για την επίλυση του προβλήματος του *συνόλου ειδών*.

Δεδομένα εισόδου

- Σύνολο δειγμάτων $\mathcal{X} = \{1, 2, \dots, n\}$ και
- Τα σύνολα ειδών \mathcal{U} που αποτελούν σύνολα δειγμάτων του \mathcal{X}
- Συνάρτηση κόστους $c: \mathcal{U} \rightarrow \mathbb{R}^+$ [π.χ. $c(s_3) = 5$ όπου $s_3 = \{1, 2, 5\} \in \mathcal{U}$]

Στόχος

Να βρεθεί ο συνδυασμός συνόλων δειγμάτων, C , που αποτελείται από σύνολα $S \in \mathcal{U}$ τα οποία εμφανίζονται στην μεγαλύτερη συχνότητα και καλύπτουν όλα τα δείγματα του συνόλου \mathcal{X} .

Ψευδοκώδικας αλγορίθμου:

1. Έστω $\mathcal{U} = \mathcal{U}_1 \cup \mathcal{U}_2 \cup \dots \cup \mathcal{U}_p$ όπου $\mathcal{U}_i = \{s \mid s \in \mathcal{U} \text{ και } |s| = i\}$, $p = \max_{s \in \mathcal{U}} \{|s|\}$ για $1 \leq i \leq p$
2. Για $i \leftarrow 2$ έως p κάνε:
 - Για κάθε s στο \mathcal{U}_i κάνε:
 - Για κάθε s' στο $\mathcal{P}(\mathcal{U}_1 \cup \mathcal{U}_2 \dots \cup \mathcal{U}_{i-1})$:
 - εάν $\sum_{s'' \in s'} c(s'') \geq c(s)$ και $s' = s$ τότε:
 - $\mathcal{U}_i = \mathcal{U}_i \setminus \{s\}$
 - break*
3. Το νέο σύνολο ειδών είναι $C = \mathcal{U}_1 \cup \mathcal{U}_2 \cup \dots \cup \mathcal{U}_m$ όπου $1 \leq m \leq p$
4. Η ακριβής λύση είναι $C = \text{brute force}(C)$

Περιγραφή αλγορίθμου:

1. Χωρίζουμε τα σύνολα δειγμάτων \mathcal{U} ανάλογα με το μέγεθός τους, δηλαδή το \mathcal{U}_1 περιέχει τα σύνολα με ένα μόνο δείγμα $\mathcal{U}_1 = \{\{1\}, \{2\}, \dots\}$ αντιστοιχεί σε σύνολα που περιέχουν μόνο ένα δείγμα, το \mathcal{U}_2 σε σύνολα με δύο δείγματα, δηλαδή $\mathcal{U}_2 = \{\{1, 4\}, \{2, 5\}, \dots\}$, κ.ο.κ.
2. Εξετάζουμε όλα τα στοιχεία s για όλα τα σύνολα \mathcal{U}_i (ξεκινώντας από το \mathcal{U}_2), ως προς την τιμή κόστους που δίνουν, για να αποφασίσουμε αν θα το κρατήσουμε ή όχι. Εάν βρεθούν υποσύνολα (s') μικρότερου μεγέθους που καλύπτουν ακριβώς το εξεταζόμενο σύνολο (s), που το άθροισμα του κόστους τους $\sum_{s'' \in s'} c(s'')$ είναι μεγαλύτερο από το κόστος του s , τότε το s απορρίπτεται από το σύνολο των συνδυασμών \mathcal{U}_i . Για παράδειγμα, έστω $\mathcal{U}_3 = \{\{1, 2, 3\}, \{1, 4, 5\}, \{2, 5, 8\}, \dots\}$ και έστω ότι το κόστος για το $s_1 = \{1, 2, 3\}$ είναι $c(s_1) = 5$. Εάν για ένα από τα υποσύνολα $s' = \{s_1'' = \{1, 2\}, s_2'' = \{3\}\}$, $s' = \{s_1'' = \{1, 3\}, s_2'' = \{2\}\}$, $s' = \{s_1'' = \{2, 3\}, s_2'' = \{1\}\}$ ή $s' = \{s_1'' = \{1\}, s_2'' = \{2\}, s_3'' = \{3\}\}$ το άθροισμα του κόστους είναι μεγαλύτερο ή ίσο από το $c(s_1)$ τότε το s_1 αφαιρείται από τα δεδομένα.
3. Αφαιρώντας κάποια από τα σύνολα s μειώνεται το \mathcal{U} σε $\mathcal{C} = \mathcal{U}_1 \cup \mathcal{U}_2 \cup \dots \cup \mathcal{U}_m$ όπου $1 \leq m \leq p$
4. Για την εύρεση της ακριβούς λύσης \mathcal{C} εφαρμόζουμε εξαντλητική σύγκριση («*brute-force*») όλων των συνδυασμών του \mathcal{C} .

Η μέθοδος επίλυσης του προβλήματος *συνόλου ειδών* εφαρμόστηκε έξι ανεξάρτητες φορές: 1) στο σύνολο των $4 \cdot 10^4$ εκτιμήσεων που προέκυψαν από την μέθοδο bGMYC, 2) στο σύνολο των $4 \cdot 10^3$ εκτιμήσεων που προέκυψαν από την εφαρμογή της μεθόδου PTP και 3) στο σύνολο των 10^3 εκτιμήσεων που προέκυψαν ανά γενετικό τόπο (KIF24, NKTR, β -fibint7 και mtDNA) με χρήση της μεθόδου PTP. Η εκτίμηση του αριθμού ειδών ανά γενετικό τόπο έγινε βάσει της μεθόδου PTP δεδομένου ότι φάνηκε να υπερέχει έναντι της μεθόδου GMYC στο σύνολο των γονιδίων (βλ. Παράγραφο 3.3.3)

3.2.4. Δέντρα ειδών

Για τον υπολογισμό της φυλογένεσης των ειδών χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα *BEAST v. 1.8.0 (Heled & Drummond, 2010). Το πρόγραμμα λαμβάνει υπόψη τις αλληλουχίες καθώς και την αντιστοιχία τους σε είδη και υπολογίζει ταυτόχρονα τη φυλογένεση των ειδών αλλά και του κάθε γονιδίου ξεχωριστά. Στη μέθοδο συνυπολογίζεται η αβεβαιότητα της εκτίμησης των δέντρων γονιδίων, των

παραμέτρων του μοντέλου υποκατάστασης καθώς και η πιθανότητα γεγονότων βαθιάς σύγκλισης (Heled & Drummond, 2010). Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε 25 ανεξάρτητες φορές για $2 \cdot 10^6$ γενεές. Ανά 10^3 γενεές αποθηκεύονταν στον φάκελο ένα δέντρο καταλήγοντας σε ένα σύνολο $5 \cdot 10^4$ δέντρων. Για τη διαπίστωση της σύγκλισης των αποτελεσμάτων των ανεξάρτητων αναλύσεων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα Tracer v. 1.5.0. (Rambaut & Drummond, 2008). Για κάθε ανεξάρτητη ανάλυση απορρίφθηκε το 10% ως «burnin» και τα εναπομείναντα αποτελέσματα ($4,5 \cdot 10^4$) συγκεντρώνονταν σε ένα αρχείο με τη βοήθεια το προγράμματος «logcombiner». Τέλος, χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα «treeannotator» για την επιλογή του δέντρου με τη μέγιστη αθροιστική συχνότητα εμφάνισης των κλάδων του, στο σύνολο των δέντρων που συλλέχθηκαν.

Η διαδικασία επαναλήφθηκε για κάθε μία από τις εναλλακτικές υποθέσεις για τον αριθμό ειδών του γένους, σύμφωνα με την συστηματική ή σύμφωνα με τις μεθόδους PTP και GMYC.

3.2.5. Μέθοδος «Bayesian Phylogeny and Phylogeography» (BP&P)

Η μέθοδος BP&P μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο ως μέσο αξιολόγησης διαφορετικών υποθέσεων για τον αριθμό ειδών μια φυλογένεσης (Leaché & Fujita, 2010), όσο και ως μέθοδος οριοθέτησης ειδών, θέτοντας κάθε δείγμα ως διαφορετικό είδος. Στην παρούσα μελέτη έγινε προσπάθεια να χρησιμοποιηθεί τόσο με τον πρώτο όσο και με τον δεύτερο τρόπο. Για την αξιολόγηση των τριών υποθέσεων χρησιμοποιήθηκε ως αριθμός ειδών α) ο αριθμός ειδών σύμφωνα με την τρέχουσα συστηματική, β) ο αριθμός ειδών σύμφωνα με τον αλγόριθμο PTP και γ) σύμφωνα με τον αλγόριθμο bGMYC. Για τη χρήση της μεθόδου με σκοπό την de novo αναγνώριση των ειδών του γένους κάθε δείγμα τέθηκε ως διαφορετικό είδος (σύνολο 52). Σε κάθε περίπτωση υπολογίζονταν το δέντρο ειδών βάσει του αντίστοιχου αριθμού ειδών με το πρόγραμμα *BEAST όπως περιγράφεται παραπάνω. Η κάθε ανάλυση τέθηκε για $5 \cdot 10^5$ γενεές, διατηρώντας στη μνήμη ένα στα πέντε, υπό τον αλγόριθμο ειδογένεσης 0 και ως εκ των προτέρων κατανομές για τις παραμέτρους θ και τ_0 τέθηκε η Γάμμα, έτσι ώστε $G(1, 10)$.

Ωστόσο, η ανάλυση δεν ολοκληρώθηκε καθώς ο αλγόριθμος σταματούσε στην πρώτη γενεά. Πιθανότατα το πρόβλημα οφείλεται στον μεγάλο αριθμό παραμέτρων, λόγω του μεγάλου αριθμού ειδών, παρόμοια συμπεριφορά έχει παρατηρηθεί και σε περιπτώσεις πολλών γενετικών τόπων (BP&P manual). Λόγω της αποτυχίας ολοκλήρωσης της μεθόδου, δεν θα σχολιαστεί στο υπόλοιπο της διατριβής.

3.2.6. Έλεγχος υποθέσεων αριθμού ειδών

Για την αξιολόγηση των διαφορετικών υποθέσεων αριθμού ειδών ή διαφορετικών φυλογενετικών υποθέσεων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί το μέτρο «Bayes Factor» (BF) (Kass & Raftery, 1995). Η χρησιμότητα του μέτρου για τη διάκριση διαφορετικών μοντέλων έχει συζητηθεί εκτενώς στο χώρο της φυλογένεσης (Suchard *et al.*, 2002; Sullivan *et al.*, 2005; Ward, 2008) και έχει χρησιμοποιηθεί τόσο σε φυλογεωγραφικές όσο και σε φυλογενετικές μελέτες (Brown & Lemmon, 2007; Lemey *et al.*, 2009; Grummer *et al.*, 2014). Συγκεκριμένα, το αν υπερέχει η Υπόθεση 1 (H_1) έναντι της Υπόθεσης 2 (H_2), βάση των δεδομένων (D) μπορεί να κριθεί υπολογίζοντας το BF ως εξής:

$$BF_{12} = \frac{pr(D|H_1)}{pr(D|H_2)}$$

Όπου ο όρος $pr(D|H_x)$ αντιστοιχεί στην «Marginal Likelihood» (MLE) για την υπόθεση x (Kass and Raftery, 1995).

Για τον υπολογισμό της MLE πραγματοποιήθηκε ακόμα μια ανάλυση με το πρόγραμμα BEAST, υπό τις ίδιες συνθήκες που περιγράφηκαν νωρίτερα, ενεργοποιώντας επιπλέον την επιλογή εκτίμησης της «Marginal likelihood» χρησιμοποιώντας την μέθοδο «Path sampling (PS)/Stepping-stone sampling (SS)». Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε για 100 ανεξάρτητες διαδρομές, για $5 \cdot 10^3$ βήματα, ενώ διατηρούνταν στην μνήμη 1 στα 100. Καλύτερη υπόθεση θεωρείται εκείνη που έχει το μεγαλύτερο MLE. Για φυσικούς λογαρίθμους πιθανοφάνειας η υπεροχή μιας υπόθεσης έναντι κάποιας άλλης κρίνεται ανάλογα με την τιμή του BF όπως περιγράφεται από τους Kass και Raftery (1995). Εάν ισχύει $0 < BF < 2$ τότε οι δύο υποθέσεις δεν είναι σημαντικά διαφορετικές, εάν ισχύει $2 < BF < 6$ τότε θεωρείται ότι

υπάρχει θετική ένδειξη ότι η υπόθεση με το μεγαλύτερο MLEs είναι καλύτερη, εάν ισχύει $6 < BF < 10$ τότε η ένδειξη είναι ισχυρή και εάν $BF > 10$ τότε η υπόθεση με το μεγαλύτερο MLEs είναι κατηγορηματικά καλύτερη.

3.3. Αποτελέσματα

3.3.1. Στοιχισή - σύσταση αλληλουχιών - γενετικές αποστάσεις - μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης

Για το πυρηνικό γονίδιο NKTR ανακτήθηκαν 578 ομόλογες θέσεις, από τις οποίες 103 ήταν πολυμορφικές (165 όταν συμπεριλαμβάνονταν οι αλληλουχίες της παραομάδας), ενώ για το σύνολο των αλληλουχιών ανακτήθηκαν 161 ετεροζυγωτίες. Αντίστοιχα, για το γονίδιο KIF24 ανακτήθηκαν 510 ομόλογες θέσεις, από τις οποίες 106 (158 όταν συμπεριλαμβάνονταν οι αλληλουχίες της παρα-ομάδας) ήταν πολυμορφικές, ενώ για το σύνολο των δεδομένων ανακτήθηκαν 227 ετεροζυγωτίες. Η ανάλυση των αλληλουχιών στους πιο πιθανούς απλοτύπους με τη χρήση των προγραμμάτων Phase και SeqPhase, οδήγησε στη μερική επίλυση των ετεροζυγωτιών. Στην περίπτωση του KIF24 επιλύθηκε το 44.7% που αντιστοιχεί σε 123 ετερόζυγες θέσεις. Αντίστοιχα για το NKTR επιλύθηκε το 54% που αντιστοιχεί σε 72 ετερόζυγες θέσεων.

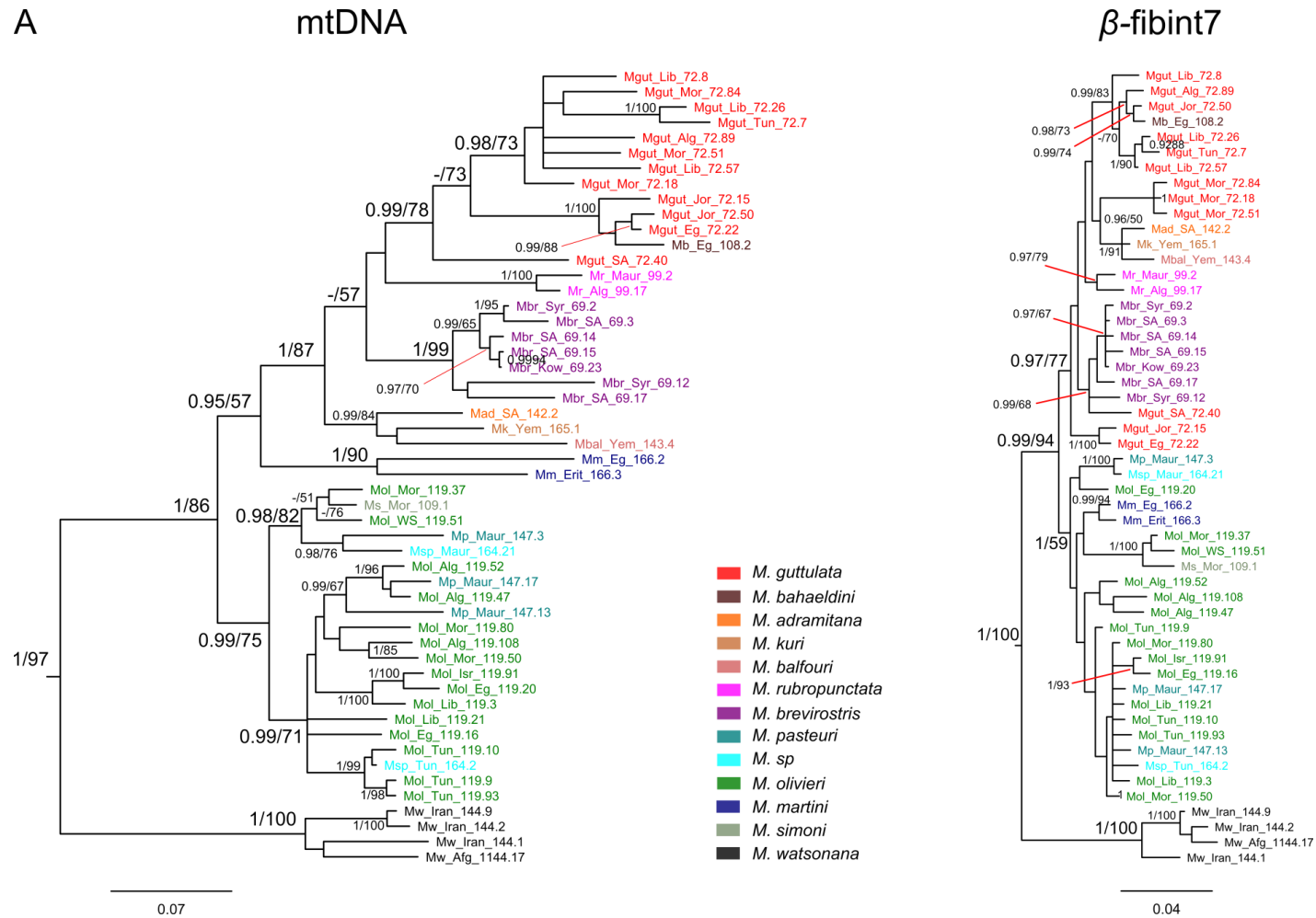
Η στοιχισή των μιτοχονδριακών γονιδίων (*cyt b* και 16S), για το ίδιο σύνολο αλληλουχιών, αντιστοιχεί σε 985 ομόλογες θέσεις (435 για το *cyt b* και 550 για το 16S). Για το σύνολο των δύο μιτοχονδριακών αλληλουχιών βρέθηκαν 354 πολυμορφικές θέσεις, οι οποίες αυξήθηκαν σε 410 όταν συμπεριλήφθηκαν και οι παραομάδες. Τέλος η στοιχισή του *β-fibint7* αποτελούνταν από 939 θέσεις από τις οποίες 194 ήταν πολυμορφικές για το γένος και 326 για το σύνολο των δεδομένων.

Το καταλληλότερο μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης για το σύνολο των αλληλουχιών (52 του γένους *Mesalina* και 8 της παραομάδας) ήταν το K80, το HKY+G, το GTR+G και το GTR+G για το NKTR, το KIF24, το *cyt b* και το 16S αντίστοιχα.

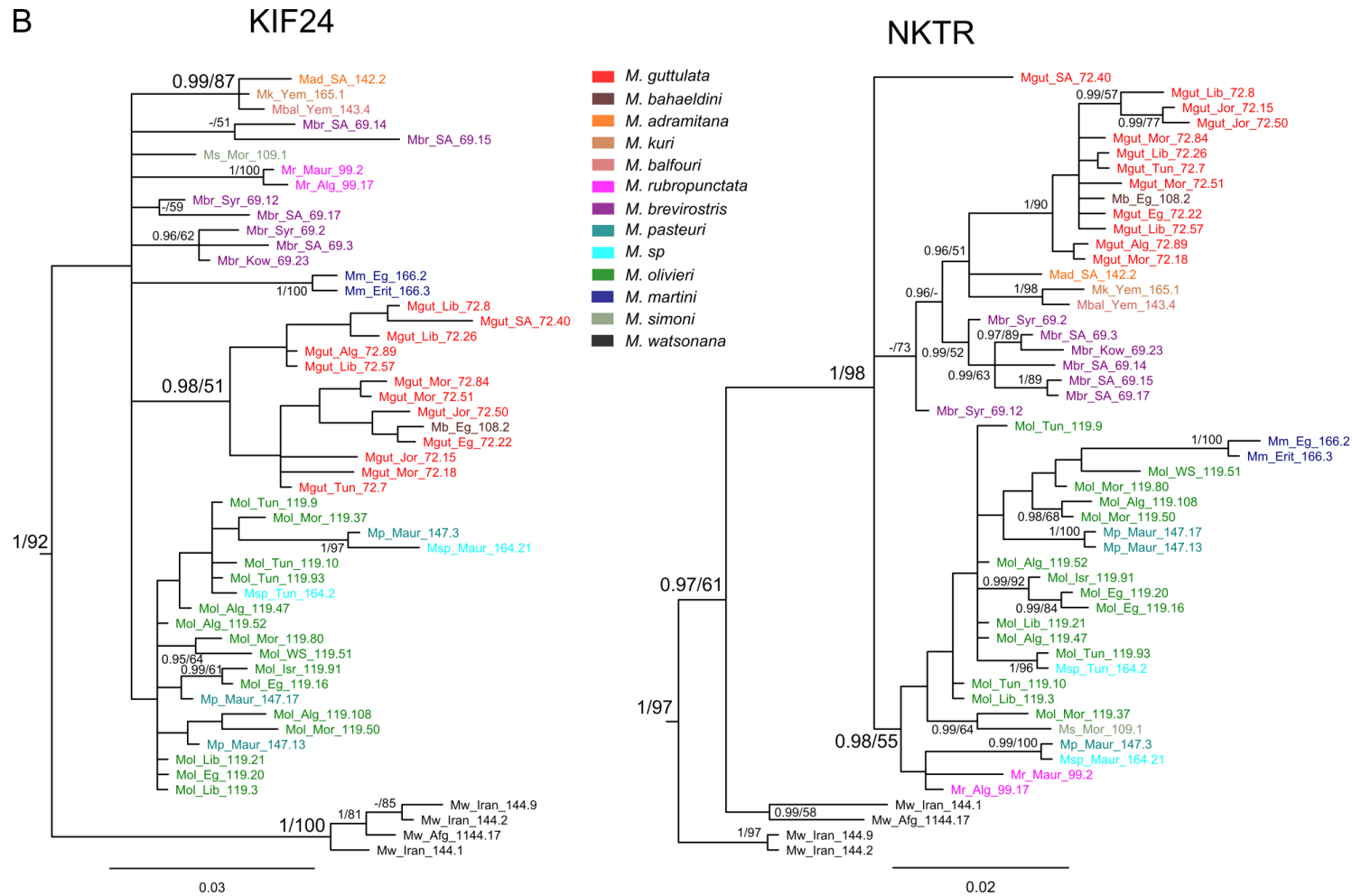
3.3.2. Δέντρα γονιδίων

Στην Εικόνα 3.2 παρουσιάζεται η τοπολογία που ανακτήθηκε από την μέθοδο της Μπεϋζιανής Συμπερασματολογίας για τον κάθε ένα από τους τέσσερις γενετικούς τόπους ανεξάρτητα. Το γένος εμφανίστηκε μονοφυλετικό για όλα τα γονίδια, βάσει των παρα-ομάδων που συμπεριλήφθηκαν. Ωστόσο, η επίλυση των φυλογενετικών σχέσεων διέφερε σημαντικά ανάλογα με το γονίδιο. Για τα δύο μιτοχονδριακά γονίδια ανακτήθηκε παρόμοια τοπολογία με εκείνη που ανακτήθηκε για το σύνολο των δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή (Εικόνα 2.2. και 3.2Α). Το γένος χωρίζεται στους ίδιους βασικούς κλάδους που συζητήθηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο με κάποιες αποκλίσεις. Ο πρώτος κλάδος αντιστοιχεί σε πληθυσμούς του είδους *M. watsonana*. Οι υπόλοιπες αλληλουχίες σχηματίζουν δύο βασικούς κλάδους με σημαντική στατιστική υποστήριξη. Ο ένας αντιστοιχεί σε δείγματα του συμπλέγματος ειδών της *M. olivieri* (*M. olivieri*, *M. simoni* και *M. pasteuri*). Ο δεύτερος κλάδος χωρίζεται περαιτέρω στο σύμπλεγμα ειδών της *M. guttulata* (*M. guttulata* και *M. bahaeldini*) και συγγενικά της είδη (*M. kuri*, *M. balfouri*, *M. adramitana* και *M. rubropunctata*), με ελλιπή επίλυση των σχέσεων μεταξύ των ειδών και τον κλάδο της *M. martini*.

Η τοπολογία που προέκυψε βάσει του β -fibint7, για τους κλάδους με επαρκή στατιστική υποστήριξη είναι ακριβώς ίδια με εκείνη που ανακτήθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο (Εικόνα 2.3 και 3.2Α). Το δέντρο χωρίζεται σε τρεις κύριους κλάδους που αντιστοιχούν σε τρεις κύριες ομάδες του γένους 1) *M. watsonana*, 2) *M. guttulata* και συγγενικά είδη (*M. rubropunctata*, *M. brevirostris*, *M. kuri*, *M. balfouri* και *M. adramitana*) και 3) σύμπλεγμα ειδών *M. olivieri*, συμπεριλαμβανομένου του *M. martini*.



Εικόνα 3. 2Α.: Οι φυλογενετικές σχέσεις βάσει της Μπεϋζιανής Συμπερασματολογίας για τα μιτοχονδριακά (αριστερά) και το πυρηνικό γονίδιο β -fibint7 (δεξιά). Οι αριθμοί στους κλάδους αντιστοιχούν στις εκ των υστέρων πιθανότητες υποστήριξης των κλάδων της BI (παρουσιάζονται μόνο οι τιμές >0.95), ακολουθούμενες από τις τιμές bootstrap για τη ανάλυση Μέγιστης Πιθανοφάνειας (παρουσιάζονται μόνο οι τιμές μεγαλύτερες από 50%).



Εικόνα 3.2B: Οι φυλογενετικές σχέσεις βάσει της Μπεύζιανής Συμπερασματολογίας για το πυρηνικό γονίδιο KIF24 (αριστερά) και το NKTR(δεξιά). Οι αριθμοί στους κλάδους αντιστοιχούν στις εκ των υστέρων πιθανότητες υποστήριξης των κλάδων της BI (παρουσιάζονται μόνο οι τιμές >0.95), ακολουθούμενες από τις τιμές bootstrap για τη

ανάλυση Μέγιστης Πιθανοφάνειας (παρουσιάζονται μόνο οι τιμές μεγαλύτερες από 50%)

Οι φυλογενετικές σχέσεις των εξεταζόμενων αλληλουχιών στην πλειονότητά τους δεν επιλύθηκαν βάσει του γονιδίου KIF24 (Εικόνα 3.2B). Αναγνωρίζεται η μονοφυλετικότητα δύο κλάδων που ανακτήθηκαν σύμφωνα με όλους τους γενετικούς τόπους: 1) σύμπλεγμα ειδών *M. guttulata*, 2) *M. martini* και τρεις που ανακτήθηκαν σύμφωνα με όλους τους γενετικούς τόπους εκτός του NKTR 1) *M. rubropunctata* 2) *M. adramitana*, *M. kuri* και *M. balfouri* (εκτός από το NKTR) και η 3) *M. watsonana*.

Στην περίπτωση του NKTR εμφανίζονται σημαντικές αποκλίσεις, τόσο από την μιτοχονδριακή τοπολογία όσο και από την τοπολογία των άλλων πυρηνικών γονιδίων (Εικόνα 2B). Σε αντίθεση με τα υπόλοιπα δέντρα γονιδίων, οι αλληλουχίες της *M. watsonana* χωρίζονται σε δύο κλάδους. Η *M. rubropunctata* ομαδοποιείται με το σύμπλεγμα ειδών της *M. olivieri*. Τέλος, η *M. guttulata* σχηματίζει ένα κλάδο μαζί με τα υπόλοιπα Αραβικά είδη (*M. kuri*, *M. adramitana*, *M. balfouri*) με εξαίρεση ένα δείγμα από τη Σαουδική Αραβία (Mgut_SA_72.40), το οποίο δεν ομαδοποιείται με καμία άλλη αλληλουχία.

3.3.3. Εκτίμηση ειδών bGMYC – PTP

Η εφαρμογή του αλγορίθμου PTP σε σύνολο $4 \cdot 10^3$ φυλογενέσεων Μπεύζιανής Συμπερασματολογίας οδήγησε στην παραγωγή $4 \cdot 10^3$ εκτιμήσεων του αριθμού ΑΕΓΜ της *Mesalina*. Τα μοναδικά σύνολα ΑΕΓΜ που προέκυψαν από το PTP ήταν 575 με συχνότητες που κυμαίνονταν από $2,5e-04$ ($1/4 \cdot 10^3$) έως 0,71 ($2,844/4 \cdot 10^3$). Ο συνδυασμός των συνόλων ΑΕΓΜ με τη μεγαλύτερη συχνότητα, όπως προέκυψε με την εφαρμογή του PTP σε συνδυασμό με την μεθοδολογία που περιγράφηκε νωρίτερα, αντιστοιχεί σε 49 ΑΕΓΜ. Ο συνδυασμός με τη μεγαλύτερη συχνότητα για τους μιτοχονδριακούς τόπους ήταν 34, για το NKTR ήταν 45, ενώ για τα KIF και β -fibint7 προέκυψαν δύο λύσεις με ίση αθροιστική συχνότητα 42/45 και 28/29 αντίστοιχα. Συνεπώς, παρήχθησαν επτά εναλλακτικές υποθέσεις για τον αριθμό των ειδών βάσει της μεθόδου PTP.

Η εφαρμογή του αλγορίθμου bGMYC σε σύνολο $4 \cdot 10^3$ φυλογενέσεις οδήγησε στην παραγωγή $4 \cdot 10^4$ εκτιμήσεων του αριθμού ΑΕΓΜ για το γένος, καθώς σε κάθε φυλογένεση πραγματοποιούνταν $5 \cdot 10^4$ «Monte Chain Monte Carlo» (MCMC) δειγματοληπτικά βήματα, από τα οποία διατηρούνταν στη μνήμη 1/100 και τα $4 \cdot 10^3$ απορρίπτονταν ως «burnin». Τα μοναδικά σύνολα ΑΕΓΜ που προέκυψαν από το

bGMYC ήταν 1.682 με συχνότητες που κυμαίνονταν από 0,66 ($264 \cdot 10^3 / 4 \cdot 10^5$) έως $2,5e-06$ ($1/4 \cdot 10^5$). Ο συνδυασμός με την μεγαλύτερη συχνότητα αντιστοιχεί σε 47 ΑΕΓΜ.

Η αλληλουχία της παραομάδας που συμπεριλήφθηκε στις αναλύσεις (*Eremias sp.*), αναγνωρίστηκε ως ΑΕΓΜ στο σύνολο των φυλογενέσεων για τον αλγόριθμο του PTP (συχνότητα 1) και σε 399.575 (συχνότητα 0,999) των φυλογενέσεων για το bGMYC.

3.3.3.1. Έλεγχος υποθέσεων για τον αριθμό ειδών

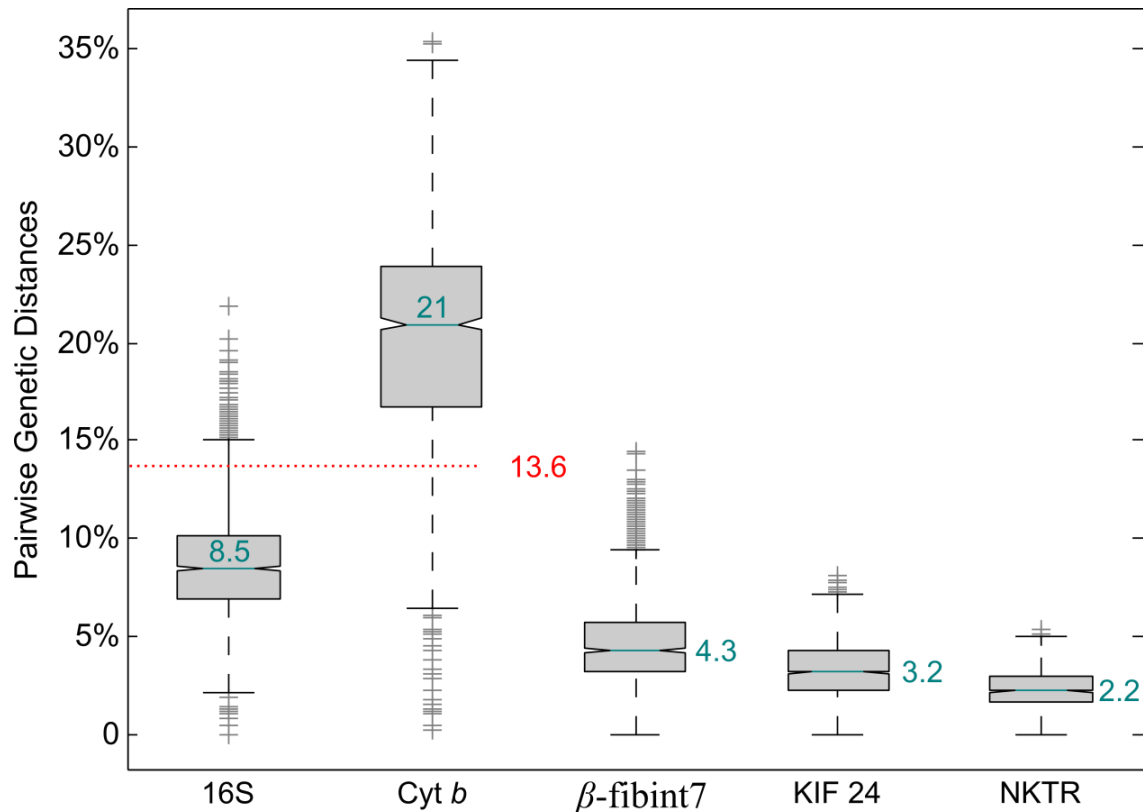
Συνολικά, ελέγχθηκαν εννιά εναλλακτικές υποθέσεις για τον αριθμό των ΑΕΓΜ του γένους *Mesalina* με βάση τον αριθμό των ΑΕΓΜ που 1) αναγνωρίζεται σύμφωνα με την τρέχουσα συστηματική, 2) εκτιμήθηκε σύμφωνα με την μέθοδο GMYC συνδυάζοντας όλους τους γενετικούς τόπους, 3) εκτιμήθηκε σύμφωνα με την μέθοδο PTP συνδυάζοντας όλους τους γενετικούς τόπους, και 4-9) εφόσον διαπιστώθηκε ή υπεροχή της μεθόδου PTP, ελέγχθηκε επιπλέον ο αριθμός ΑΕΓΜ που εκτιμήθηκε για τον κάθε γενετικό τόπο ανεξάρτητα. Για δύο από τους γενετικούς τόπους (KIF και β -fibint7) προέκυψαν δύο ισοπίθανες λύσεις που ελέγχθηκαν ως εναλλακτικές υποθέσεις, αυξάνοντας τον αριθμό των υποθέσεων σε εννιά.

Πίνακας 3. Κατάταξη των εννιά υποθέσεων για τον αριθμό των ειδών του γένους *Mesalina* σύμφωνα με το σκορ MLE

Μοντέλο	Αριθμός ΑΕΓΜ	MLE Stepping Stone (SS)	Κατάταξη	Bayesian Factor (2lnBF)
PTP	49	-19340,8791	1	
bGMYC	47	-19370,3027	2	58,8472
PTP-NKTR	45	-19374,2715	3	66,7848
PTP-KIF _{V2}	42	-19422,2590	4	162,7598
PTP-fib-7 _{V1}	28	-19436,9513	5	192,1444
PTP-KIF _{V1}	45	-19490,6342	6	299,5102
PTP-fib-7 _{V2}	29	-19490,6343	7	299,5104
Συστηματική	15	-19554,0849	8	426,4116
PTP-mtDNA	34	-19608,3963	9	535,0344

Η εκτίμηση του MLE για κάθε υπόθεση του αριθμού ΑΕΓΜ, διήρκεσε ~7

ημέρες λόγω της πυκνής δειγματοληψίας παραμέτρων που πραγματοποιήθηκε. Η τελική τιμή για κάθε μία από τις υποθέσεις καθώς και η κατάταξή τους βάσει του BF παρουσιάζεται στον Πίνακα 3. Σύμφωνα με αυτή την κατάταξη αναδεικνύεται ότι η υπόθεση για τον αριθμό των ΑΕΓΜ του γένους σύμφωνα με το αλγόριθμο PTP για το σύνολο των τεσσάρων γονιδίων είναι κατηγορηματική καλύτερη ($2\ln BF > 10$) από όλες τις υπόλοιπες υποθέσεις που ελέγχθηκαν.



Εικόνα 3.3.: Γραφική αναπαράσταση (Box Plot) της μέσης τιμής, διασποράς και «outliers» των ανά ζεύγη γενετικών αποστάσεων για κάθε γενετικό τόπο. Με στικτή γραμμή κόκκινη συμβολίζεται η μέση γενετική απόσταση μεταξύ των ειδών των ερπετών που έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία για το *cyt b* (Harris, 2002).

Σύμφωνα με την αριθμό των ΑΕΓΜ που αναδείχτηκε στατιστικά καλύτερος υπολογίστηκαν η μέση τιμή, η διασπορά, και τα «outliers» (δηλαδή, οι τιμές που ήταν μικρότερες από $Q_1 - 1,5 \times IQR$ ή μεγαλύτερες από $Q_3 + 1,5 \times IQR$)¹³ για κάθε γενετικό τόπο, όπως παρουσιάζονται στην Εικόνα 3. Οι γενετικές αποστάσεις υπολογίστηκαν βάση του μοντέλου Tamura- Nei, με τη βοήθεια του προγράμματος MEGA v 5.05

¹³ Στην περιγραφική στατιστική τα Quartiles (Q_1 , Q_2 , Q_3) ενός βαθμονομημένου συνόλου δεδομένων είναι οι τρεις τιμές που διαιρούν το σύνολο των δεδομένων σε τέσσερα ίσα μέρη. Το IQR ισούται με $Q_3 - Q_1$ και στο γράφημα συμβολίζεται με το μήκος του κάθε *box*.

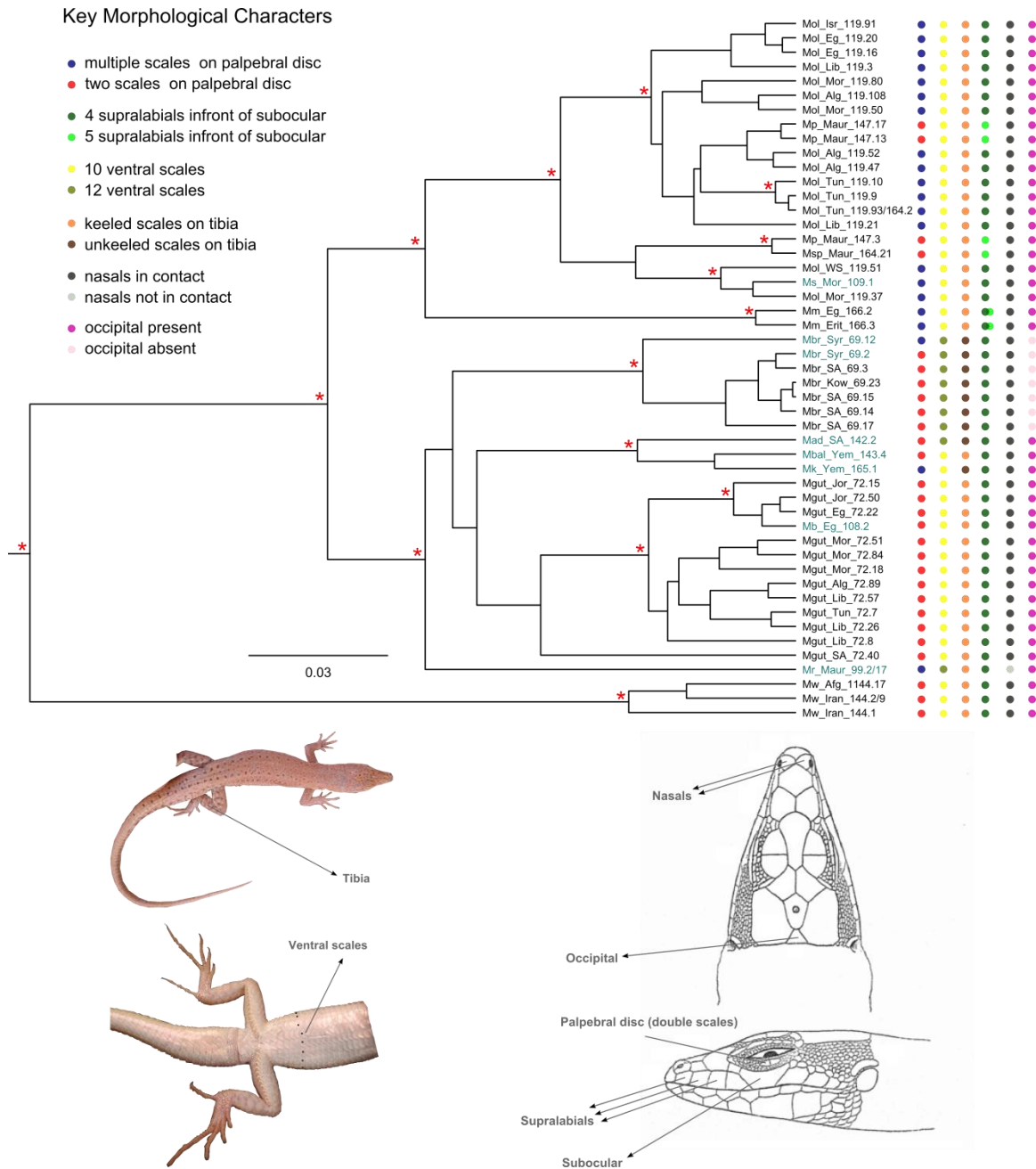
(Tamura *et al.*, 2011). Η μέση γενετική απόσταση μεταξύ των ειδών του γένους υπολογίστηκε να είναι 8,5%, 21%, 4,3%, 3,2%, 2,2% για τα γονίδια 16S, *cyt b*, *β-fibint7*, KIF24 και NKTR αντίστοιχα.

3.3.4. Δέντρο ειδών

Το δέντρο ειδών του γένους *Mesalina* κατασκευάστηκε με τη χρήση του προγράμματος *BEAST. Τα είδη ορίστηκαν σύμφωνα με την επικρατέστερη υπόθεση που προέκυψε από την σύγκριση των BF. Η τοπολογία που ανακτήθηκε (-lnL 18826,508) παρουσιάζεται στην Εικόνα 3.4. Οι σχέσεις των ειδών ήταν πολύ κοντινές με αυτές που ανακτήθηκαν βάσει των μιτοχονδριακών γονιδίων (Εικόνα 3.4. και Εικόνα 2.2). Το γένος διακρίνεται σε τρεις βασικούς κλάδους: 1) τα είδη της «*M. watsonana*», 2) τα είδη της «*M. olivieri*», τα οποία ομαδοποιούνται με τη *M. simoni* τα είδη της «*M. pasteuri*», και τα δύο είδη της «*M. martini*», τα οποία ομαδοποιούνται με τα προηγούμενα με σημαντική στατιστική υποστήριξη και 3) τα είδη της «*M. guttulata*» τα οποία ομαδοποιούνται με τα είδη των «*M. rubropunctata*», «*M. breviostris*», *M. kuri*, *M. balfouri*, *M. adramitana* και *M. bahaeldini*. Η επίλυση των σχέσεων εσωτερικά του καθένα από αυτούς τους βασικούς κλάδους δεν επιλύθηκε επαρκώς σε όλες τις περιπτώσεις.

Στην ίδια εικόνα (Εικόνα 3.4) παρουσιάζονται οι δύο καταστάσεις των κύριων φολιδωτικών χαρακτήρων που διαφοροποιούν τα μέχρι τώρα αναγνωριζόμενα είδη του γένους (Schleich *et al.*, 1996; Disi *et al.*, 2001; Joger & Mayer, 2002; Baha El Din, 2006; Buetikofer *et al.*, 2013 και προσωπικές παρατηρήσεις). Και οι δύο καταστάσεις φαίνεται να έχουν προκύψει πάνω από μία φορά κατά την εξέλιξη του γένους για τέσσερα από τα έξι χαρακτηριστικά [φολιδωση επιβλεφαρικής πλάκας («*palpebral disc*»), αριθμός επιχειλικών φολιδών «*supralabials*», αριθμός κοιλιακών φολιδών («*ventral scales*»), μορφή φολιδών κνήμης («*tibia scales*»)]. Ως μονοφυλετικός χαρακτήρας εμφανίζεται μόνο η μία κατάσταση σε δύο χαρακτήρες [απουσία «*occipital*», και έλλειψη επαφής των ρινικών φολιδών («*nasals*»)].

Κεφάλαιο 3^ο : Φυλογενετική προσέγγιση του αριθμού ειδών του γένους *Mesalina*



Εικόνα 3.4: Σχέση των ειδών (όπως αναδείχθηκαν από τον αλγόριθμο PTP) του γένους *Mesalina*, σύμφωνα με το πρόγραμμα *BEAST, με βάση τους πέντε γενετικούς τύπους που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Οι κλάδοι με σημαντική στατιστική υποστήριξη ($p.p. > 0.95$), παρουσιάζονται με αστερίσκο (*). Τα είδη που έχουν αναγνωριστεί και βάσει μορφολογίας σημειώνονται με μπλε χρώμα. Δεξιά των δειγμάτων με χρωματιστούς κύκλους σημειώνονται οι κύριοι φολιδωτικοί χαρακτήρες που χρησιμοποιούνται για την αναγνώριση των μέχρι τώρα αναγνωριζόμενων ειδών του γένους. Το κάθε χαρακτηριστικό εκπροσωπείται από δύο διακριτές καταστάσεις που περιγράφονται στην λεζάντα της εικόνας. Τα έξι χαρακτηριστικά αναδεικνύονται στα αντίστοιχα σκίτσα (επεξεργασμένα από Boulenger, 1890) και φωτογραφίες (επεξεργασμένες από P.-A. Crochet) του γένους, κάτω από το φυλογενετικό δέντρο.

3.4. Συζήτηση

Η αναγνώριση ειδών βάσει γενετικών δεικτών έχει προκαλέσει ποικίλες αντιδράσεις στην επιστημονική κοινότητα, άλλοτε ενθουσιώδεις (Blaxter, 2003) και άλλοτε επικριτικές ως προς το ρόλο τους στη διαμόρφωση της σύγχρονης συστηματικής (Bauer *et al.*, 2011). Παρόλα αυτά, όλοι οι ερευνητές αναγνωρίζουν τη συμπληρωματική συμβολή των μεθόδων αυτών στη διαδικασία συλλογής ενδείξεων για τη διάκριση δύο αποκλινόντων ειδών (De Queiroz, 2007; Bauer *et al.*, 2011; Camargo, 2013). Η χρήση τους κρίνεται ιδιαίτερα σημαντική όταν αφορά περιοχές ή οργανισμούς για τους οποίους η συλλογή δεδομένων για τη φυσική τους ιστορία, είναι δύσκολη και χρονοβόρα. Στην παρούσα διατριβή κρίθηκε αναγκαία μια τέτοιου τύπου προσέγγιση, καθώς οι ερημικές συνθήκες και η μακρόχρονη πολιτική αστάθεια των χωρών της Β. Αφρικής και της Μέσης Ανατολής, τις καθιστούν ανάμεσα στις πιο δυσπρόσιτες περιοχές (Brito *et al.*, 2013).

3.4.1. Προτεινόμενη Μεθοδολογία

Σε παρόμοιες μελέτες, προσέγγισης αριθμού ειδών βάσει γενετικών δεικτών έχει χρησιμοποιηθεί το πρόγραμμα BP&P (Leaché & Fujita, 2010; Kubatko *et al.*, 2011; Grummer *et al.*, 2014). Στην παρούσα διατριβή η χρήση του δεν ήταν δυνατή, καθώς ο αριθμός των ειδών όπως προτείνεται από τους αλγόριθμους οριοθέτησης που πραγματοποιήθηκαν ήταν πολύ μεγάλος (47 και 49 για το bGMYC και το PTP αντίστοιχα). Ως συνέπεια, ο αριθμός των παραμέτρων που έπρεπε να συνεκτιμηθούν ήταν πολύ μεγάλος και η διαδικασία πρότασης νέων καταστάσεων («state») δεν προχωρούσε μετά το πρώτο βήμα της ανάλυσης. Παρόμοια πρόβλημα έχουν αντιμετωπιστεί στο ίδιο πρόγραμμα όταν ο αριθμός των γενετικών δεικτών (Yang, 2012, BP&P manual) ήταν πολύ μεγάλος.

Ελλείψει κάποιας εναλλακτικής προσέγγισης του αριθμού ΑΕΓΜ του γένους προτάθηκε μια νέα μεθοδολογία που συνδυάζει τη χρήση υπαρχόντων (Kass & Raftery, 1995; Heled & Drummond, 2010; Fujisawa & Barraclough, 2013; Zhang *et al.*, 2013) αλλά και νέων υπολογιστικών εργαλείων. Συγκεκριμένα, διατυπώθηκαν και αξιολογήθηκαν εννιά εναλλακτικές υποθέσεις για τον αριθμό των ΑΕΓΜ του γένους βάσει τριών εναλλακτικών μεθόδων. Η πρώτη μέθοδος αφορά την τρέχουσα

συστηματική, ενώ οι δύο εναλλακτικές επιλέχθηκαν ως αντικειμενικός τρόπος για την οριοθέτηση των ΑΕΓΜ του γένους βάσει της μοριακής τους φυλογένεσης. Σε αντίθεση με προηγούμενες εφαρμογές των δύο μεθόδων (Pons et al., 2006; Papadopoulou *et al.*, 2008; Zhang et al., 2013) στην παρούσα διατριβή, εφαρμόστηκαν έτσι ώστε να αποφευχθούν λάθη οφειλόμενα σε σημειακές εκτιμήσεις των γονιδιακών δέντρων (Reid & Carstens, 2012).

Η αντιμετώπιση του ίδιου προβλήματος ήταν και ο στόχος της περιγραφής της μπεύζιανής προσέγγισης του GMYC αλγορίθμου (Reid & Carstens, 2012). Στην περίπτωση όμως αυτή τα σύνολα ΑΕΓΜ που εκτιμώνται συνοψίζονται στο συναινετικό δέντρο των φυλογενέσεων εισόδου. Η εξάρτηση των αποτελεσμάτων με την εκτίμηση των φυλογενετικών σχέσεων αγνοώντας τα σύνολα ΑΕΓΜ, καθιστά την μέθοδο έγκυρη μόνο στην περίπτωση που λαμβάνεται υπόψη ένας γενετικός τόπος. Σε αντίθετη περίπτωση η εγκυρότητα της μεθόδου πλήττεται αν αναλογιστεί κανείς την πιθανή ασυμβατότητα μεταξύ γονιδιακών δέντρων και δέντρων ειδών (Maddison, 1997; Edwards, 2009). Το πρόβλημα αυτό παρακάμπτεται στην μεθοδολογία που ακολουθήθηκε στην παρούσα διατριβή, αφού το τελικό αποτέλεσμα είναι ανεξάρτητο από οποιαδήποτε φυλογενετική τοπολογία. Συγκεκριμένα, το σύνολο ΑΕΓΜ μπορεί να μην ανταποκρίνεται σε καμία από τις τοπολογίες, που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή του και σε καμία συγκεκριμένη εκτίμηση ΑΕΓΜ. Παρακάμπτοντας το πρόβλημα αυτό, γίνεται δυνατή η χρήση του αλγορίθμου σε δέντρα που έχουν παραχθεί από διαφορετικούς γενετικούς δείκτες.

Τα μειονεκτήματα της προτεινόμενης μεθοδολογίας είναι άρρηκτα συνδεδεμένα με τα μειονεκτήματα των μεθόδων PTP και GMYC ξεχωριστά. Η επίδοση της μεθόδου GMYC έχει ελεγχθεί σε αρκετές εργασίες (Papadopoulou et al., 2008; Esselstyn *et al.*, 2012; Fujisawa & Barraclough, 2013; Talavera *et al.*, 2013), υποδεικνύοντας ότι με τη χρήση και πειραματικών και προσομοιωμένων δεδομένων η μέθοδος είναι ιδιαίτερα ισχυρή και αποδίδει σωστά αποτελέσματα σε ένα ευρύ φάσμα παραμέτρων και συνθηκών (π.χ. διαφορετικές μεθόδους εκτίμησης φυλογενετικών σχέσεων, υψηλή παρουσία ειδών που αντιπροσωπεύονται από ένα δείγμα, παράλειψη μεγάλου αριθμού ειδών κτλ.). Η μελέτη προσομοιωμένων δεδομένων έδειξε ότι ο κύριος παράγοντας που μπορεί να επηρεάσει την ποιότητα των αποτελεσμάτων είναι το μέσο πληθυσμιακό μέγεθος των εξεταζόμενων ειδών σε συνάρτηση με το χρόνο διάσπασής τους (Fujisawa & Barraclough, 2013), ενώ η μελέτη πραγματικών δεδομένων ότι ένας παράγοντας που ενδεχομένως να επηρεάσει τα αποτελέσματα

είναι η ανομοιογενής γεωγραφική δειγματοληψία των διαφορετικών ειδών (Talavera et al., 2013). Για τη μέθοδο PTP υπάρχουν λιγότερες διαθέσιμες συγκριτικές πληροφορίες για την απόδοσή του. Σύμφωνα με τις υπάρχουσες, η απόδοση του μειώνεται με την αύξηση του ρυθμού ειδογένεσης («*birth rate*») (Zhang et al., 2013). Για τον εντοπισμό πιθανών μειονεκτημάτων πέραν των προβλημάτων που εμφανίζουν το PTP και το GMYC απαιτούνται περαιτέρω πειράματα με πραγματικά και προσομοιωμένα σύνολα δεδομένων.

Συνολικά, η μέθοδος που ακολουθήθηκε μπορεί να θεωρηθεί ανώτερη από την απλή εφαρμογή του bGMYC ή του PTP, αφού το τελικό σύνολο ΑΕΓΜ προκύπτει συνάρτηση πολλαπλών ανεξάρτητων γενετικών τόπων αλλά και της φυλογενετικής ισχύος του καθενός. Μάλιστα, εντοπίζεται η ακριβής λύση, σε αντίθεση με την πλειονότητα των φυλογενετικών μεθόδων (Felsenstein, 2004), η οποία όντας ανεξάρτητη από οποιαδήποτε φυλογένεση γονιδίου αποδεσμεύει την εκτίμηση από την πιθανή σύγκρουση δέντρων γονιδίων και δέντρων ειδών. Μία μέθοδος που συνεκτιμά όλες τις παραμέτρους ταυτόχρονα (δέντρα γονιδίων, αριθμό ειδών, δέντρο ειδών, παραμέτρους των μοντέλων νουκλεοτιδικής υποκατάστασης), όπως το BP&P, είναι θεωρητικά ανώτερη από την προτεινόμενη όπου οι διαφορετικές παράμετροι εκτιμώνται σε ξεχωριστά βήματα (δέντρα γονιδίων, αριθμός ειδών ανά φυλογένεση), όμως είναι πρακτικά μη εφαρμόσιμη. Συνολικά, η εφαρμογή οποιασδήποτε υπολογιστικής μεθόδου προσέγγισης των ΑΕΓΜ βάσει γενετικών δεδομένων, είναι μόνο προσεγγιστική και συνεπώς οφείλουν να εξεταστούν επιπλέον χαρακτηριστικά των εξεταζόμενων τάξεων (π.χ. μορφολογικά, οικολογικά) για την πιο έγκυρη αναγνώριση νέων ειδών (Padial et al., 2010).

3.4.2. Αριθμός ειδών του γένους *Mesalina*

Ο εκτιμώμενος αριθμός των ΑΕΓΜ που προέκυψε για το PTP λαμβάνοντας υπόψη όλους τους γενετικούς τόπους ήταν διαφορετικός από τον εκτιμώμενο αριθμό για κάθε γενετικό τόπο ξεχωριστά. Οι δύο από τους τέσσερις γενετικούς τόπους έδωσαν κοντινές εκτιμήσεις με το σύνολο των γονιδίων, ενώ αρκετά χαμηλότερες ήταν οι εκτιμήσεις βάσει του β -fibint7 και των μιτοχονδριακών δεικτών. Λαμβάνοντας υπόψη τον βασικό τρόπο λειτουργίας της μεθόδου PTP, οι αποκλίσεις που παρατηρούνται μεταξύ των εκτιμήσεων για τους διαφορετικούς γενετικούς

τόπους πιθανόν να οφείλονται στο βαθύτερο σημείο σύγκλισης των προγονικών κόμβων για το KIF24 και το NKTR σε σχέση με αυτούς των μιτοχονδριακών και του β -fibint7. Σε αντίθεση με τους πρώτους δύο γενετικούς τόπους, που αποτελούν κωδικές πυρηνικές περιοχές, οι μιτοχονδριακοί τόποι και το ιντρόνιο β -fibint7, χαρακτηρίζονται από χαμηλότερη εξελικτική πίεση. Υπό αυτή τη συνθήκη και λαμβάνοντας υπόψη το υψηλό ποσοστό διαφοροποίησης που παρατηρούμε στη συγκεκριμένη περίπτωση, θα μπορούσε κανείς να υποθέσει ότι το αποτέλεσμα μπορεί να οφείλεται σε ομοπλαστικές υποκαταστάσεις. Το φαινόμενο αυτό θα είχε ως αποτέλεσμα την παρατήρηση λιγότερων εξελικτικών αλλαγών από όσες συνέβησαν στην πραγματικότητα και συνεπώς μικρότερο μήκος φυλογενετικών κλάδων. Το οποίο ενδεχομένως να είναι και ένας από τους λόγους για τη μειωμένη απόδοση της μεθόδου PTP που έχει παρατηρηθεί σε δεδομένα υψηλής γενετικής ποικιλότητας (Zhang et al., 2013). Καθώς η πιθανότητα ομοπλασίας αυξάνει με την πάροδο του χρόνου, το φαινόμενο οφείλει να είναι αυξημένο στους μακρύτερους κλάδους που συνδέουν ΑΕΓΜ μεταξύ τους. Η ουσιαστική αξιολόγηση του αποτελέσματος μπορεί να γίνει μόνο με την μελέτη προσομοιωμένων δεδομένων υπό διαφορετικά σενάρια ρυθμού διαφοροποίησης.

Σύμφωνα με τον έλεγχο υποθέσεων που πραγματοποιήθηκε, το σύνολο ΑΕΓΜ που εκτιμήθηκε βάση του αλγορίθμου PTP, για το σύνολο των γονιδίων, κρίθηκε σημαντικά καλύτερο από όλες τις εναλλακτικές υποθέσεις. Συνεπώς αναδεικνύεται, στην παρούσα μελέτη, ότι η εκτίμηση που προκύπτει από το σύνολο των γενετικών τόπων επεξηγεί καλύτερα τα δεδομένα από τον κάθε γενετικό τόπο ξεχωριστά. Παρόμοιας κλίμακας ποικιλότητα έχει αναγνωριστεί για το συγγενικό γένος *Acanthodactylus* το οποίο χαρακτηρίζεται από παρόμοια οικολογία και κατανομή με τη *Mesalina*. Συγκεκριμένα του έχουν αποδοθεί τουλάχιστον 42 είδη (Salvador, 1982; Schleich et al., 1996; Sindaco & Jeremčenko, 2008) κυρίως βάσει μορφολογικών χαρακτήρων. Σε αντίθεση ωστόσο με την *Mesalina* αποτελεί ένα από τα πιο πολυμελετημένα ερπετά της Β. Αφρικής (ενδεικτικά, Salvador, 1982; Harris & Arnold, 2000; Harris et al., 2004; Baha El Din, 2007; Fonseca et al., 2008; Fonseca et al., 2009; Heidari et al., 2012). Μάλιστα η *Mesalina* λαμβάνοντας υπόψη την ταχεία εναλλαγή γενεών που έχει καταγραφεί για τα είδη του γένους (Schleich et al., 1996), θα ανέμενε κανείς ακόμα μεγαλύτερο αριθμό ειδών από τα *Acanthodactylus*.

Η χρήση μοριακών μεθόδων για την αξιολόγηση της γενετικής ποικιλότητας ομάδων που κατανέμονται στην περιοχή μελέτης, είναι περιορισμένη. Η τόσο

δραστική αύξηση του αριθμού ειδών έχει επαναληφθεί πρόσφατα στην περίπτωση του συμπλέγματος ειδών *Ptyodactylus hasselquistii*, για το οποίο η συνδυαστική χρήση της μεθόδου GMYC και BP&P (Metallinou, 2014) απέδωσε την αναγνώριση 17 ειδών, ενώ η τρέχουσα συστηματική αναγνωρίζει ένα είδος. Επιπλέον πολλές εργασίες μοριακής φυλογένεσης έχουν δώσει έναυσμα στην αναγνώριση νέων ειδών, χωρίς τη χρήση μοριακών μεθόδων οριοθέτησης ειδών (Carranza *et al.*, 2008; Pook *et al.*, 2009; Wagner *et al.*, 2011). Η σημαντική αύξηση της μοριακής συστηματικής έρευνας στην περιοχή μελέτης αφενός έχει αυξήσει τον αριθμό των ειδών, αφετέρου έχει συμβάλει στην άρση του μέχρι τώρα προτύπου βιοποικιλότητας της Σαχαρο-Αραβικής περιοχής. Οι σύγχρονες μελέτες και τεχνικές αξιολόγησης της ποικιλότητας (Brito *et al.*, 2013 και αναφορές εκεί) έχουν αναδείξει ότι αντί για λίγα και ευρέως καταναμημένα είδη η περιοχή μελέτης χαρακτηρίζεται καλύτερα από λίγα είδη με πιο περιορισμένες κατανομές. Στο πρότυπο αυτό φαίνεται να συμβάλει και ο αυξημένος αριθμός ειδών, σε σύγκριση με την τρέχουσα συστηματική, που εκτιμάται στην παρούσα μελέτη για τη *Mesalina*.

Όσο αφορά τη φυλογενετική σχέση των ειδών της *Mesalina* χρησιμοποιώντας όλους τους γενετικούς τύπους που παρήχθησαν στην παρούσα διατριβή, δεν ανατρέπουν εκείνες που εκτιμήθηκαν βάσει των μιτοχονδριακών γονιδίων για το σύνολο των δειγμάτων. Αξιολογώντας τους μορφολογικούς χαρακτήρες που έχουν χρησιμοποιηθεί κατά κύριο λόγο στον χαρακτηρισμό και την αναγνώριση των ειδών του γένους προκύπτει ότι οι περισσότεροι έχουν εμφανιστεί περισσότερες από μία φορές στην πορεία της εξέλιξης του τάξου. Συνεπώς οι χαρακτήρες αυτοί, είτε είναι αποτέλεσμα ομοπλαστικών συμβάντων είτε εξελικτικής σύγκλισης, ως προσαρμογή σε κοινούς περιβαλλοντικούς παράγοντες. Σε οποιαδήποτε περίπτωση αποδεικνύεται ότι δεν αποτελούν μονοφυλετικούς χαρακτήρες και η χρήση τους στην εκτίμηση των σχέσεων των ειδών είναι παραπλανητική. Η χρησιμότητά τους ως χαρακτηριστικά μπορεί επίσης να τεθεί υπό αμφισβήτηση, αφού ο ίδιος συνδυασμός χαρακτήρων οδηγεί στην αναγνώριση διαφορετικών και αποκλινόντων ειδών (π.χ. *M. guttulata* και *M. watsonana*).

Στη συνέχεια της συζήτησης για λόγους συντομίας, οι αναφορές στις γενετικές αποστάσεις θα γίνονται μόνο για το γονίδιο *cyt b* (οι γενετικές αποστάσεις μεταξύ των ειδών για όλα τα γονίδια παρατίθενται στο Παράρτημα III). Το γονίδιο αυτό είναι από τα πιο κοινά χρησιμοποιούμενα γονίδια σε μελέτες μοριακής φυλογένεσης της οικογένειας Lacertidae (Fu, 1998; Harris *et al.*, 1998; Poulakakis *et al.*, 2003; Kyriazi

et al., 2008; Cox *et al.*, 2010) και διευκολύνει την κριτική αντίληψη της βιοποικιλότητας του μελετώμενου τάξου. Αξίζει να σημειωθεί ότι η μέση γενετική ποικιλότητα του *cyt b* μεταξύ των ΑΕΓΜ της *Mesalina* (σύμφωνα με το PTP) είναι 35% μεγαλύτερη από την μέση προτεινόμενη γενετική απόσταση (σύμφωνα με τον ίδιο δείκτη) μεταξύ των ειδών των ερπετών (Harris, 2002). Η τιμή αυτή είναι εμπειρική και δεν αποτελεί απόλυτο μέτρο διάγνωσης ειδών, χρησιμεύει ωστόσο στην αντίληψη της απρόσμενα υψηλής γενετικής ποικιλότητας που αποκαλύφθηκε στην περίπτωση του γένους της *Mesalina*.

3.4.2.1. Σύμπλεγμα ειδών *M. guttulata*

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα τόσο του αλγορίθμου PTP όσο και του bGMYC αναγνωρίστηκαν 13 ανεξάρτητα εξελισσόμενες γενεαλογίες μεταπληθυσμών, μία από τις οποίες αντιστοιχεί στο είδος της *M. bahaeldini*. Η πιθανότητα η *M. guttulata* να αποτελεί σύμπλεγμα ειδών έχει αναφερθεί και σε προηγούμενη μελέτη μοριακής φυλογένεσης (Karlı *et al.*, 2008), δεδομένου ότι το είδος *M. bahaeldini* εμφανίζεται ως εσωτερικός της κλάδος. Στην παρούσα διατριβή προκύπτει ότι η ποικιλότητα του συμπλέγματος είναι πολύ υψηλότερη από ότι είχε υποτεθεί ως τώρα, με μέση γενετική απόσταση μεταξύ των 13 κλάδων του γένους να φτάνει το 16,5% για το *cyt b*. Η μορφολογία του τάξου δεν έχει μελετηθεί στο επίπεδο των πληθυσμών που αναγνωρίζονται ως διαφορετικές ΑΕΓΜ στην παρούσα μελέτη. Ωστόσο η πρόσφατη ενδελεχής ανασκόπηση της μορφολογίας της *M. bahaeldini* αφενός επιβεβαίωσε τη διακριτότητά της από την *M. guttulata*, αφετέρου οδήγησε στην διάκρισή της σε δύο υποείδη (Werner & Ashkenazi, 2010). Παράλληλα έχουν καταγραφεί πολλές παρατηρήσεις (Ross, 1988; Schleich *et al.*, 1996; Segoli *et al.*, 2002; Baha El Din, 2006), σύμφωνα με τις οποίες η μορφολογία της *M. guttulata sensu lato* είναι σημαντικά ποικιλόμορφη. Συνολικά τόσο η γενετική όσο και η μορφολογική ποικιλότητα του τάξου συνάδουν ότι χρήζει συστηματικής αναθεώρησης.

3.4.2.2. Σύμπλεγμα ειδών *M. olivieri*

Η *M. olivieri* αποτελεί το δεύτερο πιο εξαπλωμένο είδος του γένους μετά τη *M. guttulata*. Σύμφωνα με τα δείγματα που εξετάστηκαν στην παρούσα διατριβή, αναγνωρίζονται 15 ανεξάρτητα εξελισσόμενες γενεαλογίες μεταπληθυσμών. Οι ΑΕΓΜ αυτές σχηματίζουν ένα μονοφυλετικό κλάδο μαζί με τρεις του είδους *M. pasteuri*, μία του είδους *M. simoni* και μία που αντιστοιχεί σε μορφότυπο που δεν συμπίπτει με κάποια από τα περιγεγραμμένα είδη. Η μέση γενετική απόσταση μεταξύ των 21 ΑΕΓΜ του συμπλέγματος (11,8% για το *cyt b*) ήταν χαμηλότερη από εκείνη που παρατηρήθηκε για το σύμπλεγμα της *M. guttulata*, είναι πολύ κοντινή ωστόσο στην γενετική ποικιλότητα που απαντάται συνήθως μεταξύ ειδών της οικογένειας Lacertidae (Harris, 2002).

Η μορφολογική διαφοροποίηση του συμπλέγματος είναι εμφανής, δεδομένων των πολλών υποειδών που του έχουν αποδοθεί (*M. o. olivieri*, *M. o. sahare*, *M. o. susana*, *M. o. schmidii*, *M. o. latasti*), ενώ μέχρι πρότινος (Arnold, 1986a; Arnold, 1986c) τα σήμερα αναγνωρισμένα είδη *M. pasteuri*, *M. martini* και *M. simoni* θεωρούνταν επίσης υποείδη της. Επιπλέον, πολλοί μορφότυποι (*M. sp.*) κατατεθειμένοι σε συλλογές Μουσείων Φυσικής Ιστορίας (Βρετανικό Μουσείο Φυσικής Ιστορίας, Λονδίνο, Αγγλία και Μουσείο Φυσικής Ιστορίας Alexander Koenig, Βόννη, Γερμανία), αναγνωρίζονται ως μέλη του συμπλέγματος αλλά λόγω της ελλιπούς περιγραφής των μορφολογικών χαρακτηριστικών του τάξου δεν έχει καθοριστεί το ταξονομικό τους status.

Η *M. simoni* διακρίθηκε ως διαφορετικό είδος από την *M. olivieri* βάσει της διαφορετικής δομής του ημιπέους της (Arnold, 1986a), ενώ οι διαγνωστικοί χαρακτήρες που την διακρίνουν από τη τελευταία αφορούν κυρίως χρωματικά πρότυπα (Bons & Geniez, 1996; Schleich et al., 1996). Αν και το status της σε επίπεδο είδους έχει αμφισβητηθεί, από κάποιους συγγραφείς (Bons & Geniez, 1996), στηρίζεται από τα αποτελέσματα τόσο του PTP όσο και του bGMYC αλγορίθμου. Όσο αφορά τη *M. pasteuri*, πρόσφατα της αποδόθηκαν Αιγυπτιακοί πληθυσμοί (Baha El Din, 2006), βάσει της δομής του ημιπέους, που διέφεραν ωστόσο στους φολιδωτικούς χαρακτήρες από τους πληθυσμούς στη δυτική κατανομή του είδους (Μαρόκο, Αλγερία, Μαυριτανία) (Schleich et al., 1996; Baha El Din, 2006). Το

γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι η ποικιλότητα του τάξου δεν έχει μελετηθεί επαρκώς και ότι τα όρια του είδους για τους πληθυσμούς αυτούς είναι ασαφή. Στην παρούσα μελέτη αναγνωρίστηκαν τρεις ΑΕΓΜ για δείγματα αναγνωρισμένα ως *M. pasteuri*, τα οποία γενετικά τουλάχιστον διαφέρουν πολύ μεταξύ τους (μέσο όρος 15,9% για το *cyt b*).

Συνολικά, η πληθώρα των ΑΕΓΜ που ανακτήθηκαν στην παρούσα διατριβή συνάδει με τη συστηματική σύγχυση που μέχρι τώρα είχε μόνο υποτεθεί για το τάξο (Arnold, 1986a; Baha El Din, 2006).

3.4.2.3. Σύμπλεγμα ειδών *M. breviostris*

Η πιθανότητα η *M. breviostris* να αποτελεί σύμπλεγμα ειδών έχει συζητηθεί επίσης στο παρελθόν (Haas & Werner, 1969; Arnold, 1986a; Moravec, 2004; Mayer et al., 2006; Karli et al., 2008), τόσο βάσει μορφολογικών όσο και γενετικών δεδομένων. Έντονη μορφολογική διαφοροποίηση έχει περιγραφεί μεταξύ των ανατολικών (Πακιστάν, Ινδία και μέρους του Ιράν) και των δυτικών (δυτικά του Ιράν) πληθυσμών του είδους (Haas & Werner, 1969; Arnold, 1986a). Επιπλέον, φολιδωτικές διαφορές έχουν σημειωθεί και μεταξύ των δυτικών πληθυσμών, χωρίς κάποια γεωγραφική συνάφεια (Anderson, 1999; Moravec, 2004; Mayer et al., 2006 και αναφορές εκεί). Στην παρούσα μελέτη συμπεριλήφθηκαν πληθυσμοί μόνο από τη δυτική κατανομή του τάξου και αναγνωρίστηκαν συνολικά επτά γενεαλογικές γραμμές. Δύο από αυτές (*Mbr_Syr_69.2* και *Mbr_Syr_69.12*) αντιστοιχούν στους δύο πληθυσμούς από την Συρία για τους οποίους έχουν καταγραφεί φολιδωτικές διαφορές (Moravec, 2004; Mayer et al., 2006). Ο ένας αντιστοιχεί στην μορφή “Sadat” (*Mbr_Syr_69.12*) και ο δεύτερος στην μορφή “Jabal al Arab-lowland” (*Mbr_Syr_69.2*) με κύριες διαφορές στην φολίδωση του ματιού (Mayer et al., 2006). Η αντιστοιχία της μορφολογικής και της γενετικής ποικιλότητας μεταξύ αυτών των κλάδων (εξαιρώντας τον τελευταίο) συνηγορούν στο ότι πιθανότατα αντιστοιχούν σε επίπεδο είδους. Ωστόσο μια πιο λεπτομερής μελέτη που θα συμπεριελάμβανε πληθυσμούς από την Αραβική Χερσόνησο και την Ανατολική κατανομή του είδους θα αποσαφήνιζε περαιτέρω τη συστηματική του τάξου.

3.4.2.4. Σύμπλεγμα ειδών *M. watsonana*

Η *M. watsonana* θεωρούνταν μέχρι πρόσφατα υποείδος της *M. guttulata* (Arnold, 1986a). Αφού αναγνωρίστηκε σε επίπεδο είδους, κρίθηκε ότι αποτελεί μονοφυλετικό κλάδο με την *M. guttulata* (Arnold, 1986a). Αποδεικνύεται στην παρούσα διατριβή, αλλά και από ανεξάρτητη πρόσφατη μελέτη της γενετικής ποικιλότητας του είδους (Šmíd & Frynta, 2012) ότι όχι μόνο δεν αποτελεί αδερφό τάξο της *M. guttulata* αλλά είναι από τα πιο απομακρυσμένα είδη. Παρόλο που δεν υπάρχουν διαθέσιμα μορφολογικά δεδομένα η γενετική ποικιλότητα μεταξύ των τριών ειδών που αναγνωρίστηκαν βάση του PTP ήταν 13,4% για το *cyt b*, η οποία είναι ισάξια και σε κάποιες περιπτώσεις μεγαλύτερη από εκείνη που παρατηρήθηκε στα συμπλέγματα ειδών που συζητήθηκαν νωρίτερα. Συνεπώς, και η περίπτωση της *M. watsonana* όπως έχει προταθεί και στο παρελθόν (Šmíd & Frynta, 2012) χρήζει συστηματικής αναθεώρησης αφού η γενετική της ποικιλότητα αντιστοιχεί σε επίπεδο συμπλέγματος ειδών.

3.4.2.5. Λοιπά είδη

Τα είδη *M. kuri*, *M. balfouri* και *M. adramitana* αναγνωρίστηκαν ως ανεξάρτητα είδη τόσο από το PTP όσο και από το bGMYC. Η *M. kuri* είναι το μόνο είδος του γένους που αρχικά διακρίθηκε και στη συνέχεια περιγράφηκε βάσει γενετικών δεικτών (Joger & Mayer, 2002). Η διακριτότητά του από τους υπόλοιπους πληθυσμούς τη *M. balfouri* επιβεβαιώνεται και στην παρούσα μελέτη. Τα δύο είδη, *M. kuri* και *M. balfouri*, βρίσκονται μόνο στα νησιά του αρχιπελάγους Σοκότρα (Χάρτης 1.2). Η μοναδικότητα της πανίδας του αρχιπελάγους έχει σημειωθεί και βάσει άλλων ερπετών (Blanford, 1881; Macey *et al.*, 2008), παρόλο που παραμένει σημαντικά ανεξερεύνητη περιοχή. Η παλαιά απομόνωσή του από την Αραβική Χερσόνησο (34-41 εκ. χρ. πριν, Robert Macey *et al.*, 2008 και αναφορές εκεί), δικαιολογεί τον υψηλό ενδημισμό που παρατηρείται. Στην περίπτωση της *Mesalina*, λαμβάνοντας υπόψη τους χρόνους απόσχισης (~6-6,5 εκ. χρ. πριν, Εικόνα 2.4),

πιθανότατα πρόκειται για κάποιο πολύ πιο πρόσφατο και μοναδικό επεισόδιο διασποράς.

Όσο αφορά τη *M. rubropunctata* τα δύο δείγματα που αναλύθηκαν ανήκουν στη ίδια γενεαλογία μεταπληθυσμών σύμφωνα με τα αποτελέσματα του PTP. Ωστόσο, η μελέτη περισσότερων πληθυσμών του τάξου με κάλυψη μεγαλύτερου εύρους της κατανομής του θα επέτρεπε την καλύτερη εκτίμηση της ποικιλότητάς του. Τέλος, τα δύο δείγματα της *M. martini* αναγνωρίστηκαν ως δύο διαφορετικές ΑΕΓΜ με πολύ μεγάλη γενετική απόσταση μεταξύ τους (17,6%), γεγονός που από μόνο του είναι αρκετά ισχυρό για να θεωρήσουμε ότι η διάκρισή τους σε δύο είδη είναι ορθή.

3.4.3. Συμπεράσματα

Συνολικά είναι αξιοσημείωτο το γεγονός ότι τα τέσσερα είδη (*M. guttulata*, *M. olivieri*, *M. brevirostris* και *M. watsonana*) με ευρεία δειγματοληψία στην παρούσα μελέτη αποδείχθηκε ότι έχουν υψηλή γενετική διαφοροποίηση που σύμφωνα με τους αλγορίθμους που χρησιμοποιήθηκαν αντιστοιχεί σε επίπεδο συμπλέγματος ειδών. Στο ίδιο συμπέρασμα οδηγούν και οι παρατηρήσεις για μορφολογική και οικολογική διαφοροποίηση που έχουν γίνει σποραδικά για κάποιους πληθυσμούς. Σε παρόμοια συμπέρασμα καταλήγουν ένας όλο και αυξανόμενος αριθμός μελετών μοριακής φυλογένεσης τόσο στη Β. Αφρική όσο και στην Μέση Ανατολή. Η υποτίμηση της βιοποικιλότητας έχει διαπιστωθεί σε άλλα ερπετά (Fonseca et al., 2008; Kyriazi et al., 2008; Fonseca et al., 2009; Pouyani et al., 2010; Gonçalves et al., 2012) αλλά και σε πληθώρα άλλων οργανισμών (El-Niweiri & Moritz, 2008; Hojjati et al., 2009; Shaibi et al., 2009; Sousa et al., 2011). Άμεσο συμπέρασμα των παρατηρήσεων αυτών είναι ότι η γνώση μας για την βιοποικιλότητα της Β. Αφρικής και της Μέσης Ανατολής παραμένει ελλιπής.

Οι ως τώρα μελέτες μοριακών φυλογενέσεων φαίνεται να αλλάζουν σημαντικά την αντίληψή μας για τα πρότυπα βιοποικιλότητας της Β. Αφρικής και της Μέσης Ανατολής, αποδεικνύοντας ότι αντί για σχετικά λίγα είδη με ευρεία κατανομή, η μελέτη γενετικών δεικτών και δειγμάτων από μεγάλο εύρος κατανομών, αποκαλύπτει ότι πρόκειται για μεγάλο αριθμό ειδών με πολύ πιο περιορισμένες

κατανομές (Brito et al., 2013). Ωστόσο, στην πλειονότητα των μελετών οι υποθέσεις για την υποεκτίμηση του αριθμού ειδών έχουν βασιστεί κατά κύριο λόγο στη διαπίστωση μη μονοφυλετικών ειδών (Fonseca et al., 2008; Kyriazi et al., 2008; Fonseca et al., 2009). Ενώ πολύ σπάνια έχει γίνει προσέγγιση της ποικιλότητας βάσει στατιστικών μεθόδων (π.χ., Kelly et al., 2008). Η ποσοτική εκτίμηση της βιοποικιλότητας με τη βοήθεια αλγορίθμων οριοθέτησης ειδών, όπως στην παρούσα μελέτη, μπορεί να αποκαλύψει με μεγαλύτερη ευκρίνεια τα πρότυπα βιοποικιλότητας στην περιοχή μελέτης, καθώς και να διευκολύνει την αποτίμηση διαχειριστικών πρακτικών.

3.4. Βιβλιογραφία

- Agapow, P.-M., Bininda-Emonds, O.R., Crandall, K.A., Gittleman, J.L., Mace, G.M., Marshall, J.C. & Purvis, A. (2004) The impact of species concept on biodiversity studies. *The quarterly review of biology*, **79**, 161-179.
- Anderson, S.C. (1999) *The lizards of Iran*. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, St. Louis, MO.
- Arnold, E. (1986a) The hemipenis of lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae): structure, variation and systematic implications. *Journal of Natural History*, **20**, 1221-1257.
- Arnold, E. (1986b) Why copulatory organs provide so many useful taxonomic characters: the origin and maintenance of hemipenial differences in lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, **29**, 263-281.
- Arnold, E., Lanza, B., Poggesi, M. & Corti, C. (1998) Notes on the anatomy and phylogenetic position of *Eremias ercolinii* Lanza & Poggesi 1975 (Reptilia Lacertidae). *Tropical Zoology*, **11**, 235-240.
- Arnold, E.N. (1986c) The hemipenis of lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae): structure, variation and systematic implications. *Journal of Natural History*, **20**, 1221 - 1257.
- Arnot, D.E., Roper, C. & Bayoumi, R.A. (1993) Digital codes from hypervariable tandemly repeated DNA sequences in the *Plasmodium falciparum* circumsporozoite gene can genetically barcode isolates. *Molecular and biochemical parasitology*, **61**, 15-24.
- Baha El Din, S. (2006) *A guide to the Reptiles and Amphibians of Egypt*. The American University in Cairo Press, Cairo, Egypt.
- Baha El Din, S.M. (2007) A new lizard of the *Acanthodactylus scutellatus* group (Squamata: Lacertidae) from Egypt. *Zoology in the Middle East*, **40**, 21-32.
- Balletto, E. (1968) Contributo alla biogeografia della Somalia. *Bollettino dei Musei e Degli Istituti Biologici dell'Università di Genova*, **36**, 191-280.
- Barberousse, A. & Samadi, S. (2010) Species from Darwin onward. *Integrative zoology*, **5**, 187-197.
- Barracough, T.G., Birky, C.W. & Burt, A. (2003) Diversification in sexual and asexual organisms. *Evolution*, **57**, 2166-2172.
- Bauer, A.M., Parham, J.F., Brown, R.M., Stuart, B.L., Grismer, L., Papenfuss, T.J., Bohme, W., Savage, J.M., Carranza, S., Grismer, J.L., Wagner, P., Schmitz, A., Ananjeva, N.B. & Inger, R.F. (2011) Availability of new Bayesian-delimited gecko names and the importance of character-based species descriptions. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **278**, 490-492.
- Baum, D.A. & Donoghue, M.J. (1995) Choosing among alternative" phylogenetic" species concepts. *Systematic Botany*, 560-573.
- Blanford, W. (1881) Notes on the Lizards collected in Socotra by Prof. I. Bayley Balfour. *Proceedings of the Zoological Society of London* (ed by, pp. 464-469.
- Blaxter, M. (2003) Molecular systematics: counting angels with DNA. *Nature*, **421**, 122-124.
- Bons, J. & Geniez, P. (1996) *Amphibiens et reptiles du Maroc*. Asociación Herpetológica Española, Barcelona, Spain.
- Boulenger, G.A. (1890) *The fauna of British India, including Ceylon and Burma: reptilia and Batrachia*. Taylor & Francis, London, UK.

- Boulenger, G.A. (1921) *Monograph of the Lacertidae vol II*. Trustees of the British Museum of Natural History, London.
- Brito, J.C., Godinho, R., Martínez-Freiría, F., Pleguezuelos, J.M., Rebelo, H., Santos, X., Vale, C.G., Velo-Antón, G., Boratyński, Z. & Carvalho, S.B. (2013) Unravelling biodiversity, evolution and threats to conservation in the Sahara–Sahel. *Biological Reviews*, **89**, 215-231.
- Brown, J.M. & Lemmon, A.R. (2007) The importance of data partitioning and the utility of Bayes factors in Bayesian phylogenetics. *Systematic Biology*, **56**, 643-655.
- Buetikofer, L., Sacchi, R., Pupin, F., Pellitteri-Rosa, D., Razzetti, E., Pella, F. & Fasola, M. (2013) Sexual dimorphism and allometry of the lacertid *Mesalina balfouri* (Blanford, 1881), endemic to the Archipelago of Socotra (Yemen)(Squamata: Sauria: Lacertidae). *Herpetozoa*, **25**, 101-108.
- Camargo, A. (2013) Species delimitation: a decade after the renaissance. *The Species Problem - Ongoing Issues* (ed. by P.Y. Rijeka), pp. 225-247. INTECH.
- Carranza, S., Arnold, E.N., Geniez, P., Roca, J. & Mateo, J.A. (2008) Radiation, multiple dispersal and parallelism in the skinks, *Chalcides* and *Sphenops* (Squamata : Scincidae), with comments on *Scincus* and *Scincopus* and the age of the Sahara Desert. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **46**, 1071-1094.
- Casiraghi, M., Labra, M., Ferri, E., Galimberti, A. & De Mattia, F. (2010) DNA barcoding: a six-question tour to improve users' awareness about the method. *Briefings in Bioinformatics*, **11**, 440-453.
- Chan, T.M. & Grant, E. (2011) Exact algorithms and apx-hardness results for geometric set cover. *23rd Canadian Conference on Computational Geometry* (ed by, pp. 431-436. Toronto, Canada.
- Consortium, H.M.P. (2012) A framework for human microbiome research. *Nature*, **486**, 215-221.
- Cormen, T.H., Leiserson, C.E., Rivest, R.L. & Stein, C. (2001) *Introduction to algorithms*. MIT press Cambridge, Cambridge MA, USA.
- Cox, S.C., Carranza, S. & Brown, R.P. (2010) Divergence times and colonization of the Canary Islands by *Gallotia* lizards. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **56**, 747-757.
- Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R. & Posada, D. (2012) jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, **9**, 772-772.
- De Queiroz, K. (2007) Species Concepts and Species Delimitation. *Systematic Biology*, **56**, 879-886.
- Disi, A.M., Modry, D., Necas, P. & Rifai, L. (2001) *Amphibians and reptiles of the Hashemite Kingdom of Jordan. An atlas and field guide*. Chimaira, Frankfurt am Main, Germany.
- Drummond, A.J. & Rambaut, A. (2007) BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, **7**, 214.
- Edgar, R.C. (2010) Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, **26**, 2460-2461.
- Edwards, S.V. (2009) Is a new and general theory of molecular systematics emerging? *Evolution*, **63**, 1-19.
- El-Niweiri, M.A. & Moritz, R.F. (2008) Mitochondrial discrimination of honeybees (*Apis mellifera*) of Sudan. *Apidologie*, **39**, 566-573.
- Ereshefsky, M. (2010) Darwin's solution to the species problem. *Synthese*, **175**, 405-425.

- Esselstyn, J.A., Evans, B.J., Sedlock, J.L., Khan, F.A.A. & Heaney, L.R. (2012) Single-locus species delimitation: a test of the mixed Yule-coalescent model, with an empirical application to Philippine round-leaf bats. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **279**, 3678-3686.
- Felsenstein, J. (2004) *Inferring phylogenies*. Sinauer Associates Sunderland, Massachusetts, USA.
- Ferri, E., Barbuto, M., Bain, O., Galimberti, A., Uni, S., Guerrero, R., Ferte, H., Bandi, C., Martin, C. & Casiraghi, M. (2009) Integrated taxonomy: traditional approach and DNA barcoding for the identification of filarioid worms and related parasites (Nematoda). *Frontiers in Zoology*, **6**
- Flot, J.F. (2010) SeqPHASE: a web tool for interconverting PHASE input/output files and FASTA sequence alignments. *Molecular Ecology Resources*, **10**, 162-166.
- Fonseca, M.M., Brito, J.C., Paulo, O.S., Carretero, M.A. & Harris, D.J. (2009) Systematic and phylogeographical assessment of the *Acanthodactylus erythrurus* group (Reptilia: Lacertidae) based on phylogenetic analyses of mitochondrial and nuclear DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **51**, 131-142.
- Fonseca, M.M., Brito, J.C., Rebelo, H., Kalboussi, M., Larbes, S., Carretero, M.A. & Harris, D.J. (2008) Genetic variation among spiny-footed lizards in the *Acanthodactylus pardalis* group from North Africa. *African Zoology*, **43**, 8-15.
- Fontaneto, D., Herniou, E.A., Boschetti, C., Caprioli, M., Melone, G., Ricci, C. & Barraclough, T.G. (2007) Independently evolving species in asexual bdelloid rotifers. *Plos Biology*, **5**, 914-921.
- Fu, J.Z. (1998) Toward the phylogeny of the family Lacertidae: Implications from mitochondrial DNA 12S and 16S gene sequences (Reptilia : Squamata). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **9**, 118-130.
- Fu, L., Niu, B., Zhu, Z., Wu, S. & Li, W. (2012) CD-HIT: accelerated for clustering the next-generation sequencing data. *Bioinformatics*, **28**, 3150-3152.
- Fujisawa, T. & Barraclough, T.G. (2013) Delimiting Species Using Single-locus Data and the Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC) Approach: A Revised Method and Evaluation on Simulated Datasets. *Systematic Biology*, **62**, 707-724.
- Gonçalves, D.V., Brito, J.C., Crochet, P.A., Geniez, P., Padial, J.M. & Harris, D.J. (2012) Phylogeny of North African *Agama* lizards (Reptilia: Agamidae) and the role of the Sahara desert in vertebrate speciation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **64**, 582-591.
- Grummer, J.A., Bryson, R.W. & Reeder, T.W. (2014) Species delimitation using Bayes factors: simulations and application to the *Sceloporus scalaris* species group (Squamata: Phrynosomatidae). *Systematic Biology*, **63**, 119-133.
- Haas, G. & Werner, Y.L. (1969) Lizards and snakes from southwestern Asia, collected by Henry Field. *Bulletin of the Mu-seum of Comparative Zoology*, **138**, 327-406.
- Hao, X., Jiang, R. & Chen, T. (2011) Clustering 16S rRNA for OTU prediction: a method of unsupervised Bayesian clustering. *Bioinformatics*, **27**, 611-618.
- Harris, D. (2002) Reassessment of comparative genetic distance in reptiles from the mitochondrial cytochrome *b* gene. *Herpetological Journal*, **12**, 85-87.
- Harris, D., Batista, V. & Carretero, M. (2004) Assessment of genetic diversity within *Acanthodactylus erythrurus* (Reptilia: Lacertidae) in Morocco and the Iberian Peninsula using mitochondrial DNA sequence data. *Amphibia Reptilia*, **25**, 227.
- Harris, D.J. & Arnold, E.N. (2000) Elucidation of the relationships of spiny-footed lizards, *Acanthodactylus* spp. (Reptilia: Lacertidae) using mitochondrial DNA

- sequence, with comments on their biogeography and evolution. *Journal of Zoology*, **252**, 351-362.
- Harris, D.J., Arnold, E.N. & Thomas, R.H. (1998) Relationships of lacertid lizards (Reptilia : Lacertidae) estimated from mitochondrial DNA sequences and morphology. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, **265**, 1939-1948.
- Hebert, P.D.N., Ratnasingham, S. & deWaard, J.R. (2003a) Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, **270**, S96-S99.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. & DeWaard, J.R. (2003b) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, **270**, 313-321.
- Heidari, N., Faizi, H., Rastegar-Pouyani, N. & Rastegar-Pouyani, E. (2012) A New Record of *Acanthodactylus cantoris* (Sauria: Lacertidae) and Its Comparison with Closely Related *A. blanfordi* in Southeastern Iran. *Asian Herpetological Research*, **3**
- Heled, J. & Drummond, A.J. (2010) Bayesian inference of species trees from multilocus data. *Molecular Biology and Evolution*, **27**, 570-580.
- Hennig, W. (1966) *Phylogenetic Systematics*. University of Illinois Press, Urbana, USA.
- Hojjati, F., Zarre, S. & Assadi, M. (2009) Isoenzyme diversity and cryptic speciation in *Juniperus excelsa* (Cupressaceae) complex in Iran. *Biochemical Systematics and Ecology*, **37**, 193-200.
- Joger, U. & Mayer, W. (2002) A new species of *Mesalina* (Reptilia: Lacertidae) from Abd al-Kuri, Socotra Archipelago, Yemen, and a preliminary molecular phylogeny for the genus *Mesalina*. *Fauna of Arabia*, **19**, 497-505.
- Kapli, P., Lymberakis, P., Poulakakis, N., Mantziou, G., Parmakelis, A. & Mylonas, M. (2008) Molecular phylogeny of three *Mesalina* (Reptilia: Lacertidae) species (*M. guttulata*, *M. brevirostris* and *M. bahaeldini*) from North Africa and the Middle East: another case of paraphyly? *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49**, 102-110.
- Karp, R.M. (1972) Reducibility among combinatorial problems. *Complexity of Computer Computations* (ed. by R.E. Miller, J.W. Thatcher and J.D. Bohlinger). Plenum Press, New York, USA.
- Kass, R.E. & Raftery, A.E. (1995) Bayes factors. *Journal of the American Statistical Association*, **90**, 773-795.
- Katoh, K. & Toh, H. (2008) Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. *Briefings in Bioinformatics*, **9**, 286-298.
- Kelly, C.M., Barker, N.P., Villet, M.H., Broadley, D.G. & Branch, W.R. (2008) The snake family Psammophiidae (Reptilia: Serpentes): Phylogenetics and species delimitation in the African sand snakes (*Psammophis* Boie, 1825) and allied genera. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **47**, 1045-1060.
- Knowles, L.L. & Carstens, B.C. (2007) Delimiting species without monophyletic gene trees. *Systematic Biology*, **56**, 887-895.
- Knuth, D.E. (2000) Dancing links. *Millennial Perspectives in Computer Science* (ed. by J. Davies, B. Roscoe and J. Woodcock), pp. 187-214. Palgrave Macmillan, Basingstoke, UK.

- Kubatko, L.S., Carstens, B.C. & Knowles, L.L. (2009) STEM: species tree estimation using maximum likelihood for gene trees under coalescence. *Bioinformatics*, **25**, 971-973.
- Kubatko, L.S., Gibbs, H.L. & Bloomquist, E.W. (2011) Inferring species-level phylogenies and taxonomic distinctiveness using multilocus data in *Sistrurus* rattlesnakes. *Systematic Biology*, **60**, 393-409.
- Kyriazi, P., Poulakakis, N., Parmakelis, A., Crochet, P.A., Moravec, J., Rastegar-Pouyani, N., Tsigenopoulos, C.S., Magoulas, A., Mylonas, M. & Lymberakis, P. (2008) Mitochondrial DNA reveals the genealogical history of the snake-eyed lizards (*Ophisops elegans* and *O. occidentalis*) (Sauria: Lacertidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49**, 795-805.
- Leaché, A.D. & Fujita, M.K. (2010) Bayesian species delimitation in West African forest geckos (*Hemidactylus fasciatus*). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **277**, 3071-3077.
- Lemey, P., Rambaut, A., Drummond, A.J. & Suchard, M.A. (2009) Bayesian phylogeography finds its roots. *PLoS Computational Biology*, **5**, e1000520.
- Liu, L. (2008) BEST: Bayesian estimation of species trees under the coalescent model. *Bioinformatics*, **24**, 2542-2543.
- Liu, L., Yu, L., Kubatko, L., Pearl, D.K. & Edwards, S.V. (2009) Coalescent methods for estimating phylogenetic trees. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **53**, 320-328.
- Macey, R.J., Kuehl, J.V., Larson, A., Robinson, M.D., Ugurtas, I.H., Ananjeva, N.B., Rahman, H., Javed, H.I., Osman, R.M. & Doumma, A. (2008) Socotra Island the forgotten fragment of Gondwana: Unmasking chameleon lizard history with complete mitochondrial genomic data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49**, 1015-1018.
- Maddison, W.P. (1997) Gene trees in species trees. *Systematic Biology*, **46**, 523-536.
- Mayden, R.L. (1997) A hierarchy of species concepts: the denouement in the saga of the species problem. *Systematics Association Special Volume*, **54**, 381-424.
- Mayer, M., Moravec, J. & Pavlicev, M. (2006) Differentiation within Syrian populations of the lizard *Mesalina brevirostris*. *Mainland and Insular Lacertid Lizards: a Mediterranean Perspective* (ed by C. Corti, P. Lo Cascio and M. Biaggini), pp. 125-131.
- Mayer, W. (1989) Comments on SZCZERBAK's (1975) catalogue of the African Sand Lizards (Reptilia: Sauria: Eremiainae). *Herpetozoa*, **1**, 133-137.
- Mayr, E. (1982) *The growth of biological thought: Diversity, evolution, and inheritance*. The Belknap Press of Harvard University Press Cambridge, Massachusetts London, England.
- Metallinou, M. (2014) *Systematics, biogeography and evolution of selected widespread reptile genera from the arid areas of North Africa and Arabia*. phd, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain.
- Meyer, C.P. & Paulay, G. (2005) DNA barcoding: Error rates based on comprehensive sampling. *Plos Biology*, **3**, 2229-2238.
- Moravec, J. (2004) Distribution and morphological variation of the lizard *Mesalina brevirostris* in Syria. *The Biology of Lacertid lizards. Evolutionary and Ecological Perspectives* (ed. by V. Perez-Mellado, N. Riera and A. Perera), pp. 245-257. Institut d' Estudis, Recerca, Spain.
- O'Meara, B.C. (2010) New heuristic methods for joint species delimitation and species tree inference. *Systematic Biology*, **59**, 59-73.

- Padial, J.M., Miralles, A., De la Riva, I. & Vences, M. (2010) Review: The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, **7**, 1-14.
- Papadopoulou, A., Bergsten, J., Fujisawa, T., Monaghan, M.T., Barraclough, T.G. & Vogler, A.P. (2008) Speciation and DNA barcodes: testing the effects of dispersal on the formation of discrete sequence clusters. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **363**, 2987-2996.
- Pons, J., Barraclough, T.G., Gomez-Zurita, J., Cardoso, A., Duran, D.P., Hazell, S., Kamoun, S., Sumlin, W.D. & Vogler, A.P. (2006) Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology*, **55**, 595-609.
- Pook, C.E., Joger, U., Stumpel, N. & Wuster, W. (2009) When continents collide: Phylogeny, historical biogeography and systematics of the medically important viper genus *Echis* (Squamata: Serpentes: Viperidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **53**, 792-807.
- Portik, D.M., Bauer, A.M. & Jackman, T.R. (2010) The phylogenetic affinities of *Trachylepis sulcata nigra* and the intraspecific evolution of coastal melanism in the western rock skink. *African Zoology*, **45**, 147-159.
- Portik, D.M., Bauer, A.M. & Jackman, T.R. (2011) Bridging the gap: western rock skinks (*Trachylepis sulcata*) have a short history in South Africa. *Molecular Ecology*, **20**, 1744-1758.
- Poulakakis, N., Lymberakis, P., Antoniou, A., Chalkia, D., Zouros, E., Mylonas, M. & Valakos, E. (2003) Molecular phylogeny and biogeography of the wall-lizard *Podarcis erhardii* (Squamata : Lacertidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **28**, 38-46.
- Pouyani, E.R., Pouyani, N.R., Nourini, S.K., Joger, U. & Wink, M. (2010) Molecular phylogeny of the *Eremias persica* complex of the Iranian plateau (Reptilia: Lacertidae), based on mtDNA sequences. *Zoological Journal of the Linnean Society*, **158**, 641-660.
- Puillandre, N., Lambert, A., Brouillet, S. & Achaz, G. (2012) ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology*, **21**, 1864-1877.
- Raftery, A.E., Newton, M.A., Satagopan, J.M. & Krivitsky, P.N. (2007) Estimating the integrated likelihood via posterior simulation using the harmonic mean identity. *Bayesian Statistics* (ed. by J. Bernardo, M. Bayarri and J. Berger). Oxford University Press, Oxford, UK.
- Rambaut, A. & Drummond, A.J. (2008) MCMC Trace Analysis Tool. Version v1.5.0, 2003-2009. <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>,
- Rannala, B. & Yang, Z. (2013) Improved reversible jump algorithms for Bayesian species delimitation. *Genetics*, **194**, 245-253.
- Reid, N. & Carstens, B. (2012) Phylogenetic estimation error can decrease the accuracy of species delimitation: a Bayesian implementation of the general mixed Yule-coalescent model. *Bmc Evolutionary Biology*, **12**
- Robert Macey, J., Kuehl, J.V., Larson, A., Robinson, M.D., Ugurtas, I.H., Ananjeva, N.B., Rahman, H., Javed, H.I., Osman, R.M. & Doumma, A. (2008) Socotra Island the forgotten fragment of Gondwana: Unmasking chameleon lizard history with complete mitochondrial genomic data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49**, 1015-1018.
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P. & van der Mark, P. 2005. MrBayes 3.1 Manual.
- Ross, W. (1988) Observations on three species of *Mesalina* (Reptilia: Lacertidae) from East Saudi Arabia. *Fauna Saudi Arabia*, **9**, 451-456.

- Salvador, A. (1982) *A revision of the lizards of the genus Acanthodactylus (Sauria: Lacertidae)*. Zoologisches Forschungsinstitut und Museum Alexander Koenig, Bonn, Germany.
- Samadi, S. & Barberousse, A. (2009) Species: towards new, well-grounded practices. *Biological Journal of the Linnean Society*, **97**, 217-222.
- Schleich, H.H., Kästle, W. & Kabisch, K. (1996) *Amphibians and Reptiles of North Africa: Biology, Systematics, Field Guide*. Koeltz Scientific Publishers, Koenigstein, Germany.
- Schloss, P.D. & Westcott, S.L. (2011) Assessing and improving methods used in operational taxonomic unit-based approaches for 16S rRNA gene sequence analysis. *Applied and environmental microbiology*, **77**, 3219-3226.
- Segoli, M., Cohen, T. & Werner, Y.L. (2002) A new lizard of the genus *Mesalina* from Mt. Sinai, Egypt (Reptilia: Squamata: Sauria: Lacertidae). *Faunistische Abhandlungen* **23**, 157-176.
- Shaibi, T., Muñoz, I., Dall, R., Lodesani, M., De la Rúa, P. & Moritz, R. (2009) *Apis mellifera* evolutionary lineages in Northern Africa: Libya, where orient meets occident. *Insectes sociaux*, **56**, 293-300.
- Sindaco, R. & Jeremčenko, V.K. (2008) *The reptiles of the Western Palearctic*. Edizioni Belvedere, Latina, Italy.
- Šmíd, J. & Frynta, D. (2012) Genetic variability of *Mesalina watsonana* (Reptilia: Lacertidae) on the Iranian plateau and its phylogenetic and biogeographic affinities as inferred from mtDNA sequences. *Acta Herpetologica*, **7**, 139-153.
- Sousa, P., Froufe, E., Harris, D.J., Alves, P.C. & Meijden, A.v.d. (2011) Genetic diversity of Maghrebian *Hottentotta* (Scorpiones: Buthidae) scorpions based on CO1: new insights on the genus phylogeny and distribution. *African Invertebrates*, **52**, 135-143.
- Stamatakis, A. (2014) RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post-Analysis of Large Phylogenies. *Bioinformatics*, **30**, 1312-1313.
- Stephens, M. & Donnelly, P. (2003) A comparison of bayesian methods for haplotype reconstruction from population genotype data. *The American Journal of Human Genetics*, **73**, 1162-1169.
- Stephens, M. & Scheet, P. (2005) Accounting for decay of linkage disequilibrium in haplotype inference and missing-data imputation. *The American Journal of Human Genetics*, **76**, 449-462.
- Stephens, M., Smith, N.J. & Donnelly, P. (2001) A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *The American Journal of Human Genetics*, **68**, 978-989.
- Suchard, M.A., Weiss, R.E., Dorman, K.S. & Sinsheimer, J.S. (2002) Oh brother, where art thou? A Bayes factor test for recombination with uncertain heritage. *Systematic Biology*, **51**, 715-728.
- Sullivan, J., Abdo, Z., Joyce, P. & Swofford, D.L. (2005) Evaluating the performance of a successive-approximations approach to parameter optimization in maximum-likelihood phylogeny estimation. *Molecular Biology and Evolution*, **22**, 1386-1392.
- Szczerbak, N. (1974) Yashchurki Palearktiki [The Palaeartic Desert Lizards]. In. Naukova Dumka, Kiev, Russia.
- Szczerbak, N.N. (1989) Catalogue of the African Sand Lizards (Reptilia: Sauria: Eremiainae: *Lampreremias*, *Pseuderemias*, *Taenieremias*, *Mesalina*, *Meroles*). *Herpetozoa*, **1**, 119-132.

- Talavera, G., Dincă, V. & Vila, R. (2013) Factors affecting species delimitations with the GMYC model: insights from a butterfly survey. *Methods in Ecology and Evolution*, **4**, 1101-1110.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. & Kumar, S. (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, **28**, 2731-2739.
- Townsend, T.M., Mulcahy, D.G., Noonan, B.P., Sites, J.W., Kuczynski, C.A., Wiens, J.J. & Reeder, T.W. (2011) Phylogeny of iguanian lizards inferred from 29 nuclear loci, and a comparison of concatenated and species-tree approaches for an ancient, rapid radiation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **61**, 363-380.
- Wagner, P., Melville, J., Wilms, T.M. & Schmitz, A. (2011) Opening a box of cryptic taxa: the first review of the North African desert lizards in the *Trapelus mutabilis* Merrem, 1820 complex (Squamata: Agamidae) with descriptions of new taxa. *Zoological Journal of the Linnean Society*, **163**, 884-912.
- Ward, E.J. (2008) A review and comparison of four commonly used Bayesian and maximum likelihood model selection tools. *Ecological Modelling*, **211**, 1-10.
- Werner, Y.L. & Ashkenazi, S. (2010) Notes on some Egyptian Lacertidae, including a new subspecies of *Mesalina*, involving the Seligmann effect. *Turkish Journal of Zoology*, **34**, 123-133.
- Yang, Z. & Rannala, B. (2010) Bayesian species delimitation using multilocus sequence data. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**, 9264-9269.
- Yu, D.W., Ji, Y., Emerson, B.C., Wang, X., Ye, C., Yang, C. & Ding, Z. (2012) Biodiversity soup: metabarcoding of arthropods for rapid biodiversity assessment and biomonitoring. *Methods in Ecology and Evolution*, **3**, 613-623.
- Zhang, J., Kapli, P., Pavlidis, P. & Stamatakis, A. (2013) A General Species Delimitation Method with Applications to Phylogenetic Placements. *Bioinformatics*, **29**, 2869-2876.

Κεφάλαιο 4^ο: Γενική Συζήτηση - Συμπεράσματα

4. Γενική Συζήτηση/Συμπεράσματα

4.1. Συμβολή ιστορικών δειγμάτων και μουσειακών συλλογών

Πολλά μουσεία και ακαδημαϊκά ινστιτούτα διατηρούν μεγάλο εύρος συλλογών βιολογικού υλικού. Οι συλλογές αυτές μπορεί να αφορούν απολιθώματα, μούμιες, ολόκληρους οργανισμούς διατηρημένους σε διαλύματα συντήρησης (συνήθως διάλυμα αλκοόλης ή φορμόλης) ή καταψύξεις μέχρι και κυτταροσειρές, ιούς και άλλα. Οι συλλογές αυτές, όπως έχει περιγραφεί σε προηγούμενες μελέτες (Shaffer *et al.*, 1998; Krishtalka & Humphrey, 2000; Ponder *et al.*, 2001; Suarez & Tsutsui, 2004) είναι ανεκτίμητες σε μεγάλο εύρος επιστημονικών πεδίων.

Η πρόσβαση στην περιοχή μελέτης της παρούσας εργασίας, η οποία αποτελεί μια από τις ευρύτερες ερημικές ζωογεωγραφικές περιοχές δεν είναι εύκολο εγχείρημα. Οι εκτενείς έρημοι και η μακροχρόνια κοινωνικό-πολιτική αστάθεια καθιστούν τη διεξαγωγή δειγματοληψιών πολύ πιο δύσκολη (Brito *et al.*, 2013). Μία επιπρόσθετη δυσκολία, που θα ήταν δύσκολο να ξεπεραστεί χωρίς τη συμβολή των μουσειακών συλλογών στην περίπτωση της *Mesalina*, είναι το εύρος κατανομής. Τα είδη του γένους εμφανίζονται σε όλη την Σαχαρο-Αραβική κατανομή, καλύπτοντας τουλάχιστον 30 χώρες. Για τη συλλογή ικανού αριθμού δειγμάτων που να εκπροσωπεί τόσο το εύρος της κατανομής όσο και το σύνολο των περιγεγραμμένων ειδών, θα απαιτούνταν μεγάλο ανθρώπινο δυναμικό, οικονομικό κόστος και χρόνιες προσπάθειες.

Τα δείγματα της *Mesalina* που είναι κατατεθειμένα στις μουσειακές συλλογές ξεπερνούν τα 1000 (λαμβάνοντας υπόψη τα δείγματα του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας του Λονδίνου, της Βόννης, της Κρήτης και τη συλλογή του CEFÉ). Παρόλο που καμία από αυτές τις συλλογές δεν πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη συλλογή δειγμάτων του γένους, ο αριθμός είναι τόσο μεγάλος που αντιπροσωπεύονται όλα τα περιγεγραμμένα είδη και καλύπτεται το σύνολο της κατανομής του καθενός. Το αρνητικό, της πλειονότητας των μουσειακών συλλογών είναι ότι μέχρι σχετικά πρόσφατα τα δείγματα ερπετών, αμφιβίων, ψαριών και πολλών χερσαίων και θαλάσσιων ασπόνδυλων έχουν διατηρηθεί σε διαλύματα αλκοόλης ή φορμόλης που δεν είναι κατάλληλα για τη διατήρηση του γενωμικού τους υλικού (Austin &

Melville, 2006). Ιδιαίτερα, τα δείγματα που είναι διατηρημένα ή έχουν περάσει έστω και για λίγο από διαλύματα φορμόλης πάσχουν από το φαινόμενο «*cross-linking*»¹⁴ που καθιστά τον πολλαπλασιασμό γενετικών δεικτών στις περισσότερες περιπτώσεις αδύνατο (Schander & Kenneth, 2003). Οι παλαιότερες και πιο πλήρεις ζωολογικές συλλογές της Ευρώπης (ΜΦΙ του Λονδίνου, της Βόννης και της Βιέννης) έχουν ακολουθήσει πρωτόκολλα συντήρησης που περιλαμβάνουν τουλάχιστον εικοσιτετράωρη επώαση των δειγμάτων σε φορμόλη, με συνέπεια να μην προσφέρονται για τη χρήση σε μελέτες μοριακής φυλογένεσης.

Για την πραγματοποίηση της παρούσας μελέτης συγκεντρώθηκαν 370 δείγματα του γένους που αντιστοιχούν σε 12 από τα 14 είδη του, καλύπτοντας το μεγαλύτερο μέρος της εξάπλωσής τους. Η συγκέντρωση των δειγμάτων αποτέλεσε μια διαδικασία που εκτυλίχθηκε σταδιακά για περίπου δύο χρόνια. Συνολικά αποφεύχθηκαν δείγματα συντηρημένα σε διαλύματα φορμόλης (για μεγάλα διαστήματα), εκτός από περιπτώσεις που θα είχαν μεγάλη συμβολή στην μελέτη της φυλογένεσης του γένους. Στο σύνολο σχεδόν των δειγμάτων επιχειρήθηκε απομόνωση και πολλαπλασιασμός των μιτοχονδριακών γονιδίων, η οποία ήταν επιτυχής για 193 από αυτά. Κατά κύριο, αν όχι και μοναδικό λόγο, η αποτυχία οφειλόταν στην κακή συντήρηση των δειγμάτων. Από τις συλλογές που χρησιμοποιήθηκε υλικό (Παράρτημα Ι), η συλλογή του ΜΦΙ της Βόννης και του Ισραήλ είχαν τη χαμηλότερη ποιότητα δειγμάτων, αφού τα περισσότερα δείγματα είχαν εμβαπτιστεί σε φορμόλη. Τα υπόλοιπα δείγματα προήλθαν από πολύ πιο πρόσφατες συλλογές ιδρυμάτων (συμπεριλαμβανομένου του ΜΦΙ της Κρήτης) ή ερευνητών που χρησιμοποιούν μεθόδους συμβατές και με τη συντήρηση του γενωμικού υλικού [καθαρή αλκοόλη, κατάψυξη (-20°C)]. Αξίζει να σημειωθεί ότι η ανάπτυξη της νέας τεχνολογίας αλληλούχησης και η εφαρμογή της σε δείγματα αρχαίου DNA (Knapp & Hofreiter, 2010) αναμένεται ότι θα επιτρέψει ακόμα μεγαλύτερη αξιοποίηση των ιστορικών δειγμάτων οποιασδήποτε συντήρησης.

¹⁴ Δημιουργία χημικών δεσμών μεταξύ πρωτεϊνών ή πρωτεϊνών και DNA ή μεταξύ διαφορετικών μορίων DNA. Οι δεσμοί αυτοί είναι πολύ δύσκολο να αναστραφούν υπό τις περισσότερες συνθήκες θερμοκρασίας, pH και χρόνου κατά την έκθεση των δειγμάτων σε διαλύματα φορμόλης (Schander & Kenneth, 2003).

4.2. Συμβολή γενετικών δεικτών σε δυσπρόσιτες/ανεξερεύνητες περιοχές

Αν και ο αριθμός των ειδών του πλανήτη μπορεί να είναι της τάξης των 100 εκατομμυρίων (May, 1988; Blaxter, 2003), ο αριθμός των περιγραμμένων ειδών αντιστοιχεί σε ένα πολύ μικρό ποσοστό από αυτά. Ενδεικτικό του ρυθμού αναγνώρισης με τις μέχρι τώρα μεθόδους είναι ότι τα τελευταία 200 χρόνια έχουν αναγνωριστεί μόλις 1,7 εκατομμύρια είδη (Savolainen *et al.*, 2005). Δεδομένων των κλιματικών αλλαγών και της απώλειας της βιοποικιλότητας με τη συνεισφορά της ανθρώπινης δραστηριότητας (Chapin *et al.*, 2000), εκφράστηκε η ανάγκη για πιο γρήγορη και αντικειμενική εκτίμηση της βιοποικιλότητας. Την πολυπόθητη αυτή επιτάχυνση των διαδικασιών εκτίμησης έχει προσφέρει η χρήση μεθόδων για την οριοθέτηση ειδών βάσει γενετικών δεικτών (Vogler & Monaghan, 2007). Παρόλο που τέτοιου τύπου μέθοδοι είναι διαθέσιμες τα τελευταία τριάντα χρόνια (Vogler & Monaghan, 2007 και αναφορές εκεί), μόλις τα τελευταία δέκα άρχισε να παρατηρείται αύξηση των δημοσιεύσεων στο αντικείμενο. Η αιτία της αυξημένης δραστηριότητας υπήρξε η εισαγωγή της ιδέας του «DNA-barcoding» (Hebert *et al.*, 2003b; Hebert *et al.*, 2003a) καθώς και της νέας τεχνολογίας αλληλούχισης.

Η συνδυαστική χρήση των μεθόδων αυτών με την αξιοποίηση μουσειακών δειγμάτων προσφέρει ακόμα μεγαλύτερη επιτάχυνση στην προσπάθεια ποσοτικοποίησης της βιοποικιλότητας. Η διαδικασία απομόνωσης γενετικών δεικτών γίνεται σταδιακά όλο και πιο γρήγορα και οικονομικά, ενώ παράλληλα οι μουσειακές συλλογές προσφέρουν πρόσβαση σε δείγματα που διαφορετικά η συλλογή τους, όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα, θα ήταν πολύ δαπανηρή (όπου θα ήταν δυνατή). Προς την επιτάχυνση των διαδικασιών αποτίμησης της βιοποικιλότητας συμβάλλει και η νέα μεθοδολογία που προτείνεται στην παρούσα διατριβή, η οποία δρα συμπληρωματικά σε προηγούμενα περιγραμμένες μεθόδους (Reid & Carstens, 2012; Fujisawa & Barraclough, 2013; Zhang *et al.*, 2013). Η χρήση της μεθοδολογίας και των μουσειακών δειγμάτων επέτρεψε την εκτίμηση μιας τουλάχιστον διάστασης της βιοποικιλότητας (γενετική ποικιλότητα), σε μια τόσο μεγάλη και ανεξερεύνητη περιοχή.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η ανάπτυξη των μεθόδων οριοθέτησης ειδών πέραν της πρακτικής τους σημασίας, αναζωπύρωσε και μια σειρά συζητήσεων αξιολόγησης

των κριτηρίων αναγνώρισης ειδών, αλλά και καθεαυτού του συστήματος ταξινόμησης (π.χ., Dayrat, 2005; Will *et al.*, 2005; Casiraghi *et al.*, 2010; Padial *et al.*, 2010). Η άποψη που επικρατεί είναι ότι η εγκυρότερη διάγνωση δύο αποκλινόντων γενεαλογιών, διασφαλίζεται με την καταγραφή πολλαπλών χαρακτήρων που την αποδεικνύουν. Η άποψη αυτή συνάδει και έχει συζητηθεί στο πλαίσιο της *Ενωτικής Ταξινομίας* «Integrative Taxonomy» (Dayrat, 2005). Η προσέγγιση της ταξινομίας υπό αυτούς τους όρους είναι συμβατή και με τη θεώρηση του είδους ως «ανεξάρτητα εξελισσόμενη γενεαλογία μεταπληθυσμών» (De Queiroz, 2007), που υιοθετείται και στην παρούσα διατριβή. Συνεπώς, η χρήση γενετικών μεθόδων μπορεί μεν να προσφέρει μια γρήγορη και ανέξοδη εκτίμηση της ποικιλότητας σε ανεξερεύνητες περιοχές, για τις οποίες οι γνώσεις μας είναι πολύ φτωχές, δεν μπορεί ωστόσο να αποτελέσει μοναδική και ικανή συνθήκη για την περιγραφή νέων ειδών.

4.3. Ευρήματα συστηματικής μελέτης του γένους *Mesalina*

Η συστηματική μελέτη του γένους *Mesalina* αποτέλεσε ένα σημαντικό παράδειγμα αξιοποίησης των προτερημάτων των μουσειακών συλλογών και των μοριακών μεθόδων που περιγράφονται παραπάνω. Η συγκριτική μελέτη της εξελικτικής ιστορίας του γένους με άλλες ομάδες ερπετών της περιοχής συνέβαλε στην αποκρυστάλλωση των ιστορικών διαδικασιών που έχουν επηρεάσει τα πρότυπα της ερπετοπανίδας της Σαχαρο-Αραβικής περιοχής.

Σύμφωνα, με τα αποτελέσματα, το γένος εμφανίστηκε κατά το πρώιμο Μειόκαινο (21-23 εκ. χρ. πριν) στην περιοχή της Μέσης Ανατολής. Η γεωγραφική του κατανομή και τα πρότυπα βιοποικιλότητας, φαίνεται να έχουν διαμορφωθεί από τη συμβολή των τεκτονικών κινήσεων της Αραβικής Χερσονήσου και των κλιματικών ταλαντώσεων που έχουν προκύψει από το Μειόκαινο. Η μεγάλη συχνότητα απομόνωσης και επανένωσης πληθυσμών στις ερημικές εκτάσεις της Β. Αφρικής και της Μέσης Ανατολής λόγω κλιματικών μεταβολών πιθανώς να είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού ειδών του. Η κύρια συγκέντρωση βιοποικιλότητας απαντάται στις ορεινές περιοχές (Μαρόκο, Μαυριτανία, Υεμένη, δυτική ακτή της Σαουδικής Αραβίας) που αποτέλεσαν καταφύγια (Schleich *et al.*, 1996; Brito *et al.*, 2013) κατά τη διάρκεια των υπερ-ξηρών περιόδων. Οι ίδιοι

ιστορικοί λόγοι έχουν αναφερθεί να επηρεάζουν και άλλα τάξα της Σαχαρο-Αραβικής περιοχής (*Echis*, *Stenodactylus*) ή υποσύνολο αυτής (*Uromastyx*, *Agama*) είτε Αφρικανικής είτε Ασιατικής καταγωγής (Carranza *et al.*, 2008; Pook *et al.*, 2009; Gonçaves *et al.*, 2012; Metallinou *et al.*, 2012; Brito *et al.*, 2013). Ενώ αναλογίες έχουν παρατηρηθεί και στη μελέτη άλλων ερημικών ζωογεωγραφικών ζωνών, όπως στην περίπτωση της Αυστραλίας (Pianka, 1969; Pepper *et al.*, 2011), αποκαλύπτοντας ότι πρόκειται για πρότυπα που αφορούν ευρύτερα τα ερημικά ενδιαιτήματα.

Ο αριθμός των ειδών του γένους εκτιμώμενος βάσει μορφολογίας προέκυψε να είναι σημαντικά χαμηλότερος σε σύγκριση με τον αριθμό ειδών βάσει γενετικής ποικιλότητας. Η απόκλιση αυτή ενδεχομένως να οφείλεται και στον περιορισμένο αριθμό δειγμάτων που έχουν εξεταστεί στην περίπτωση της *Mesalina*. Προς αυτήν την κατεύθυνση συνάδει και το γεγονός ότι η πιο ενδελεχής και συστηματική μελέτη άλλων σαυρών στην Σαχαρο-Αραβική περιοχή (Salvador, 1982; Metallinou, 2014) έχει οδηγήσει στην αναγνώριση σημαντικά μεγαλύτερου αριθμού ειδών. Ωστόσο, η αδυναμία αντίληψης της βιοποικιλότητας του γένους βάσει μορφολογίας δεν οφείλεται απαραίτητα ή αποκλειστικά σε ελλιπή δεδομένα. Στην περίπτωση της *Mesalina* μπορεί να παρατηρήσει κανείς ότι εντός των συμπλεγμάτων των ειδών (παράγραφος 3.4.2) έχει καταγραφεί μορφολογική ποικιλότητα. Ο αριθμός όμως των μορφολογικών χαρακτήρων που διαφοροποιούνται στο γένος (Schleich *et al.*, 1996, Baha El Din, 2006) είναι περιορισμένος, ενώ οι διαφορετικές καταστάσεις των χαρακτήρων αυτών έχουν προκύψει ανεξάρτητα πάνω από μια φορές (Εικόνα 3.4.). Ως αποτέλεσμα παρατηρούμε ότι ο ίδιος συνδυασμός χαρακτήρων προκύπτει σε εξελικτικά απομακρυσμένους κλάδους (π.χ. συμπλέγματα *M. guttulata* και *M. watsonana*). Η αδυναμία αυτή των μορφολογικών χαρακτήρων να αποτυπώσουν σχέσεις και να διαφοροποιούν είδη, μπορεί να αποδοθεί στο φαινόμενο της μορφολογικής στάσης («*morphological stasis*») που έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση κρυπτικών ειδών (Bickford *et al.*, 2007). Το φαινόμενο έχει αποδοθεί στον περιορισμένο αριθμό αποκρίσεων που μπορεί να έχει ένας οργανισμός σε σκληρά περιβάλλοντα και κατά συνέπεια τη σύγκλιση μορφολογικών χαρακτήρων και τη πιθανή διαφοροποίηση των ειδών σε μη οπτικά-χαρακτηριστικά (Rothschild & Mancinelli, 2001, Bickford *et al.*, 2007). Η υπόθεση αυτή αξίζει ιδιαίτερης προσοχής στην περίπτωση της *Mesalina*, ιδιαίτερα αν αναλογιστεί κανείς ότι η διαφοροποίηση των γενετικών οργάνων, στους πληθυσμούς της *Mesalina* όπου έχει εξεταστεί, έχει

δώσει σαφείς διαχωρισμούς σε συμπάτριους πληθυσμούς εκεί που οι φολιδωτικοί χαρακτήρες έχουν αποτύχει (Arnold, 1986a, Arnold, 1986b). Εντούτοις το φαινόμενο των κρυπτικών ειδών και της μορφολογικής στάσης έχει βρεθεί ότι αφορά μεγάλο εύρος οργανισμών και βιογεωγραφικών ζωνών (Pfenninger & Schwenk, 2007) και όχι μόνο ακραία περιβάλλοντα [π.χ. βαθεία θάλασσα (Vrijenhoek et al., 1994), αρκτική τούνδρα (Grundt et al., 2006) ή ερήμους όπως και στην παρούσα μελέτη]. Συνεπώς, το φαινόμενο δεν συνδέεται απαραίτητα με την κατανομή του γένους στο ακραίο ερημικό περιβάλλον. Αναδεικνύεται ωστόσο η ανάγκη για την συνεκτίμηση της γενετικής ποικιλότητας στην αξιολόγηση της βιοποικιλότητας οποιουδήποτε οικοσυστήματος και στην ταξινόμηση των ειδών.

4.4. Σημασία μελέτης ερημικών οικοσυστημάτων

Η Μεσογειακή λεκάνη έχει συμπεριληφθεί ανάμεσα στα 25 παγκόσμια κέντρα χερσαίας βιοποικιλότητας (Myers et al., 2000, Brooks et al., 2006). Τα υψηλά ποσοστά βιοποικιλότητας που καταγράφονται στις περιοχές αυτές είναι το αποτέλεσμα μακροχρόνιων διεργασιών που αφορούν τόσο αυτές καθαυτές όσο και στις ευρύτερες περιοχές που τις πλαισιώνουν (Weiss & Ferrand, 2007; Brito et al., 2013). Στην περίπτωση της Μεσογειακής λεκάνης, η ισάξια μελέτη της νότιας και της ανατολικής (Β. Αφρική και Μέση Ανατολή) με τη βόρεια (Ευρωπαϊκή) πλευρά της, θα οδηγήσει στην πλήρη κατανόηση των προτύπων βιοποικιλότητας που παρατηρούμε σήμερα. Σε αντίθεση με την Ευρωπαϊκή πλευρά η Β. Αφρική και η Μέση Ανατολή χαρακτηρίζεται από την εκτεταμένη ερημική ζώνη, η οποία συγκαταλέγεται στις πιο ευπαθείς μέγα-διαπλάσεις του πλανήτη (Lomolino et al., 2010), φιλοξενώντας μάλιστα μεγάλο αριθμό ειδών (Durant et al., 2012), πολλά από τα οποία ανήκουν στα πλέον κινδυνεύοντα (IUCN, www.redlist.org). Συνεπώς, η συστηματική μελέτη της ζώνης αυτής είναι επιτακτική εκτός των άλλων και λόγω της αυξανόμενης ανθρώπινης δραστηριότητας και κλιματικών αλλαγών που έχουν άμεσο αντίκτυπο τη μείωση της βιοποικιλότητάς τους (Trape, 2009; Lomolino et al., 2010; Brito et al., 2013). Πιο αναλυτικά η καταγραφή της βιοποικιλότητας καθώς και η κατανόηση των ιστορικών διεργασιών που έχουν επηρεάσει τα πρότυπα κατανομών που παρατηρούμε σήμερα στην περιοχή μελέτης μπορεί να προσφέρει διττό όφελος:

A) Η κατανόηση των μηχανισμών ειδογένεσης σε τόσο εξαιρετικά δυναμικά οικοσυστήματα αποτελεί από τις μεγαλύτερες προκλήσεις στο χώρο της ιστορικής βιογεωγραφίας. Οι αυξομειώσεις των ορίων των ερημικών εκτάσεων από το Μειόκαινο (Le Houérou, 1997; Schuster *et al.*, 2006b, a; Micheels *et al.*, 2009) έχουν επανειλημμένα απομονώσει και επανενώσει τους πληθυσμούς που απαντώνται σε ερημικούς οικοτόπους. Στο ανώτερο Πλειόκαινο μόνο, εκτιμάται ότι υπήρξαν τουλάχιστον οχτώ με δέκα κύκλοι εναλλαγής περιόδων υγρού και ξηρού κλίματος με κάποιες από αυτές να διαρκούν λιγότερο από 100.000 χρόνια (Le Houérou, 1997). Αν και οι επιπτώσεις των έντονων αυτών εναλλαγών στην πανίδα της περιοχής αναμένεται να ήταν σφοδρές, η διαθέσιμη γνώση δεν είναι επαρκής για την πλήρη εκτίμησή τους. Διαισθητικά μπορεί να δημιουργείται η αίσθηση ότι η εξάπλωση των ερήμων έχει ως αποτέλεσμα την ομογενοποίηση των πληθυσμών, ωστόσο οι συνεχείς απομονώσεις και επανενώσεις πληθυσμών είναι πιο πιθανό να επάγουν όλο και ισχυρότερους μηχανισμούς απομόνωσης. Σε ομάδες θηλαστικών, πτηνών και αμφιβίων, οι ερημικές εκτάσεις έχουν παρουσιαστεί κατά κύριο λόγο ως φράγμα στην εξάπλωση πληθυσμών ή ως βικαριανιστικός παράγοντας μεταξύ πληθυσμών (Main *et al.*, 1958; Douady & Douzery, 2003; Bossuyt *et al.*, 2006; Smit *et al.*, 2007; Illera *et al.*, 2008). Αντίθετα, η μελέτη ερπετών έχει αναδείξει την συμβολή των δυναμικών ερημικών οικοτόπων στην αύξηση της ποικιλότητας (Carranza *et al.*, 2008; Pook *et al.*, 2009; Metallinou *et al.*, 2012). Η εναλλαγή οικοτόπων όπως έχει συμβεί στην Σαχαρο-Αραβική περιοχή αλλά και στην Αυστραλιανή έρημο έχει θεωρηθεί εφάμιλλη και ανώτερη από αρχιπελάγη όσο αφορά την ικανότητα της να «παράγει» νέα είδη (Pianka, 1969). Επιπλέον πολλοί οργανισμοί έχουν αναπτύξει ισχυρές προσαρμογές (Kearney, 2003) ως απόκριση στις υψηλές απαιτήσεις διαβίωσης των ερημικών οικοτόπων. Στην περίπτωση της *Mesalina* η αναγνώριση τριπλάσιου αριθμού ειδών, βάσει της γενετικής ποικιλότητας από αυτά που αναγνωρίζονται από την κλασική ταξινομική, συνάδει με την ιδέα ότι η εναλλαγή των συνθηκών μπορεί να έχει οδηγήσει στην αύξηση της ποικιλότητας. Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί ότι οι διαφορές που παρατηρούνται στο μέγεθος και τη συμμετρία της δομής του ημιπέους (Arnold, 1986a; Arnold, 1986b) πιθανά υποδεικνύουν ότι έχουν επιλεγεί μηχανισμοί απομόνωσης που έχουν ως αποτέλεσμα την αποφυγή υβριδισμών. Δεδομένου ότι αυτές οι απότομες αλλαγές της δομής του ημιπέους παρατηρούνται πιο έντονα σε σαύρες τις οικογένειες Lacertidae που κατανέμονται σε ανοικτές και ξηρές περιοχές,

θα μπορούσε να υποθεθεί ότι είναι μια απάντηση σε δραστικές αλλαγές των ερημικών οικοτόπων, προκειμένου να αποφευχθούν δευτερογενείς υβριδισμοί επαφής.

Συνοψίζοντας, η αποτύπωση των εξελικτικών μηχανισμών σε ένα τόσο ασταθές και ταυτόχρονα τόσο απαιτητικό οικοσύστημα θα αναβάθμιζε συνολικά την αντίληψη μας για την εξέλιξη των ειδών. Στο πλαίσιο αυτό η υψηλή ποικιλότητα και η αποτύπωση της πλειοψηφίας των ιστορικών διεργασιών που έχουν παρατηρηθεί στην μελέτη άλλων ομάδων, καθιστά τη *Mesalina* από τους ιδανικότερους φυλογεωγραφικούς δείκτες της Σαχαρο-Αραβικής περιοχής.

B) Πέραν της καθαρής ερευνητικής αξίας της μελέτης των ερημικών οικοσυστημάτων και δεδομένης της υπερθέρμανσης του πλανήτη και των απειλών προς ερημοποίηση του γειτονικού μεσογειακού οικοσυστήματος (Cox *et al.*, 2000; Safriel, 2009), η κατανόηση της ποικιλότητας των ερημικών περιοχών κρίνεται ιδιαίτερα σημαντική προς όφελος και προστασία του ανθρώπινου πολιτισμού. Το ζήτημα της ερημοποίησης έχει εγείρει έντονες πολιτικές και επιστημονικές συζητήσεις. Ο ίδιος ο όρος «ερημοποίηση» έχει χρησιμοποιηθεί με πολλούς διαφορετικούς τρόπους, αντανακλώντας τον διαφορετικό τρόπο που γινόταν αντιληπτό το φαινόμενο (για περισσότερες πληροφορίες βλέπε Glantz & Orlovsky, 1983; Vogt *et al.*, 2011). Ως επίσημο ορισμό σήμερα δεχόμαστε αυτόν του διεθνή οργανισμού «United Nations Convention to Combat Desertification» (<http://www.unccd.int/en/Pages/default.aspx>), σύμφωνα με τον οποίο ως ερημοποίηση ορίζεται «η υποβάθμιση του εδάφους σε ερημικές, ημί-ερημικές και ημί-ξηρές ύφυγρες περιοχές, ως αποτέλεσμα διαφόρων παραγόντων, μεταξύ των οποίων είναι οι κλιματικές διακυμάνσεις και η ανθρώπινη δραστηριότητα»¹⁵, όπου ως υποβάθμιση θεωρείται «η μείωση ή η απώλεια βιολογικής ή οικονομικής παραγωγικότητας». Ωστόσο και αυτός ο όρος αφήνει περιθώρια διαφορετικών ερμηνειών με αποτέλεσμα να δημιουργούνται ασάφειες (Vogt *et al.*, 2011). Η πιο ενδελεχής μελέτη των αβιοτικών παραγόντων αλλά και των βιολογικών διεργασιών που συνδέονται με τους ερημικούς βιοτόπους θα συνέβαλλε σημαντικά στην κατανόηση, τον ορισμό και συνεπώς στην ορθότερη διαχείριση του φαινομένου της ερημοποίησης. Σε αυτό το πλαίσιο, η συστηματική μελέτη ερημικών τάξων όπως η *Mesalina* μπορεί να συμβάλει σημαντικά, γνωρίζοντας ότι η εξελικτική της ιστορία

¹⁵ Ακριβής διατύπωση: «*desertification is 'land degradation in arid, semi-arid and dry sub-humid areas, resulting from various factors, including climatic variations and human activities'*»

είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με τον σχηματισμό και τη διακύμανση των ερημικών εκτάσεων. Συνεπώς, η παρακολούθηση της κατανομής των ειδών της, μπορεί να συμβάλει στην παρακολούθηση, την εξάπλωση και την κατανόηση του φαινομένου της ερημοποίησης.

4.5. Βιβλιογραφία

- Arnold, E. (1986a) Why copulatory organs provide so many useful taxonomic characters: the origin and maintenance of hemipenial differences in lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 29, 263-281.
- Arnold, E.N. (1986b) The hemipenis of lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae): structure, variation and systematic implications. *Journal of Natural History*, 20, 1221 - 1257.
- Austin, J.J. & Melville, J. (2006) Incorporating historical museum specimens into molecular systematic and conservation genetics research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 1089-1092.
- Baha El Din, S. (2006) *A guide to the Reptiles and Amphibians of Egypt*. The American University in Cairo Press, Cairo, Egypt.
- Bickford, D., Lohman, D.J., Sodhi, N.S., Ng, P.K., Meier, R., Winker, K., Ingram, K.K. & Das, I. (2007) Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 22, 148-155.
- Blaxter, M. (2003) Molecular systematics: counting angels with DNA. *Nature*, 421, 122-124.
- Bossuyt, F., Brown, R.M., Hillis, D.M., Cannatella, D.C. & Milinkovitch, M.C. (2006) Phylogeny and biogeography of a cosmopolitan frog radiation: Late Cretaceous diversification resulted in continent-scale endemism in the family Ranidae. *Systematic Biology*, 55, 579-594.
- Brito, J.C., Godinho, R., Martínez-Freiría, F., Pleguezuelos, J.M., Rebelo, H., Santos, X., Vale, C.G., Velo-Antón, G., Boratyński, Z. & Carvalho, S.B. (2013) Unravelling biodiversity, evolution and threats to conservation in the Sahara-Sahel. *Biological Reviews*, 89, 215-231.
- Carranza, S., Arnold, E.N., Geniez, P., Roca, J. & Mateo, J.A. (2008) Radiation, multiple dispersal and parallelism in the skinks, *Chalcides* and *Sphenops* (Squamata : Scincidae), with comments on *Scincus* and *Scincopus* and the age of the Sahara Desert. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 46, 1071-1094.
- Casiraghi, M., Labra, M., Ferri, E., Galimberti, A. & De Mattia, F. (2010) DNA barcoding: a six-question tour to improve users' awareness about the method. *Briefings in Bioinformatics*, 11, 440-453.
- Chapin, I.F.S., Zavaleta, E.S., Eviner, V.T., Naylor, R.L., Vitousek, P.M., Reynolds, H.L., Hooper, D.U., Lavorel, S., Sala, O.E. & Hobbie, S.E. (2000) Consequences of changing biodiversity. *Nature*, 405, 234-242.
- Cox, P.M., Betts, R.A., Jones, C.D., Spall, S.A. & Totterdell, I.J. (2000) Acceleration of global warming due to carbon-cycle feedbacks in a coupled climate model. *Nature*, 408, 184-187.
- Dayrat, B. (2005) Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85, 407-415.
- De Queiroz, K. (2007) Species Concepts and Species Delimitation. *Systematic Biology*, 56, 879-886.
- Douady, C.J. & Douzery, E.J.P. (2003) Molecular estimation of eulipotyphlan divergence times and the evolution of "Insectivora". *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 28, 285-296.
- Fujisawa, T. & Barraclough, T.G. (2013) Delimiting Species Using Single-locus Data and the Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC) Approach: A Revised Method and Evaluation on Simulated Datasets. *Systematic Biology*, 62, 707-724.

- Glantz, M.H. & Orlovsky, N. (1983) Desertification: A review of the concept. *Desertification Control Bulletin*, 9, 15-22.
- Gonçalves, D.V., Brito, J.C., Crochet, P.A., Geniez, P., Padial, J.M. & Harris, D.J. (2012) Phylogeny of North African *Agama* lizards (Reptilia: Agamidae) and the role of the Sahara desert in vertebrate speciation. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 64, 582-591.
- Grundt, H.H., Kjølnner, S., Borgen, L., Rieseberg, L.H. & Brochmann, C. (2006) High biological species diversity in the arctic flora. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 972-975.
- Hebert, P.D.N., Ratnasingham, S. & deWaard, J.R. (2003a) Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, 270, S96-S99.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. & DeWaard, J.R. (2003b) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, 270, 313-321.
- Illera, J.C., Richardson, D.S., Helm, B., Atienza, J.C. & Emerson, B.C. (2008) Phylogenetic relationships, biogeography and speciation in the avian genus *Saxicola*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48, 1145-1154.
- Knapp, M. & Hofreiter, M. (2010) Next generation sequencing of ancient DNA: requirements, strategies and perspectives. *Genes*, 1, 227-243.
- Krishtalka, L. & Humphrey, P.S. (2000) Can natural history museums capture the future? *Bioscience*, 50, 611-617.
- Le Houérou, H.N. (1997) Climate, flora and fauna changes in the Sahara over the past 500 million years. *Journal of Arid Environments*, 37, 619-647.
- Lomolino, M., Riddle, B., Whittaker, R. & Brown, J. (2010) *Biogeography*. Sinauer Associates, Massachusetts, USA.
- Main, A., Lee, A. & Littlejohn, M. (1958) Evolution in three genera of Australian frogs. *Evolution*, 12, 224-233.
- May, R.M. (1988) How many species are there on earth? *Science*, 241, 1441-1449.
- Metallinou, M. (2014) *Systematics, biogeography and evolution of selected widespread reptile genera from the arid areas of North Africa and Arabia*. phd, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain.
- Metallinou, M., Arnold, E.N., Crochet, P.A., Geniez, P., Brito, J.C., Lymberakis, P., El Din, S.B., Sindaco, R., Robinson, M. & Carranza, S. (2012) Conquering the Sahara and Arabian deserts: systematics and biogeography of *Stenodactylus* geckos (Reptilia: Gekkonidae). *BMC Evolutionary Biology*, 12, 258.
- Micheels, A., Eronen, J. & Mosbrugger, V. (2009) The Late Miocene climate response to a modern Sahara desert. *Global and Planetary Change*, 67, 193-204.
- Padial, J.M., Miralles, A., De la Riva, I. & Vences, M. (2010) Review: The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, 7, 1-14.
- Pepper, M., Fujita, M.K., Moritz, C. & Keogh, J.S. (2011) Palaeoclimate change drove diversification among isolated mountain refugia in the Australian arid zone. *Molecular Ecology*, 20, 1529-1545.
- Pfenninger, M. & Schwenk, K. (2007) Cryptic animal species are homogeneously distributed among taxa and biogeographical regions. *Bmc Evolutionary Biology*, 7, 121.
- Pianka, E.R. (1969) Habitat specificity, speciation, and species density in Australian desert lizards. *Ecology*, 50, 498-502.

- Ponder, W., Carter, G., Flemons, P. & Chapman, R. (2001) Evaluation of museum collection data for use in biodiversity assessment. *Conservation Biology*, 15, 648-657.
- Pook, C.E., Joger, U., Stumpel, N. & Wuster, W. (2009) When continents collide: Phylogeny, historical biogeography and systematics of the medically important viper genus *Echis* (Squamata: Serpentes: Viperidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 53, 792-807.
- Reid, N. & Carstens, B. (2012) Phylogenetic estimation error can decrease the accuracy of species delimitation: a Bayesian implementation of the general mixed Yule-coalescent model. *Bmc Evolutionary Biology*, 12
- Rothschild, L.J. & Mancinelli, R.L. (2001) Life in extreme environments. *Nature*, 409, 1092-1101.
- Safriel, U.N. (2009) Status of desertification in the Mediterranean region. *Water Scarcity, Land Degradation and Desertification in the Mediterranean Region: Environmental and Security Aspects* (ed. by J.L. Rubio, U. Safriel, R. Daussa, W.E.H. Blum and F. Pedrazzini), pp. 33-73. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Salvador, A. (1982) *A revision of the lizards of the genus Acanthodactylus (Sauria: Lacertidae)*. Zoologisches Forschungsinstitut und Museum Alexander Koenig, Bonn, Germany.
- Savolainen, V., Cowan, R.S., Vogler, A.P., Roderick, G.K. & Lane, R. (2005) Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360, 1805-1811.
- Schander, C. & Kennen, H.M. (2003) DNA, PCR and formalinized animal tissue: a short review and protocols. *Organisms Diversity & Evolution*, 3, 195-205.
- Schleich, H.H., Kästle, W. & Kabisch, K. (1996) *Amphibians and Reptiles of North Africa: Biology, Systematics, Field Guide*. Koeltz Scientific Publishers, Koenigstein, Germany.
- Schuster, M., Durringer, P., Ghienne, J.F., Vignaud, P., Mackaye, H.T., Likius, A. & Brunet, M. (2006a) The age of the Sahara Desert. *Science*, 311, 821-821.
- Schuster, M., Durringer, P., Ghienne, J.F., Vignaud, P., Mackaye, H.T., Likius, A. & Brunet, M. (2006b) Revisiting the age of the Sahara desert - Response. *Science*, 312, 1139-1139.
- Shaffer, H.B., Fisher, R.N. & Davidson, C. (1998) The role of natural history collections in documenting species declines. *Trends in Ecology & Evolution*, 13, 27-30.
- Smit, H.A., Robinson, T.J. & Van Vuuren, B.J. (2007) Coalescence methods reveal the impact of vicariance on the spatial genetic structure of *Elephantulus edwardii* (Afrotheria, Macroscelidea). *Molecular Ecology*, 16, 2680-2692.
- Suarez, A.V. & Tsutsui, N.D. (2004) The value of museum collections for research and society. *Bioscience*, 54, 66-74.
- Trape, S. (2009) Impact of climate change on the relict tropical fish fauna of Central Sahara: threat for the survival of Adrar mountains fishes, Mauritania. *Plos One*, 4, e4400.
- Vogler, A.P. & Monaghan, M.T. (2007) Recent advances in DNA taxonomy. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 45, 1-10.
- Vogt, J., Safriel, U., Von Maltitz, G., Sokona, Y., Zougmore, R., Bastin, G. & Hill, J. (2011) Monitoring and assessment of land degradation and desertification:

- Towards new conceptual and integrated approaches. *Land Degradation and Development*, 22, 150-165.
- Vrijenhoek, R.C., Schutz, S.J., Gustafson, R.G. & Lutz, R.A. (1994) Cryptic species of deep-sea clams (Mollusca: Bivalvia: Vesicomidae) from hydrothermal vent and cold-water seep environments. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 41, 1171-1189.
- Weiss, S. & Ferrand, N. (2007) *Phylogeography of southern European refugia: Evolutionary perspectives on the origins and conservation of European biodiversity*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Will, K.W., Mishler, B.D. & Wheeler, Q.D. (2005) The perils of DNA barcoding and the need for integrative taxonomy. *Systematic Biology*, 54, 844-851.
- Zhang, J., Kapli, P., Pavlidis, P. & Stamatakis, A. (2013) A General Species Delimitation Method with Applications to Phylogenetic Placements. *Bioinformatics*, 29, 2869-2876.

Παράρτημα Ι

Γεωγραφική προέλευση των δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή και οι κωδικοί των αλληλουχιών στην GenBank.

Λίστα των δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη: (1) κωδικός δειγμάτων Μουσείου Φυσικής Ιστορίας (NHMC) [το μέρος του κωδικού που σημειώνεται με πιο έντονους χαρακτήρες (bold) χρησιμοποιείται σε όλους τους Χάρτες και τις Εικόνες που παρουσιάζονται στην διατριβή), (2) οι αρχικοί κωδικοί των δειγμάτων από τα ινστιτούτα/συλλέκτες από όπου προήλθαν (για συντομογραφίες for abbreviations βλέπε παρακάτω), (3) όνομα είδους (*M.*, *Mesalina*; *E.*, *Eremias*; *G.*, *Gallotia*); (4) χώρα προέλευσης, (5) συντεταγμένες δειγμάτων και (6) κωδικοί πρόσβασης στις αντίστοιχες αλληλουχίες στην GenBank για τα γονίδια cytochrome *b* (*cyt b*), 16S ribosomal RNA (16S) και beta-fibrinogen intron 7 (*β-fib7*), η κατάθεση των αλληλουχιών των γονιδίων NKTR και KIF24 στην GenBank θα πραγματοποιηθεί όταν πρόκειται να δημοσιευτούν τα δεδομένα.

NHMC code	Original code	Species	Country	Latitude	Longitude	cyt b	16S	β-fib7
NHMC80.3.142.3	MA3095	<i>M. adramitana</i>	Σαουδική Αραβία	22.24207	41.44776	KM411196	KM411044	
NHMC80.3.142.2	MA3096	<i>M. adramitana</i>	Σαουδική Αραβία	22.24452	41.43198	KM411197	KM411045	KM411280
NHMC80.3.108.5		<i>M. bahaeldini</i>	Αίγυπτος	28.706398	33.748003	EF555241	EF555283	
NHMC80.3.108.4		<i>M. bahaeldini</i>	Αίγυπτος	28.5408	33.981	EF555246	EF555288	
NHMC80.3.108.3		<i>M. bahaeldini</i>	Αίγυπτος	28.5408	33.981	EF555245	EF555287	
NHMC80.3.108.2		<i>M. bahaeldini</i>	Αίγυπτος	28.5408	33.981	EF555244	EF555286	KM411276
NHMC80.3.108.1		<i>M. bahaeldini</i>	Αίγυπτος	28.5408	33.981	EF555243	EF555285	
NHMC80.3.143.4	MVZ236588	<i>M. balfouri</i>	Υεμένη	12.649999	54.033332	KM411216	KM411065	KM411290
NHMC80.3.143.3	MVZ236587	<i>M. balfouri</i>	Υεμένη	12.649999	54.033332	KM411215	KM411064	
NHMC80.3.143.2	MVZ236586	<i>M. balfouri</i>	Υεμένη	12.649999	54.033332	KM411214	KM411063	
NHMC80.3.143.1	MVZ236584	<i>M. balfouri</i>	Υεμένη	12.649999	54.033332	KM411213	KM411062	
NHMC80.3.69.9		<i>M. brevirostris</i>	Συρία	35.417393	40.319782	EF555264	EF555306	
NHMC80.3.69.6		<i>M. brevirostris</i>	Συρία	34.814173	38.789578	EF555263	EF555305	
NHMC80.3.69.30	ZFMK57929	<i>M. brevirostris</i>	Συρία	33.683063	36.495344	KM411142	KM410995	
NHMC80.3.69.3		<i>M. brevirostris</i>	Συρία	34.6	37.8315	EF555262	EF555304	KM411252
NHMC80.3.69.24	BEV.10083	<i>M. brevirostris</i>	Κουβέιτ	29.3794	47.8422	KM411237	KM411086	
NHMC80.3.69.23	BEV.10082	<i>M. brevirostris</i>	Κουβέιτ	29.843312	48.113074	KM411236	KM411085	KM411302
NHMC80.3.69.22	BEV.10070	<i>M. brevirostris</i>	Κουβέιτ	29.014401	47.977308	KM411235	KM411084	

Παράρτημα Ι

NHMC80.3.69.21	BEV.10055	<i>M. brevirostris</i>	Κουβέιτ	29.367779	47.810159	KM411234	KM411083	
NHMC80.3.69.20	MA4020	<i>M. brevirostris</i>	Σαουδική Αραβία	23.51143	41.422	KM411195	KM411043	
NHMC80.3.69.2		<i>M. brevirostris</i>	Συρία	34.599784	37.831811	EF555261	EF555303	KM411250
NHMC80.3.69.19	MA4019	<i>M. brevirostris</i>	Σαουδική Αραβία	24.2531	41.1539	KM411194	KM411042	
NHMC80.3.69.18	MA4018	<i>M. brevirostris</i>	Σαουδική Αραβία	23.5038	41.3472	KM411193	KM411041	
NHMC80.3.69.17	MA4017	<i>M. brevirostris</i>	Σαουδική Αραβία	23.53875	40.58927	KM411192	KM411040	KM411279
NHMC80.3.69.15	MA4015	<i>M. brevirostris</i>	Σαουδική Αραβία	26.4147	47.47731	KM411191	KM411039	KM411278
NHMC80.3.69.14	MA4014	<i>M. brevirostris</i>	Σαουδική Αραβία	26.41846	47.4792	KM411190	KM411038	KM411277
NHMC80.3.69.12		<i>M. brevirostris</i>	Συρία	34.293124	36.76557	EF555267	EF555309	KM411259
NHMC80.3.69.11		<i>M. brevirostris</i>	Συρία	35.4268	40.0278	EF555266	EF555308	
NHMC80.3.69.10		<i>M. brevirostris</i>	Συρία	35.4268	40.027806	EF555265	EF555307	
NHMC80.3.69.1		<i>M. brevirostris</i>	Συρία	34.361893	38.173977	EF555260	EF555302	
NHMC80.3.69.25	BEV11052	<i>M. brevirostris</i>	Κουβέιτ	29.8236	47.2502	KM411183	KM411031	
NHMC80.3.109.12	BEV.9429	<i>M. cf. simoni</i>	Μαρόκο	30.681148	8.2833578	KM411125	KM410977	KM411258
NHMC80.3.72.99	BEV.T3765	<i>M. guttulata</i>	Ιορδανία	29.647	35.434	KM411181	KM411029	
NHMC80.3.72.98	BEV.T3753	<i>M. guttulata</i>	Ιορδανία	29.6864	35.426	KM411180	KM411028	
NHMC80.3.72.97	BEV.8162	<i>M. guttulata</i>	Μαρόκο	30.07801	-6.23647	KM411097	KM410945	
NHMC80.3.72.91	BEV.T444	<i>M. guttulata</i>	Αλγερία	23.313001	9.4301997	KM411103	KM410951	
NHMC80.3.72.90	BEV.T443	<i>M. guttulata</i>	Αλγερία	25.501205	8.9995805	KM411102	KM410950	
NHMC80.3.72.9		<i>M. guttulata</i>	Μαρόκο	31.401802	5.7275956	EF555256	EF555298	
NHMC80.3.72.89	BEV.T442	<i>M. guttulata</i>	Αλγερία	24.444115	9.4138357	KM411101	KM410949	KM411242
NHMC80.3.72.88	BEV.T1616	<i>M. guttulata</i>	Ισραήλ	30.624167	34.823333	KM411100	KM410948	
NHMC80.3.72.87	BEV.T706	<i>M. guttulata</i>	Αλγερία	34.680519	3.249902	KM411099	KM410947	
NHMC80.3.72.85	BEV.976	<i>M. guttulata</i>	Μαρόκο	32.119311	1.5799487	KM411090	KM410939	
NHMC80.3.72.84	BEV.975	<i>M. guttulata</i>	Μαρόκο	32.119311	1.5799487	KM411089	KM410938	KM411241
NHMC80.3.72.83	BEV.10022	<i>M. guttulata</i>	Μαρόκο	33.289373	-3.843692	KM411088	KM410937	
NHMC80.3.72.82	BEV.10021	<i>M. guttulata</i>	Μαρόκο	33.289373	-3.843692	KM411092	KM410936	
NHMC80.3.72.8		<i>M. guttulata</i>	Λιβύη	30.465896	24.536645	EF555254	EF555296	KM411240
NHMC80.3.72.7		<i>M. guttulata</i>	Τυνησία	33.150315	10.289809	EF555270	EF555312	KM411289
NHMC80.3.72.59	BEV.10054	<i>M. guttulata</i>	Κουβέιτ	29.462447	47.640736	KM411238	KM411087	
NHMC80.3.72.57	D331	<i>M. guttulata</i>	Λιβύη	28.443267	12.779983	KM411222	KM411071	KM411295
NHMC80.3.72.55	DB897	<i>M. guttulata</i>	Μαρόκο	29.45226	8.0597499	KM411212	KM411061	
NHMC80.3.72.54	DB890	<i>M. guttulata</i>	Μαρόκο	30.39181	-6.88171	KM411211	KM411060	
NHMC80.3.72.53	DB873	<i>M. guttulata</i>	Μαρόκο	29.36977	-8.19928	KM411210	KM411059	
NHMC80.3.72.52	BEV.10915	<i>M. guttulata</i>	Ιορδανία	31.8817	36.9133	KM411179	KM411027	
NHMC80.3.72.51	BEV.10456	<i>M. guttulata</i>	Μαρόκο	32.585967	-3.760517	KM411178	KM411026	KM411275
NHMC80.3.72.5		<i>M. guttulata</i>	Μαρόκο	32.047201	4.4087891	EF555255	EF555297	
NHMC80.3.72.46	BEV.10188	<i>M. guttulata</i>	Αλγερία	25.35	8.3911	KM411173	KM411021	
NHMC80.3.72.45	BEV.T4230	<i>M. guttulata</i>	Αλγερία	34.41758	3.47975	KM411167		
NHMC80.3.72.44	BEV.10189	<i>M. guttulata</i>	Αλγερία	25.3483	8.3791	KM411165	KM411014	

Παράρτημα Ι

NHMC80.3.72.41	MA4013	<i>M. guttulata</i>	Σαουδική Αραβία	23.241667	46.453721	KM411189	KM411037	
NHMC80.3.72.40	MA4012	<i>M. guttulata</i>	Σαουδική Αραβία	23.19301	46.42228	KM411188	KM411036	
NHMC80.3.72.39	MA4011	<i>M. guttulata</i>	Σαουδική Αραβία	23.278571	46.35341	KM411187	KM411035	
NHMC80.3.72.38	MA4010	<i>M. guttulata</i>	Σαουδική Αραβία	26.4153	47.47356	KM411186	KM411034	
NHMC80.3.72.37	MA4009	<i>M. guttulata</i>	Σαουδική Αραβία	26.40661	47.706999	KM411185	KM411033	
NHMC80.3.72.36	MA4008	<i>M. guttulata</i>	Σαουδική Αραβία	26.4278	47.37894	KM411184	KM411032	
NHMC80.3.72.35		<i>M. guttulata</i>	Λιβύη	32.12449	12.807614	KM411135	KM410987	
NHMC80.3.72.31		<i>M. guttulata</i>	Λιβύη	32.0601	12.7227	KM411133	KM410984	
NHMC80.3.72.28		<i>M. guttulata</i>	Λιβύη	31.9756	12.6724	KM411131	KM410982	
NHMC80.3.72.26		<i>M. guttulata</i>	Λιβύη	32.1247	12.8068	KM411129	KM410981	KM411260
NHMC80.3.72.25		<i>M. guttulata</i>	Λιβύη	32.12449	12.807614	KM411130		
NHMC80.3.72.24		<i>M. guttulata</i>	Ιορδανία	29.570401	35.4113	EF555279	EF555321	
NHMC80.3.72.22		<i>M. guttulata</i>	Αίγυπτος	29.9651	33.1606	EF555242	EF555284	KM411285
NHMC80.3.72.21		<i>M. guttulata</i>	Μαρόκο	31.7146	-4.9221	EF555258	EF555300	
NHMC80.3.72.20		<i>M. guttulata</i>	Ιορδανία	31.2531	35.6135	EF555250	EF555292	
NHMC80.3.72.2		<i>M. guttulata</i>	Τυνησία	33.522494	9.9925294	EF555269	EF555311	
NHMC80.3.72.18		<i>M. guttulata</i>	Μαρόκο	31.088206	-6.467285	EF555257	EF555299	KM411268
NHMC80.3.72.17		<i>M. guttulata</i>	Ιορδανία	31.9116	36.6168	EF555278	EF555320	
NHMC80.3.72.16		<i>M. guttulata</i>	Ιορδανία	31.9116	36.6168	EF555277	EF555319	
NHMC80.3.72.15		<i>M. guttulata</i>	Ιορδανία	31.9116	36.6168	EF555276	EF555318	KM411265
NHMC80.3.72.14		<i>M. guttulata</i>	Ιορδανία	31.9116	36.616799	EF555275	EF555317	
NHMC80.3.72.13		<i>M. guttulata</i>	Ιορδανία	30.702216	35.584101	EF555253	EF555295	
NHMC80.3.72.111	ZFMK 63501	<i>M. guttulata</i>	Ιορδανία	30.3289	35.4426	KM411201	KM411049	
NHMC80.3.72.11		<i>M. guttulata</i>	Ιορδανία	31.2531	35.6135	EF555252	EF555294	
NHMC80.3.72.100	BEV.T3766	<i>M. guttulata</i>	Ιορδανία	31.5615	35.7827	KM411182	KM411030	
NHMC80.3.72.10		<i>M. guttulata</i>	Ιορδανία	31.2531	35.6135	EF555251	EF555293	
NHMC80.3.72.1		<i>M. guttulata</i>	Τυνησία	33.522494	9.9925294	EF555268	EF555310	
NHMC80.3.72.96	BEV.8832	<i>M. guttulata</i>	Ισραήλ	31.064824	34.840559	KM411096	KM410944	
NHMC80.3.72.95	BEV.8831	<i>M. guttulata</i>	Ισραήλ	31.064824	34.840559	KM411095	KM410943	
NHMC80.3.72.94	BEV.8800	<i>M. guttulata</i>	Ισραήλ	30.7077	34.7845	KM411094	KM410942	
NHMC80.3.72.93	BEV.8799	<i>M. guttulata</i>	Ισραήλ	30.7077	34.7845	KM411093	KM410941	
NHMC80.3.72.92	BEV.7207	<i>M. guttulata</i>	Αίγυπτος	23.114102	35.588164	KM411091	KM410940	
NHMC80.3.72.50	BEV.10891	<i>M. guttulata</i>	Ιορδανία	31.877298	35.683402	KM411177	KM411025	KM411274
NHMC80.3.72.49	BEV.T3961	<i>M. guttulata</i>	Ιορδανία	31.5989	35.9934	KM411176	KM411024	
NHMC80.3.72.48	BEV.T3192	<i>M. guttulata</i>	Ιορδανία	31.21493	35.96534	KM411175	KM411023	
NHMC80.3.72.47	BEV.T3191	<i>M. guttulata</i>	Ιορδανία	31.21493	35.96534	KM411174	KM411022	
NHMC80.3.72.109	ZFMK43533	<i>M. guttulata</i>	Υεμένη	14.65	45.05	KM411145	KM410998	
NHMC80.3.72.108	ZFMK43535	<i>M. guttulata</i>	Υεμένη	16.233333	43.966667	KM411144	KM410997	
NHMC80.3.165.3	SC5346	<i>M. kuri</i>	Υεμένη	12.186746	52.152787	KM411209	KM411058	
NHMC80.3.165.2	SC3042	<i>M. kuri</i>	Υεμένη	12.186746	52.152787	KM411208	KM411056	
NHMC80.3.165.1	SC5144	<i>M. kuri</i>	Υεμένη	12.186746	52.152787	KM411207	KM411055	KM411283

Παράρτημα Ι

NHMC80.3.166.3	MHNG 2680.56	<i>M. martini</i>	Ερυθραία	15.800897	40.127121	KM411204	KM411052	KM411282
NHMC80.3.166.2	BEV.9006	<i>M. martini</i>	Αίγυπτος	24.492852	35.159441	KM411105	KM410953	KM411243
NHMC80.3.166.1	BEV.9005	<i>M. martini</i>	Αίγυπτος	24.962878	34.93574	KM411104	KM410952	
NHMC80.3.119.93	D312	<i>M. olivieri</i>	Τυνησία	34.000883	8.2847333	KM411229	KM411078	KM411298
NHMC80.3.119.92	D308	<i>M. olivieri</i>	Τυνησία	35.566667	8.466667	KM411228	KM411077	
NHMC80.3.119.91	BEV.8830	<i>M. olivieri</i>	Ισραήλ	31.0858	34.631	KM411116	KM410968	KM411254
NHMC80.3.119.9		<i>M. olivieri</i>	Τυνησία	34.407599	7.9448089	EF555271	EF555313	KM411239
NHMC80.3.119.87	BEV.8796	<i>M. olivieri</i>	Ισραήλ	30.7077	34.784499	KM411115	KM410967	
NHMC80.3.119.85	BEV.T395	<i>M. olivieri</i>	Αίγυπτος	31.1319	33.8032	KM411117	KM410969	KM411255
NHMC80.3.119.82	BEV.8509	<i>M. olivieri</i>	Μαρόκο	32.175	2.1666667	KM411114	KM410966	
NHMC80.3.119.81	BEV.8508	<i>M. olivieri</i>	Μαρόκο	32.19003	2.2037311	KM411113	KM410965	
NHMC80.3.119.80	BEV.6402	<i>M. olivieri</i>	Μαρόκο	31.175534	6.2373991	KM411112	KM410964	KM411253
NHMC80.3.119.52	BEV.9225	<i>M. olivieri</i>	Αλγερία Δυτική Σαχάρα	33.499195	3.0106219	KM411111	KM410963	KM411251
NHMC80.3.119.51	D555	<i>M. olivieri</i>	Μαρόκο	26.1256	-14.47989	KM411227	KM411076	KM411297
NHMC80.3.119.50	BEV.10015	<i>M. olivieri</i>	Μαρόκο	33.289373	-3.843692	KM411172	KM411020	KM411273
NHMC80.3.119.5		<i>M. olivieri</i>	Λιβύη	32.3912	21.2404	EF555282	EF555324	
NHMC80.3.119.47	BEV.T3038	<i>M. olivieri</i>	Αλγερία	35.8585	6.4908333	KM411169	KM411017	KM411272
NHMC80.3.119.46	BEV.T3036	<i>M. olivieri</i>	Αλγερία	36.3413	4.2508833	KM411168	KM411016	
NHMC80.3.119.44	BEV.T3037	<i>M. olivieri</i>	Αλγερία Δυτική Σαχάρα	36.333333	4.25	KM411163	KM411012	
NHMC80.3.119.43	BEV.9114	<i>M. olivieri</i>	Αλγερία Δυτική Σαχάρα	26.4925	-13.9198	KM411170	KM411018	
NHMC80.3.119.42	BEV.10849	<i>M. olivieri</i>	Αλγερία Δυτική Σαχάρα	26.5298	-12.3364	KM411166	KM411015	
NHMC80.3.119.41	BEV.10850	<i>M. olivieri</i>	Αλγερία Δυτική Σαχάρα	22.5709	-14.3544	KM411164	KM411013	
NHMC80.3.119.40	ZFMK 84265	<i>M. olivieri</i>	Αίγυπτος Δυτική Σαχάρα	30.5965	32.2715	KM411199	KM411047	
NHMC80.3.119.39	BEV.T1256	<i>M. olivieri</i>	Αίγυπτος Δυτική Σαχάρα	25.784657	14.732796	KM411110	KM410962	
NHMC80.3.119.38	BEV.T1242	<i>M. olivieri</i>	Αίγυπτος Δυτική Σαχάρα	27.236868	12.820835	KM411109	KM410961	KM411249
NHMC80.3.119.37	BEV.T353	<i>M. olivieri</i>	Μαρόκο	31.573921	-4.741745	KM411108	KM410959	KM411247
NHMC80.3.119.36	BEV.10014	<i>M. olivieri</i>	Μαρόκο	33.289373	-3.843692	KM411107	KM410957	
NHMC80.3.119.35	BEV.10013	<i>M. olivieri</i>	Μαρόκο	33.289373	-3.843692	KM411106	KM410956	
NHMC80.3.119.3		<i>M. olivieri</i>	Λιβύη	32.3912	21.2404	EF555281	EF555323	KM411301
NHMC80.3.119.29	D634	<i>M. olivieri</i>	Τυνησία	35.689547	10.15009	KM411225	KM411074	
NHMC80.3.119.23	MK	<i>M. olivieri</i>	Αλγερία	35.415115	4.5190041	KM411134	KM410986	
NHMC80.3.119.22		<i>M. olivieri</i>	Λιβύη	32.1247	12.8068	KM411137	KM410988	
NHMC80.3.119.21		<i>M. olivieri</i>	Λιβύη	32.1247	12.8068	KM411136	KM411057	KM411263
NHMC80.3.119.20		<i>M. olivieri</i>	Αίγυπτος	29.979701	32.118694	EF555249	EF555291	KM411284
NHMC80.3.119.2		<i>M. olivieri</i>	Λιβύη	32.3912	21.2404	EF555280	EF555322	
NHMC80.3.119.19		<i>M. olivieri</i>	Αίγυπτος	29.9651	33.1606	EF555248	EF555290	
NHMC80.3.119.16		<i>M. olivieri</i>	Αίγυπτος	29.965101	33.160594	EF555247	EF555289	KM411287
NHMC80.3.119.14		<i>M. olivieri</i>	Τυνησία	33.753101	9.3349983	EF555273	EF555315	KM411288
NHMC80.3.119.109	ZFMK 77483	<i>M. olivieri</i>	Αίγυπτος	27.83	31.1068	KM411202	KM411050	
NHMC80.3.119.108	MK	<i>M. olivieri</i>	Αλγερία	35.415115	4.5190041	KM411132	KM410983	KM411261

Παράρτημα Ι

NHMC80.3.119.10		<i>M. olivieri</i>	Τυνησία	32.1287	10.563804	EF555272	EF555314	KM411286
NHMC80.3.147.9	JCB5100	<i>M. pasteuri</i>	Μαυριτανία	19.919693	16.028018	KM411161	KM411010	
NHMC80.3.147.8	JCB5077	<i>M. pasteuri</i>	Μαυριτανία	19.77949	16.038992	KM411160	KM411009	
NHMC80.3.147.7	JCB5061	<i>M. pasteuri</i>	Μαυριτανία	19.685135	16.064098	KM411159	KM411008	
NHMC80.3.147.6	JCB4468	<i>M. pasteuri</i>	Μαυριτανία	16.848397	16.350311	KM411158	KM411007	
NHMC80.3.147.4	JCB2952	<i>M. pasteuri</i>	Μαυριτανία	18.984935	-13.06473	KM411139	KM410990	
NHMC80.3.147.3	JCB3219/BEV.1083	<i>M. pasteuri</i>	Μαυριτανία	17.398228	-12.03051	KM411138	KM410989	KM411264
NHMC80.3.147.20	BEV.T663	<i>M. pasteuri</i>	Μαυριτανία	20.4641	-12.379	KM411121	KM410973	
NHMC80.3.147.2	D2765	<i>M. pasteuri</i>	Μαυριτανία	20.80607	16.456107	KM411226	KM411075	
NHMC80.3.147.19	BEV.T662	<i>M. pasteuri</i>	Μαυριτανία	20.4641	-12.379	KM411120	KM410972	
NHMC80.3.147.18	BEV.9380	<i>M. pasteuri</i>	Μαυριτανία	20.46055	12.362003	KM411119	KM410971	
NHMC80.3.147.17	BEV.9177	<i>M. pasteuri</i>	Μαυριτανία	21.33214	-11.9512	KM411118	KM410970	KM411256
NHMC80.3.147.14	D528	<i>M. pasteuri</i>	Μαυριτανία	21.277733	15.470317	KM411232	KM411081	
NHMC80.3.147.13	D527	<i>M. pasteuri</i>	Μαυριτανία	21.277733	15.470317	KM411231	KM411080	KM411299
NHMC80.3.147.12	D526	<i>M. pasteuri</i>	Μαυριτανία	21.277733	15.470317	KM411230	KM411079	
NHMC80.3.147.11	BEV.10179	<i>M. pasteuri</i>	Αλγερία	24.7839	8.8719	KM411171	KM411019	
NHMC80.3.147.10	JCB5299	<i>M. pasteuri</i>	Μαυριτανία	20.797217	16.222065	KM411162	KM411011	
NHMC80.3.99.29	ZFMK 77484	<i>M. rubropunctata</i>	Αίγυπτος	29.873433	32.649703	KM411200	KM411048	
NHMC80.3.99.28	ZFMK63677	<i>M. rubropunctata</i>	Λιβύη	25.96664	15.15744	KM411143	KM410996	
NHMC80.3.99.27	ZFMK79371	<i>M. rubropunctata</i>	Μαυριτανία	21.298505	13.067383	KM411150		
NHMC80.3.99.26	ZFMK79372	<i>M. rubropunctata</i>	Μαυριτανία	19.551778	14.370621	KM411149	KM411000	
NHMC80.3.99.25	ZFMK79373	<i>M. rubropunctata</i>	Μαυριτανία	19.551778	14.370621	KM411148		
NHMC80.3.99.21	ZFMK65473	<i>M. rubropunctata</i>	Αίγυπτος	30.04572	31.240198	KM411147		
NHMC80.3.99.2*	JCB5265	<i>M. rubropunctata</i>	Μαυριτανία	20.975818	15.415585			KM411270
NHMC80.3.99.18	ZFMK63675	<i>M. rubropunctata</i>	Λιβύη	25.96664	15.15744	KM411146	KM410999	
NHMC80.3.99.17	ZFMK 42093	<i>M. rubropunctata</i>	Αλγερία	24.326391	7.0058309	KM411203	KM411051	KM411281
NHMC80.3.99.14*	BEV.10034	<i>M. rubropunctata</i>	Αίγυπτος	29.230561	25.170298			KM411257
NHMC80.3.99.13	BEV.9181	<i>M. rubropunctata</i>	Αίγυπτος	24.929404	30.389684	KM411122	KM410974	
NHMC80.3.99.1		<i>M. rubropunctata</i>	Αίγυπτος	24.400001	33.016994	EF555274	EF555316	
NHMC80.3.109.6	BEV.9431	<i>M. simoni</i>	Μαρόκο	31.802797	8.0369822	KM411124	KM410976	
NHMC80.3.109.5	BEV.9430	<i>M. simoni</i>	Μαρόκο	31.802797	8.0369822	KM411123	KM410975	
NHMC80.3.109.1		<i>M. simoni</i>	Μαρόκο	31.912	-7.505	EF555259	EF555301	KM411271
NHMC80.3.144.9	FA	<i>M. watsonana</i>	Ιράν	31.195649	59.320074	KM411156	KM411005	KM411269
NHMC80.3.144.8	FA1.1	<i>M. watsonana</i>	Ιράν	34.416388	50.860834	KM411155	KM411004	
NHMC80.3.144.7	FA161	<i>M. watsonana</i>	Ιράν	32.308056	52.015833	KM411152	KM411001	
NHMC80.3.144.6	RP 12	<i>M. watsonana</i>	Ιράν	31.651581	49.277521	KM411128	KM410980	
NHMC80.3.144.5	RP 11	<i>M. watsonana</i>	Ιράν	31.651581	49.277521	KM411127	KM410979	
NHMC80.3.144.4	RP 10	<i>M. watsonana</i>	Ιράν	32.382992	48.39819	KM411126	KM410978	

Παράρτημα Ι

NHMC80.3.144.2	MVZ238544	<i>M. watsonana</i>	Ιράν	32.577713	59.797775	KM411218	KM411067	KM411293
NHMC80.3.144.19	MVZ248478	<i>M. watsonana</i>	Πακιστάν	26.494762	66.667749	KM411220	KM411069	
NHMC80.3.144.18	MVZ248448	<i>M. watsonana</i>	Πακιστάν	26.494762	66.667749	KM411221	KM411070	
NHMC80.3.144.17	MVZ246015	<i>M. watsonana</i>	Αφγανιστάν	34.583333	68.95	KM411219	KM411068	KM411294
NHMC80.3.144.16	FA177	<i>M. watsonana</i>	Ιράν	26.159167	60.186111	KM411154	KM411003	
NHMC80.3.144.15	FA176	<i>M. watsonana</i>	Ιράν	26.159167	60.186111	KM411153	KM411002	
NHMC80.3.144.1	MVZ246016	<i>M. watsonana</i>	Ιράν	35.696215	51.422938	KM411217	KM411066	KM411292
NHMC80.3.164.9	ZFMK TW 98	<i>Mesalina sp.</i>	Σαουδική Αραβία	22.252474	41.879612	KM411206	KM411054	
NHMC80.3.164.8	ZFMK 87210	<i>Mesalina sp.</i>	Σαουδική Αραβία	22.252474	41.879612	KM411205	KM411053	
NHMC80.3.164.5	E118.25	<i>Mesalina sp.</i>	Σαουδική Αραβία	22.4	41.733333	KM411198	KM411046	
NHMC80.3.164.21	D1861	<i>Mesalina sp.</i>	Μαυριτανία	19.865218	12.805475	KM411223	KM411072	KM411296
NHMC80.3.164.19		<i>Mesalina sp.</i>	Λιβύη	33.095628	11.762554	KM411157	KM411006	
NHMC80.3.164.18	JCB2902	<i>Mesalina sp.</i>	Μαυριτανία	21.428225	11.313882	KM411141	KM410992	
NHMC80.3.164.17	JCB2910	<i>Mesalina sp.</i>	Μαυριτανία	21.015	-11.718	KM411140	KM410991	
NHMC80.3.164.16	ZFMK86583	<i>Mesalina sp.</i>	Σαουδική Αραβία	22.395237	41.752948	KM411151		
NHMC80.3.164.22	D1862	<i>Mesalina sp.</i>	Μαυριτανία	19.865218	12.805475	KM411224	KM411073	
NHMC80.3.164.20	BEV.T661	<i>Mesalina sp.</i>	Μαυριτανία	20.593587	12.988348	KM411098	KM410946	
NHMC80.3.164.2	D319	<i>Mesalina sp.</i>	Τυνησία	32.997433	10.60795	KM411233	KM411082	KM411300
NHMC80.3.175.1*	MVZ246016	<i>Eremias sp.</i>						KM411291
		<i>E. brenchleyi</i>				EF490071	EF490071	
		<i>E. velox</i>				AF206604	AF206549	
NHMC80.3.174.7	DB2457	<i>G. caesaris</i>		27.81798	-17.90859	KF003370	KM410994	KM411267
NHMC80.3.174.5	DB2091	<i>G. caesaris</i>		28.12562	-17.16192	KF003369	KM410985	KM411262
NHMC80.3.174.4	DB1277	<i>G. galloti</i>		28.48073	-16.3231	KF003368	KM410960	KM411248
NHMC80.3.174.3	DB1263	<i>G. galloti</i>		28.7462	-17.75064	KF003367	KM410958	KM411246
NHMC80.3.174.6	DB2455	<i>G. stehlini</i>		28.37063	15.748973	KF003371	KM410993	KM411266
NHMC80.3.174.2	DB1244	<i>G. atlantica</i>		29.046463	13.562057	KF003366	KM410955	KM411245
NHMC80.3.174.1	DB1242	<i>Gallotia atlantica</i>		28.607487	13.925627	KF003365	KM410954	KM411244
		<i>Podarcis bocagei</i>				AF469426	DQ081075	EU269474
		<i>Podarcis carbonelli</i>				DQ081142	DQ081080	EU269481
		<i>Podarcis carbonelli</i>				DQ081141	DQ081079	EU269480
		<i>Podarcis cretensis</i>				AF486212	AY896148	
		<i>Podarcis cretensis</i>				AF486192	AY896157	
		<i>Podarcis cretensis</i>				AF486204	AY896161	
		<i>Podarcis hispanicus</i>				AF469447	DQ081086	
		<i>Podarcis hispanicus</i>				AF469451	DQ081088	
		<i>Podarcis hispanicus</i>				DQ081143	DQ081084	
		<i>Podarcis hispanicus</i>				AF469455	DQ081083	

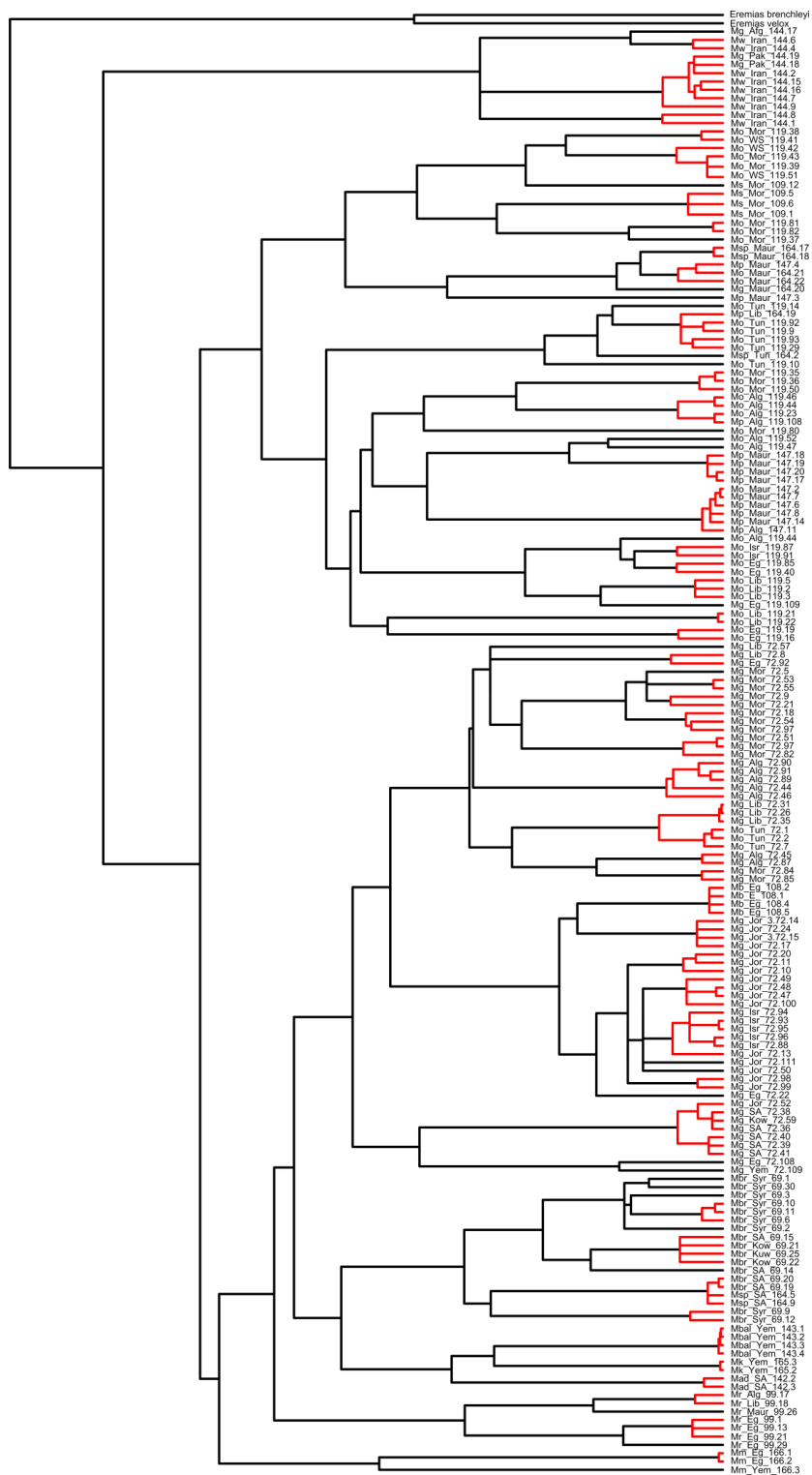
Παράρτημα Ι

	<i>Podarcis peloponnesiacus</i>			AY896121	AY896177
	<i>Podarcis peloponnesiacus</i>			AY896116	AY896173
	<i>Psammodromus algirus</i>			DQ150365	FJ799792
	<i>Psammodromus algirus</i>			EU116517	AY217970

MVZ, Museum of Vertebrate Zoology (Berkeley); BEV, Biogéographie et Ecologie des Vertébrés-CEFE (Μονπελιέ, Γαλλία); RP, Rastegar Pouyani (Kermanshah, Ιράν); JCB, José Carlos Brito (Vairao, Πορτογαλία); ZFMK, Zoologisches Forschungsmuseum Alexander Koenig (Βόννη, Γερμανία); FA, Faraham Ahmadzadeh (Βόννη, Γερμανία); MA, Mohamed Almutairi (Gwynedd, Ηνωμένο Βασίλειο); MHNG, Muséum d'Histoire Naturelle de Genève (Γενεύη, Ελβετία); SC, Salvador Carranza (Βαρκελώνη, Ισπανία); DB, Departamento de Biología (Αζόρες, Πορτογαλία), MK, M. Khaldi (M'sila, Αλγερία).

Παράρτημα II

Οι ανεξάρτητα εξελισσόμενες μιτοχονδριακές γραμμές που αναγνωρίστηκαν με της μεθόδου « single threshold» βάσει του μοντέλου GMYC.



Παράρτημα III

Mol_Tun_119.9	
Mol_Mor_119.37	0.12
Mol_Lib_119.21	0.10 0.13
Mol_Alg_119.108	0.12 0.15 0.09
Mol_Alg_119.47	0.11 0.14 0.09 0.10
Mol_Lib_119.3	0.10 0.14 0.11 0.10 0.11
Mol_Mor_119.50	0.13 0.15 0.10 0.06 0.10 0.13
Mol_Eg_119.20	0.13 0.14 0.14 0.11 0.12 0.05 0.17
Mol_Isr_119.91	0.13 0.15 0.12 0.10 0.12 0.05 0.17 0.01
Mol_Mor_119.80	0.10 0.13 0.11 0.09 0.10 0.11 0.07 0.15 0.14
Mol_WS_119.51	0.11 0.06 0.10 0.12 0.14 0.12 0.13 0.14 0.15 0.17
Mol_Tun_119.10	0.03 0.12 0.10 0.11 0.11 0.09 0.12 0.12 0.12 0.11 0.11
Mol_Tun_119.93/1	0.01 0.13 0.10 0.11 0.10 0.09 0.12 0.13 0.12 0.11 0.11 0.02
Mol_Alg_119.52	0.10 0.16 0.11 0.10 0.03 0.12 0.10 0.13 0.12 0.09 0.16 0.11 0.10
Mol_Eg_119.16	0.12 0.12 0.10 0.11 0.11 0.10 0.13 0.12 0.11 0.11 0.12 0.11 0.11 0.13
Ms_Mor_109.1	0.10 0.03 0.10 0.11 0.13 0.11 0.12 0.13 0.14 0.14 0.04 0.11 0.11 0.14 0.10
Mp_Maur_147.17	0.13 0.14 0.10 0.09 0.04 0.13 0.10 0.13 0.13 0.11 0.15 0.12 0.12 0.05 0.10 0.12
Mp_Maur_147.3	0.18 0.13 0.15 0.16 0.17 0.14 0.15 0.17 0.17 0.17 0.12 0.15 0.17 0.17 0.14 0.12 0.18
Mp_Maur_147.13	0.13 0.15 0.14 0.12 0.12 0.16 0.13 0.14 0.13 0.12 0.15 0.13 0.13 0.10 0.16 0.14 0.13 0.17
Msp_Maur_164.21	0.15 0.09 0.14 0.17 0.18 0.15 0.18 0.19 0.18 0.21 0.10 0.14 0.15 0.18 0.13 0.09 0.19 0.11 0.18
Mgut_Lib_72.8	0.18 0.19 0.20 0.20 0.21 0.22 0.20 0.23 0.26 0.24 0.20 0.17 0.18 0.25 0.23 0.17 0.24 0.20 0.24 0.19
Mgut_Mor_72.84	0.22 0.21 0.21 0.21 0.21 0.22 0.22 0.23 0.26 0.30 0.20 0.22 0.21 0.26 0.22 0.21 0.24 0.23 0.26 0.23 0.10
Mgut_Alg_72.89	0.20 0.26 0.24 0.24 0.21 0.23 0.23 0.26 0.28 0.25 0.25 0.22 0.19 0.25 0.23 0.26 0.28 0.27 0.34 0.27 0.11 0.12
Mgut_Mor_72.18	0.18 0.21 0.21 0.22 0.20 0.22 0.23 0.23 0.25 0.24 0.22 0.18 0.19 0.24 0.23 0.22 0.25 0.23 0.22 0.23 0.10 0.11 0.12
Mgut_SA_72.40	0.23 0.19 0.21 0.21 0.22 0.21 0.21 0.23 0.24 0.23 0.16 0.22 0.22 0.26 0.20 0.19 0.26 0.21 0.24 0.23 0.18 0.20 0.22 0.18
Mgut_Jor_72.50	0.19 0.22 0.19 0.19 0.19 0.22 0.22 0.21 0.22 0.19 0.21 0.20 0.19 0.23 0.23 0.20 0.21 0.22 0.21 0.24 0.14 0.18 0.18 0.16 0.16
Mgut_Mor_72.51	0.23 0.17 0.22 0.25 0.23 0.26 0.19 0.26 0.31 0.24 0.18 0.21 0.24 0.29 0.25 0.19 0.29 0.26 0.23 0.21 0.11 0.12 0.15 0.10 0.18 0.17
Mgut_Jor_72.15	0.21 0.25 0.22 0.21 0.19 0.22 0.25 0.20 0.23 0.23 0.24 0.22 0.21 0.22 0.22 0.21 0.21 0.25 0.23 0.26 0.15 0.20 0.19 0.18 0.17 0.05 0.21
Mgut_Eg_72.22	0.19 0.21 0.19 0.20 0.19 0.21 0.22 0.20 0.23 0.19 0.22 0.19 0.19 0.22 0.22 0.19 0.20 0.23 0.21 0.25 0.14 0.18 0.19 0.14 0.16 0.01 0.17 0.05
Mgut_Tun_72.7	0.18 0.21 0.20 0.21 0.22 0.20 0.21 0.19 0.20 0.21 0.23 0.19 0.20 0.26 0.21 0.20 0.25 0.24 0.26 0.27 0.15 0.17 0.17 0.13 0.19 0.20 0.17 0.24 0.20
Mgut_Lib_72.26	0.21 0.18 0.22 0.21 0.20 0.24 0.21 0.22 0.23 0.20 0.20 0.21 0.27 0.24 0.19 0.23 0.24 0.28 0.23 0.13 0.14 0.15 0.12 0.16 0.15 0.13 0.20 0.16 0.05
Mgut_Lib_72.57	0.25 0.22 0.23 0.24 0.23 0.24 0.25 0.27 0.30 0.27 0.20 0.23 0.23 0.29 0.24 0.23 0.30 0.27 0.30 0.26 0.11 0.11 0.12 0.12 0.18 0.19 0.12 0.24 0.18 0.19 0.12
Mb_Eg_108.2	0.20 0.27 0.22 0.25 0.20 0.23 0.26 0.22 0.25 0.24 0.25 0.21 0.20 0.23 0.24 0.24 0.24 0.25 0.24 0.27 0.15 0.23 0.19 0.13 0.18 0.05 0.19 0.06 0.05 0.21 0.19 0.23
Mbr_SA_69.14	0.17 0.20 0.19 0.22 0.19 0.17 0.20 0.22 0.21 0.23 0.22 0.16 0.16 0.22 0.19 0.19 0.21 0.20 0.24 0.20 0.13 0.14 0.19 0.15 0.18 0.21 0.22 0.21 0.21 0.17 0.16 0.18 0.21
Mbr_Kow_69.23	0.16 0.17 0.17 0.21 0.18 0.18 0.18 0.23 0.22 0.21 0.19 0.16 0.15 0.21 0.17 0.17 0.19 0.20 0.22 0.18 0.14 0.14 0.17 0.15 0.18 0.20 0.21 0.21 0.21 0.18 0.15 0.17 0.22 0.01
Mbr_Syr_69.2	0.17 0.18 0.20 0.23 0.18 0.18 0.18 0.21 0.21 0.21 0.22 0.16 0.16 0.20 0.19 0.19 0.20 0.20 0.21 0.21 0.16 0.18 0.20 0.17 0.18 0.23 0.21 0.21 0.23 0.17 0.16 0.20 0.21 0.03 0.03
Mbr_SA_69.15	0.15 0.16 0.17 0.21 0.18 0.17 0.19 0.21 0.22 0.22 0.18 0.15 0.15 0.21 0.16 0.16 0.20 0.19 0.22 0.17 0.14 0.14 0.18 0.16 0.16 0.21 0.21 0.21 0.21 0.17 0.16 0.18 0.22 0.02 0.00 0.03
Mbr_SA_69.17	0.18 0.24 0.23 0.28 0.26 0.21 0.23 0.23 0.21 0.26 0.27 0.18 0.19 0.27 0.26 0.25 0.28 0.22 0.23 0.27 0.19 0.20 0.28 0.18 0.23 0.27 0.23 0.29 0.27 0.17 0.19 0.23 0.26 0.07 0.08 0.08 0.08
Mbr_Syr_69.3	0.17 0.18 0.19 0.22 0.18 0.18 0.18 0.20 0.20 0.22 0.21 0.15 0.17 0.20 0.19 0.20 0.19 0.20 0.20 0.15 0.16 0.20 0.16 0.18 0.23 0.21 0.21 0.23 0.16 0.16 0.19 0.21 0.03 0.03 0.00 0.03 0.08
Mbr_Syr_69.12	0.19 0.21 0.23 0.22 0.23 0.16 0.26 0.16 0.16 0.23 0.23 0.20 0.19 0.21 0.22 0.20 0.25 0.21 0.23 0.24 0.21 0.23 0.26 0.23 0.19 0.22 0.26 0.24 0.22 0.23 0.24 0.13 0.13 0.13 0.12 0.13 0.13
Mad_SA_142.2	0.15 0.20 0.17 0.20 0.22 0.21 0.22 0.23 0.25 0.27 0.14 0.14 0.16 0.27 0.17 0.19 0.20 0.22 0.23 0.20 0.23 0.24 0.27 0.21 0.24 0.26 0.24 0.24 0.26 0.21 0.25 0.26 0.27 0.22 0.20 0.24 0.19 0.21 0.23 0.23
Mk_Yem_165.1	0.20 0.19 0.24 0.22 0.24 0.21 0.26 0.20 0.22 0.25 0.19 0.18 0.21 0.24 0.19 0.19 0.23 0.22 0.21 0.25 0.19 0.21 0.31 0.22 0.20 0.23 0.22 0.21 0.23 0.18 0.21 0.26 0.23 0.22 0.19 0.19 0.18 0.22 0.18 0.15 0.12
Mbal_Yem_143.4	0.19 0.22 0.28 0.29 0.24 0.24 0.33 0.24 0.23 0.29 0.24 0.18 0.20 0.23 0.19 0.24 0.26 0.25 0.21 0.21 0.22 0.24 0.25 0.24 0.23 0.30 0.22 0.22 0.28 0.30 0.30 0.25 0.25 0.22 0.21 0.21 0.25 0.22 0.27 0.17 0.16
Mr_Maur_99.2/17	0.22 0.21 0.21 0.18 0.18 0.20 0.18 0.23 0.22 0.20 0.23 0.19 0.21 0.19 0.22 0.23 0.19 0.23 0.19 0.24 0.19 0.22 0.26 0.21 0.17 0.20 0.20 0.24 0.19 0.21 0.19 0.17 0.25 0.20 0.20 0.21 0.21 0.21 0.20 0.20 0.26 0.23 0.28
Mm_Erit_166.3	0.20 0.23 0.17 0.20 0.19 0.20 0.22 0.22 0.23 0.22 0.23 0.17 0.19 0.20 0.18 0.22 0.19 0.26 0.21 0.26 0.28 0.32 0.29 0.25 0.28 0.26 0.25 0.27 0.26 0.26 0.27 0.27 0.28 0.24 0.22 0.23 0.21 0.25 0.23 0.28 0.18 0.24 0.20 0.23
Mm_Eg_166.2	0.22 0.27 0.23 0.27 0.26 0.28 0.30 0.29 0.30 0.25 0.23 0.23 0.23 0.30 0.24 0.24 0.26 0.26 0.24 0.23 0.32 0.34 0.34 0.29 0.27 0.24 0.28 0.30 0.28 0.25 0.24 0.34 0.31 0.32 0.30 0.33 0.29 0.31 0.33 0.35 0.20 0.28 0.25 0.28 0.18
Mw_Iran_144.1	0.23 0.26 0.25 0.27 0.31 0.30 0.28 0.31 0.30 0.27 0.23 0.24 0.30 0.25 0.22 0.32 0.27 0.29 0.26 0.27 0.29 0.33 0.27 0.22 0.28 0.27 0.26 0.27 0.33 0.34 0.34 0.28 0.26 0.23 0.25 0.23 0.31 0.24 0.30 0.24 0.25 0.26 0.33 0.32 0.29
Mw_Afg_144.17	0.21 0.26 0.24 0.24 0.26 0.27 0.24 0.29 0.28 0.26 0.23 0.21 0.21 0.24 0.28 0.23 0.29 0.27 0.26 0.24 0.24 0.26 0.22 0.22 0.24 0.26 0.26 0.25 0.26 0.26 0.27 0.32 0.30 0.24 0.23 0.24 0.22 0.25 0.24 0.24 0.23 0.27 0.23 0.30 0.26 0.25 0.12
Mw_Iran_144.2/9	0.24 0.25 0.25 0.27 0.28 0.28 0.26 0.30 0.31 0.27 0.25 0.24 0.25 0.28 0.27 0.22 0.28 0.24 0.27 0.28 0.27 0.28 0.29 0.28 0.25 0.32 0.27 0.30 0.32 0.27 0.28 0.31 0.34 0.22 0.21 0.20 0.20 0.23 0.20 0.28 0.24 0.22 0.24 0.35 0.24 0.24 0.15 0.14

Εκτίμηση γενετικών αποστάσεων για το *cyt b*, μεταξύ των εκτιμηθέντων ΑΕΓΜ (βάσει του PTP)

Παράρτημα III

Mol_Tun_119.9	
Mol_Mor_119.37	0.07
Mol_Lib_119.21	0.06 0.05
Mol_Alg_119.108	0.05 0.05 0.04
Mol_Alg_119.47	0.03 0.05 0.05 0.04
Mol_Lib_119.3	0.05 0.06 0.05 0.05 0.04
Mol_Mor_119.50	0.05 0.06 0.04 0.03 0.05 0.06
Mol_Eg_119.20	0.06 0.08 0.08 0.07 0.05 0.04 0.07
Mol_Isr_119.91	0.05 0.05 0.05 0.05 0.03 0.03 0.06 0.04
Mol_Mor_119.80	0.05 0.04 0.04 0.04 0.04 0.05 0.04 0.07 0.04
Mol_WS_119.51	0.06 0.03 0.07 0.06 0.05 0.07 0.05 0.08 0.05 0.05
Mol_Tun_119.10	0.03 0.05 0.06 0.06 0.03 0.05 0.05 0.04 0.04 0.05 0.05
Mol_Tun_119.93/16	0.01 0.06 0.05 0.05 0.02 0.05 0.05 0.07 0.04 0.05 0.06 0.03
Mol_Alg_119.52	0.03 0.05 0.04 0.03 0.01 0.04 0.05 0.05 0.03 0.03 0.06 0.04 0.02
Mol_Eg_119.16	0.04 0.05 0.04 0.04 0.03 0.04 0.03 0.06 0.04 0.04 0.05 0.03 0.03 0.03
Ms_Mor_109.1	0.06 0.02 0.05 0.06 0.05 0.06 0.06 0.07 0.05 0.05 0.03 0.04 0.06 0.06 0.05
Mp_Maur_147.17	0.03 0.06 0.05 0.04 0.01 0.04 0.05 0.06 0.04 0.04 0.06 0.04 0.03 0.01 0.04 0.06
Mp_Maur_147.3	0.07 0.04 0.06 0.05 0.05 0.06 0.06 0.08 0.04 0.05 0.05 0.06 0.05 0.05 0.05 0.05 0.05
Mp_Maur_147.13	0.04 0.05 0.05 0.04 0.03 0.05 0.05 0.07 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.03 0.05 0.04 0.06
Msp_Maur_164.21	0.07 0.04 0.08 0.07 0.07 0.08 0.07 0.09 0.07 0.06 0.04 0.06 0.07 0.08 0.06 0.04 0.06
Mgut_Lib_72.8	0.09 0.10 0.11 0.08 0.09 0.10 0.10 0.13 0.10 0.11 0.10 0.09 0.10 0.09 0.08 0.09 0.09 0.11 0.08 0.10
Mgut_Mor_72.84	0.10 0.10 0.12 0.10 0.09 0.12 0.12 0.14 0.10 0.12 0.10 0.12 0.10 0.10 0.10 0.11 0.08 0.12 0.06
Mgut_Alg_72.89	0.09 0.08 0.09 0.07 0.07 0.08 0.10 0.11 0.07 0.09 0.08 0.09 0.09 0.07 0.08 0.08 0.07 0.08 0.07 0.09 0.04 0.04
Mgut_Mor_72.18	0.08 0.08 0.11 0.08 0.08 0.09 0.09 0.11 0.09 0.09 0.08 0.08 0.08 0.09 0.08 0.07 0.08 0.08 0.09 0.08 0.09 0.03 0.03 0.02
Mgut_SA_72.40	0.09 0.06 0.09 0.08 0.07 0.08 0.09 0.09 0.06 0.08 0.07 0.08 0.09 0.07 0.07 0.07 0.07 0.09 0.07 0.10 0.06 0.06 0.05 0.05
Mgut_Jor_72.50	0.08 0.07 0.10 0.08 0.07 0.09 0.10 0.11 0.08 0.09 0.09 0.08 0.08 0.07 0.09 0.08 0.08 0.08 0.08 0.09 0.08 0.07 0.05 0.06 0.06
Mgut_Mor_72.51	0.09 0.09 0.10 0.07 0.08 0.10 0.09 0.12 0.09 0.10 0.10 0.08 0.09 0.08 0.08 0.09 0.08 0.09 0.08 0.10 0.03 0.04 0.04 0.02 0.06 0.06
Mgut_Jor_72.15	0.09 0.08 0.10 0.08 0.09 0.08 0.09 0.08 0.09 0.10 0.08 0.10 0.09 0.09 0.08 0.09 0.10 0.10 0.11 0.07 0.09 0.06 0.06 0.07 0.04 0.07
Mgut_Eg_72.22	0.09 0.07 0.10 0.09 0.08 0.09 0.10 0.11 0.08 0.09 0.09 0.08 0.09 0.08 0.09 0.08 0.09 0.09 0.08 0.09 0.07 0.07 0.05 0.05 0.06 0.01 0.07 0.03
Mgut_Tun_72.7	0.11 0.09 0.11 0.09 0.10 0.09 0.10 0.12 0.09 0.10 0.10 0.10 0.11 0.10 0.09 0.10 0.10 0.10 0.09 0.11 0.05 0.05 0.05 0.04 0.08 0.07 0.05 0.07 0.06
Mgut_Lib_72.26	0.10 0.09 0.11 0.09 0.09 0.11 0.10 0.14 0.10 0.09 0.10 0.10 0.10 0.10 0.10 0.09 0.10 0.11 0.08 0.11 0.05 0.04 0.04 0.04 0.08 0.08 0.04 0.08 0.07 0.02
Mgut_Lib_72.57	0.09 0.09 0.10 0.08 0.08 0.10 0.09 0.12 0.09 0.09 0.10 0.09 0.09 0.08 0.09 0.10 0.08 0.09 0.09 0.10 0.05 0.05 0.05 0.06 0.06 0.05 0.07 0.06 0.06 0.06
Mb_Eg_108.2	0.09 0.06 0.10 0.09 0.08 0.09 0.10 0.11 0.08 0.09 0.09 0.08 0.09 0.08 0.09 0.07 0.09 0.09 0.09 0.10 0.08 0.08 0.05 0.05 0.06 0.02 0.07 0.04 0.02 0.07 0.08 0.06
Mbr_SA_69.14	0.09 0.06 0.07 0.07 0.08 0.09 0.09 0.11 0.08 0.07 0.08 0.08 0.08 0.08 0.08 0.06 0.08 0.07 0.07 0.09 0.08 0.09 0.07 0.08 0.06 0.08 0.07 0.10 0.09 0.09 0.08 0.08 0.08
Mbr_Kow_69.23	0.09 0.06 0.08 0.08 0.08 0.09 0.09 0.11 0.08 0.08 0.08 0.08 0.09 0.09 0.08 0.06 0.09 0.08 0.08 0.09 0.08 0.09 0.07 0.08 0.06 0.08 0.08 0.10 0.09 0.09 0.08 0.08 0.08 0.00
Mbr_Syr_69.2	0.10 0.06 0.08 0.07 0.08 0.08 0.09 0.10 0.08 0.08 0.08 0.09 0.10 0.09 0.08 0.06 0.09 0.07 0.09 0.09 0.08 0.10 0.07 0.07 0.07 0.09 0.08 0.09 0.09 0.08 0.09 0.10 0.08 0.01 0.01
Mbr_SA_69.15	0.09 0.06 0.08 0.08 0.08 0.09 0.09 0.11 0.08 0.08 0.08 0.08 0.09 0.08 0.08 0.06 0.09 0.08 0.08 0.09 0.08 0.09 0.07 0.08 0.06 0.08 0.07 0.10 0.09 0.09 0.08 0.08 0.08 0.00 0.00 0.01
Mbr_SA_69.17	0.10 0.07 0.09 0.07 0.08 0.09 0.09 0.11 0.08 0.08 0.08 0.11 0.10 0.08 0.09 0.08 0.08 0.07 0.08 0.10 0.09 0.08 0.06 0.07 0.07 0.08 0.07 0.09 0.09 0.09 0.08 0.08 0.08 0.04 0.04 0.03 0.04
Mbr_Syr_69.3	0.11 0.09 0.10 0.10 0.10 0.11 0.11 0.12 0.11 0.10 0.10 0.10 0.12 0.11 0.10 0.07 0.11 0.11 0.12 0.11 0.10 0.12 0.09 0.09 0.11 0.10 0.10 0.11 0.11 0.11 0.12 0.10 0.04 0.04 0.04 0.04 0.07
Mbr_Syr_69.12	0.10 0.08 0.09 0.08 0.10 0.10 0.10 0.12 0.09 0.09 0.10 0.11 0.12 0.09 0.10 0.07 0.09 0.09 0.10 0.11 0.09 0.10 0.08 0.07 0.07 0.10 0.08 0.10 0.09 0.10 0.10 0.08 0.04 0.04 0.04 0.05 0.05
Mad_SA_142.2	0.09 0.07 0.09 0.08 0.08 0.09 0.10 0.11 0.08 0.08 0.08 0.09 0.08 0.08 0.07 0.08 0.08 0.08 0.10 0.08 0.08 0.06 0.07 0.06 0.07 0.07 0.10 0.08 0.09 0.08 0.07 0.08 0.05 0.05 0.06 0.05 0.05 0.07 0.08
Mk_Yem_165.1	0.09 0.06 0.08 0.07 0.07 0.09 0.10 0.11 0.08 0.08 0.08 0.08 0.09 0.08 0.08 0.07 0.08 0.08 0.08 0.10 0.09 0.08 0.07 0.08 0.07 0.08 0.08 0.10 0.08 0.09 0.09 0.07 0.08 0.05 0.05 0.06 0.05 0.06 0.08 0.08 0.04
Mbal_Yem_143.4	0.11 0.11 0.12 0.10 0.12 0.10 0.11 0.12 0.10 0.12 0.11 0.15 0.11 0.11 0.12 0.12 0.11 0.11 0.13 0.13 0.12 0.11 0.09 0.08 0.10 0.12 0.11 0.11 0.11 0.11 0.13 0.10 0.11 0.10 0.11 0.10 0.11 0.09 0.12 0.09 0.08 0.08
Mr_Maur_99.2/17	0.08 0.07 0.09 0.08 0.07 0.09 0.09 0.11 0.08 0.09 0.08 0.09 0.08 0.07 0.07 0.08 0.07 0.10 0.07 0.08 0.09 0.09 0.08 0.08 0.08 0.09 0.09 0.11 0.09 0.11 0.10 0.09 0.09 0.08 0.08 0.09 0.09 0.09 0.09 0.07 0.08 0.12
Mm_Erit_166.3	0.10 0.07 0.08 0.07 0.08 0.10 0.09 0.12 0.08 0.08 0.09 0.10 0.09 0.08 0.10 0.08 0.09 0.07 0.11 0.14 0.13 0.12 0.13 0.10 0.11 0.11 0.14 0.13 0.14 0.13 0.12 0.11 0.11 0.10 0.13 0.12 0.09 0.11 0.16 0.12
Mm_Eg_166.2	0.10 0.09 0.10 0.10 0.08 0.11 0.12 0.14 0.09 0.10 0.10 0.12 0.09 0.08 0.11 0.10 0.08 0.09 0.09 0.11 0.12 0.11 0.08 0.10 0.08 0.08 0.10 0.13 0.10 0.12 0.11 0.09 0.09 0.08 0.09 0.10 0.09 0.09 0.13 0.10 0.09 0.09 0.12 0.08 0.08
Mw_Iran_144.1	0.15 0.14 0.14 0.15 0.14 0.16 0.18 0.16 0.13 0.15 0.14 0.16 0.15 0.14 0.16 0.13 0.14 0.14 0.14 0.16 0.17 0.18 0.17 0.18 0.16 0.16 0.16 0.19 0.17 0.18 0.17 0.18 0.17 0.16 0.16 0.17 0.16 0.17 0.18 0.17 0.16 0.14 0.22 0.19 0.15 0.16
Mw_Afg_144.17	0.16 0.13 0.13 0.14 0.15 0.16 0.17 0.18 0.14 0.13 0.14 0.16 0.15 0.15 0.14 0.12 0.15 0.13 0.14 0.14 0.16 0.19 0.16 0.16 0.17 0.17 0.16 0.20 0.18 0.16 0.16 0.18 0.16 0.15 0.15 0.15 0.15 0.16 0.18 0.16 0.16 0.14 0.20 0.18 0.15 0.16 0.05
Mw_Iran_144.2/9	0.13 0.12 0.13 0.13 0.12 0.15 0.15 0.17 0.13 0.13 0.13 0.13 0.13 0.12 0.13 0.11 0.12 0.12 0.12 0.13 0.15 0.16 0.15 0.15 0.14 0.15 0.13 0.18 0.17 0.15 0.14 0.15 0.16 0.12 0.13 0.13 0.13 0.14 0.16 0.15 0.13 0.11 0.20 0.16 0.14 0.13 0.04 0.04

Εκτίμηση γενετικών αποστάσεων για το 16S, μεταξύ των εκτιμηθέντων ΑΕΓΜ (βάσει του PTP)

Παράρτημα III

Mol_Tun_119.9	
Mol_Mor_119.37	0.00
Mol_Lib_119.21	0.01 0.01
Mol_Alg_119.108	0.02 0.02 0.01
Mol_Alg_119.47	0.00 0.01 0.00 0.01
Mol_Lib_119.3	0.01 0.01 0.00 0.01 0.00
Mol_Mor_119.50	0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01
Mol_Eg_119.20	0.00 0.01 0.00 0.01 0.00 0.00 0.01
Mol_Isr_119.91	0.02 0.01 0.01 0.02 0.01 0.01 0.02 0.01
Mol_Mor_119.80	0.01 0.01 0.00 0.02 0.01 0.00 0.02 0.01 0.01
Mol_WS_119.51	0.02 0.01 0.01 0.02 0.01 0.01 0.02 0.01 0.02 0.01
Mol_Tun_119.10	0.00 0.01 0.01 0.02 0.01 0.01 0.01 0.01 0.02 0.02 0.02
Mol_Tun_119.93/16	0.00 0.01 0.01 0.02 0.00 0.01 0.01 0.00 0.02 0.01 0.02 0.00
Mol_Alg_119.52	0.01 0.01 0.00 0.01 0.00 0.00 0.01 0.00 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.00
Mol_Eg_119.16	0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.02 0.01 0.00 0.01 0.02 0.02 0.01 0.01
Ms_Mor_109.1	0.01 0.01 0.01 0.02 0.01 0.01 0.02 0.01 0.02 0.02 0.01 0.02 0.02 0.01 0.02
Mp_Maur_147.17	0.01 0.01 0.00 0.01 0.01 0.00 0.01 0.00 0.01 0.00 0.01 0.01 0.01 0.01 0.00 0.00 0.01
Mp_Maur_147.3	0.02 0.01 0.02 0.03 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02
Mp_Maur_147.13	0.01 0.01 0.00 0.01 0.00 0.00 0.01 0.00 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.00 0.01 0.01 0.00 0.02
Msp_Maur_164.21	0.02 0.02 0.03 0.04 0.02 0.03 0.04 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.02 0.03 0.01 0.03
Mgut_Lib_72.8	0.03 0.03 0.02 0.03 0.02 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.03
Mgut_Mor_72.84	0.03 0.03 0.03 0.04 0.03 0.03 0.04 0.03 0.04 0.04 0.05 0.04 0.03 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.05 0.03
Mgut_Alg_72.89	0.03 0.03 0.02 0.03 0.02 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.01 0.02
Mgut_Mor_72.18	0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.05 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.02 0.02 0.01
Mgut_SA_72.40	0.04 0.03 0.03 0.04 0.03 0.03 0.04 0.03 0.04 0.03 0.04 0.04 0.04 0.03 0.03 0.03 0.03 0.04 0.03 0.04 0.01 0.05 0.02 0.04
Mgut_Jor_72.50	0.03 0.02 0.02 0.04 0.02 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.04 0.02 0.01 0.01 0.02 0.03
Mgut_Mor_72.51	0.03 0.03 0.03 0.04 0.03 0.03 0.03 0.03 0.04 0.04 0.04 0.03 0.03 0.03 0.04 0.03 0.04 0.03 0.04 0.03 0.00 0.01 0.02 0.04 0.01
Mgut_Jor_72.15	0.04 0.03 0.03 0.04 0.03 0.03 0.04 0.03 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.03 0.04 0.04 0.03 0.04 0.03 0.05 0.03 0.02 0.01 0.02 0.04 0.02 0.01
Mgut_Eg_72.22	0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.01 0.01 0.01 0.01 0.02 0.01 0.01 0.02
Mgut_Tun_72.7	0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.04 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.04 0.01 0.01 0.01 0.01 0.02 0.01 0.01 0.01 0.01
Mgut_Lib_72.26	0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.04 0.03 0.04 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.04 0.01 0.03 0.01 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.02 0.01
Mgut_Lib_72.57	0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.04 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.01 0.02 0.00 0.01 0.02 0.02 0.02 0.02 0.01 0.01 0.01
Mb_Eg_108.2	0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.02 0.01 0.01 0.02 0.03 0.01 0.01 0.02 0.00 0.01 0.02 0.01
Mbr_SA_69.14	0.03 0.03 0.03 0.04 0.03 0.03 0.04 0.03 0.04 0.03 0.04 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.04 0.03 0.05 0.03 0.05 0.03 0.05 0.04 0.04 0.04 0.05 0.04 0.04 0.04 0.03 0.04
Mbr_Kow_69.23	0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.01 0.02 0.03 0.02 0.04 0.02 0.04 0.03 0.04 0.03 0.03 0.03 0.04 0.02 0.03 0.03 0.03 0.02 0.03
Mbr_Syr_69.2	0.03 0.03 0.02 0.03 0.02 0.02 0.04 0.02 0.03 0.03 0.03 0.02 0.03 0.02 0.02 0.04 0.02 0.04 0.03 0.04 0.03 0.04 0.04 0.03 0.04 0.04 0.03 0.04 0.04 0.03 0.03 0.03 0.00
Mbr_SA_69.15	0.04 0.04 0.04 0.05 0.04 0.04 0.05 0.04 0.05 0.05 0.05 0.05 0.04 0.04 0.05 0.04 0.04 0.05 0.04 0.06 0.05 0.05 0.04 0.06 0.06 0.05 0.05 0.06 0.05 0.05 0.06 0.04 0.05 0.02 0.03 0.03
Mbr_SA_69.17	0.03 0.03 0.02 0.03 0.02 0.02 0.04 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.02 0.03 0.03 0.02 0.04 0.02 0.04 0.03 0.05 0.03 0.05 0.04 0.04 0.04 0.05 0.03 0.04 0.04 0.03 0.03 0.03 0.02 0.02 0.04
Mbr_Syr_69.3	0.03 0.03 0.02 0.03 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.02 0.04 0.02 0.04 0.03 0.04 0.03 0.04 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.01 0.01 0.04 0.03
Mbr_Syr_69.12	0.02 0.02 0.01 0.02 0.02 0.01 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.01 0.02 0.02 0.01 0.02 0.02 0.01 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.04 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.02 0.01 0.02 0.03 0.01 0.02
Mad_SA_142.2	0.06 0.06 0.06 0.07 0.07 0.06 0.07 0.07 0.07 0.06 0.07 0.07 0.07 0.06 0.07 0.07 0.06 0.08 0.06 0.08 0.06 0.07 0.05 0.07 0.07 0.06 0.06 0.06 0.06 0.06 0.07 0.06 0.06 0.06 0.07 0.07 0.07 0.08 0.07 0.06
Mk_Yem_165.1	0.04 0.04 0.04 0.05 0.04 0.04 0.05 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.05 0.03 0.03 0.03 0.04 0.05 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.04 0.03 0.03 0.02 0.04 0.04 0.04 0.05 0.04 0.04 0.06
Mba_Yem_143.4	0.05 0.04 0.04 0.06 0.05 0.04 0.05 0.04 0.05 0.05 0.05 0.05 0.05 0.04 0.05 0.04 0.04 0.05 0.05 0.06 0.04 0.03 0.03 0.04 0.05 0.04 0.03 0.04 0.03 0.04 0.05 0.03 0.04 0.03 0.04 0.04 0.04 0.05 0.05 0.05 0.07 0.00
Mr_Maur_99.2/17	0.03 0.02 0.02 0.03 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.04 0.03 0.04 0.03 0.04 0.03 0.04 0.03 0.04 0.04 0.04 0.04 0.03 0.04 0.03 0.03 0.03 0.03 0.04 0.05 0.04 0.04 0.03 0.05 0.04 0.05
Mm_Erit_166.3	0.04 0.04 0.03 0.04 0.03 0.03 0.04 0.03 0.04 0.03 0.04 0.04 0.03 0.04 0.03 0.04 0.03 0.04 0.03 0.05 0.04 0.04 0.03 0.05 0.05 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.05 0.04 0.04 0.06 0.05 0.04 0.04 0.07 0.04 0.05 0.04
Mm_Eg_166.2	0.04 0.04 0.03 0.04 0.03 0.03 0.04 0.03 0.04 0.03 0.03 0.04 0.04 0.03 0.04 0.03 0.04 0.03 0.05 0.04 0.04 0.03 0.05 0.05 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.05 0.04 0.04 0.05 0.04 0.04 0.06 0.05 0.04 0.04 0.07 0.04 0.05 0.04 0.00
Mw_Iran_144.1	0.06 0.06 0.06 0.07 0.06 0.06 0.07 0.07 0.07 0.06 0.07 0.06 0.06 0.06 0.06 0.06 0.06 0.07 0.06 0.08 0.06 0.07 0.06 0.07 0.07 0.06 0.06 0.07 0.06 0.06 0.07 0.07 0.07 0.07 0.07 0.07 0.07 0.07 0.06 0.01 0.06 0.07 0.06 0.08 0.08
Mw_Afg_144.17	0.06 0.06 0.06 0.08 0.07 0.06 0.07 0.07 0.07 0.06 0.07 0.07 0.06 0.06 0.07 0.07 0.06 0.08 0.07 0.08 0.06 0.07 0.06 0.07 0.07 0.06 0.06 0.07 0.06 0.06 0.07 0.06 0.06 0.07 0.07 0.08 0.08 0.07 0.06 0.00 0.06 0.07 0.06 0.08 0.08 0.01
Mw_Iran_144.2/9	0.06 0.05 0.05 0.06 0.06 0.05 0.06 0.06 0.06 0.06 0.06 0.05 0.06 0.05 0.05 0.06 0.05 0.07 0.05 0.06 0.05 0.06 0.05 0.05 0.05 0.05 0.05 0.06 0.05 0.05 0.05 0.05 0.06 0.06 0.06 0.07 0.06 0.05 0.03 0.03 0.04 0.05 0.06 0.06 0.04 0.04

Εκτίμηση γενετικών αποστάσεων για το KIF24, μεταξύ των εκτιμηθέντων ΑΕΓΜ (βάσει του PTP)

Παράρτημα III

Mol_Tun_119.9	
Mol_Mor_119.37	0.01
Mol_Lib_119.21	0.00 0.01
Mol_Alg_119.108	0.01 0.02 0.01
Mol_Alg_119.47	0.00 0.01 0.00 0.01
Mol_Lib_119.3	0.01 0.01 0.00 0.01 0.00
Mol_Mor_119.50	0.01 0.02 0.00 0.00 0.01 0.01
Mol_Eg_119.20	0.01 0.02 0.01 0.02 0.01 0.01 0.01
Mol_Isr_119.91	0.01 0.02 0.00 0.01 0.00 0.01 0.01 0.00
Mol_Mor_119.80	0.01 0.01 0.00 0.01 0.01 0.00 0.00 0.01 0.01
Mol_WS_119.51	0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.02 0.02 0.01
Mol_Tun_119.10	0.01 0.01 0.00 0.01 0.00 0.00 0.01 0.01 0.01 0.00 0.01
Mol_Tun_119.93/16	0.01 0.02 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.02 0.01
Mol_Alg_119.52	0.00 0.01 0.00 0.01 0.00 0.00 0.00 0.01 0.01 0.01 0.01 0.00 0.01
Mol_Eg_119.16	0.01 0.02 0.01 0.02 0.01 0.01 0.01 0.00 0.00 0.01 0.02 0.01 0.02 0.01
Ms_Mor_109.1	0.02 0.01 0.01 0.02 0.01 0.01 0.02 0.02 0.02 0.02 0.01 0.02 0.02 0.02
Mp_Maur_147.17	0.01 0.02 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.02 0.02 0.01 0.02 0.01 0.02 0.01 0.02 0.02
Mp_Maur_147.3	0.02 0.03 0.01 0.02 0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03
Mp_Maur_147.13	0.01 0.02 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.02 0.02 0.01 0.02 0.01 0.02 0.01 0.02 0.02 0.00 0.03
Msp_Maur_164.21	0.02 0.03 0.01 0.02 0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.00 0.03
Mgut_Lib_72.8	0.02 0.04 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04
Mgut_Mor_72.84	0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.01
Mgut_Alg_72.89	0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.02 0.03 0.03 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.01 0.01
Mgut_Mor_72.18	0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.01 0.00 0.00
Mgut_SA_72.40	0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.03 0.03 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03
Mgut_Jor_72.50	0.03 0.04 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.04 0.04 0.03 0.03 0.03 0.04 0.01 0.01 0.01 0.01 0.03
Mgut_Mor_72.51	0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.02 0.02 0.03 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.01 0.01 0.01 0.03 0.01
Mgut_Jor_72.15	0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.01 0.01 0.01 0.01 0.03 0.00 0.01
Mgut_Eg_72.22	0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.01 0.00 0.01 0.00 0.03 0.01 0.01 0.01
Mgut_Tun_72.7	0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.01 0.00 0.00 0.00 0.03 0.01 0.01 0.01 0.00
Mgut_Lib_72.26	0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.01 0.00 0.00 0.03 0.01 0.01 0.01 0.00 0.00
Mgut_Lib_72.57	0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.01 0.00 0.01 0.00 0.03 0.01 0.01 0.00 0.00 0.00 0.00
Mb_Eg_108.2	0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.01 0.00 0.01 0.00 0.03 0.01 0.01 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00
Mbr_SA_69.14	0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02
Mbr_Kow_69.23	0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02
Mbr_Syr_69.2	0.01 0.02 0.01 0.02 0.01 0.01 0.01 0.02 0.01 0.01 0.02 0.01 0.02 0.01 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.01 0.01 0.01 0.02 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01
Mbr_SA_69.15	0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.01 0.01 0.01
Mbr_SA_69.17	0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.01 0.01 0.01 0.00
Mbr_Syr_69.3	0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.01 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.02 0.02 0.02 0.01 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.01 0.00 0.00 0.01 0.00
Mbr_Syr_69.12	0.01 0.02 0.01 0.02 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.02 0.01 0.01 0.01 0.01 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.01 0.01 0.01 0.02 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.01 0.00 0.01 0.01 0.00
Mad_SA_142.2	0.02 0.02 0.01 0.02 0.01 0.01 0.02 0.02 0.02 0.01 0.02 0.02 0.01 0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.01 0.01 0.01
Mk_Yem_165.1	0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.01 0.02 0.02 0.02 0.01 0.01
Mbal_Yem_143.4	0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.02 0.01 0.02 0.02 0.02 0.01 0.01 0.01
Mr_Maur_99.2/17	0.01 0.02 0.01 0.02 0.01 0.01 0.01 0.02 0.01 0.01 0.02 0.01 0.01 0.01 0.02 0.02 0.02 0.02 0.01 0.02 0.01 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.02 0.03 0.02 0.02 0.01 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03
Mm_Erit_166.3	0.02 0.03 0.02 0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.01 0.02 0.02 0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.04 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.02 0.03 0.04 0.03 0.02
Mm_Eg_166.2	0.02 0.03 0.02 0.03 0.03 0.02 0.02 0.03 0.03 0.02 0.02 0.02 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.03 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.03 0.03 0.03 0.04 0.04 0.03 0.03 0.03 0.04 0.04 0.02 0.00
Mw_Iran_144.1	0.03 0.04 0.03 0.04 0.03 0.03 0.04 0.04 0.03 0.04 0.04 0.03 0.04 0.03 0.04 0.04 0.04 0.05 0.04 0.05 0.04 0.04 0.04 0.04 0.05 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.03 0.04 0.04 0.04 0.04 0.05 0.03 0.05 0.05
Mw_Afg_144.17	0.04 0.04 0.03 0.05 0.03 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.05 0.05 0.05 0.05 0.05 0.05 0.04 0.04 0.04 0.05 0.05 0.05 0.05 0.05 0.05 0.05 0.04 0.05 0.04 0.04 0.04 0.04 0.03 0.04 0.05 0.05 0.03 0.05 0.05 0.02
Mw_Iran_144.2/9	0.03 0.04 0.03 0.04 0.03 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.04 0.03 0.04 0.05 0.05 0.05 0.05 0.05 0.05 0.04 0.04 0.05 0.05 0.05 0.05 0.05 0.05 0.05 0.05 0.04 0.05 0.04 0.04 0.04 0.04 0.03 0.04 0.04 0.05 0.03 0.05 0.05 0.03 0.02

Εκτίμηση γενετικών αποστάσεων για το NKTR, μεταξύ των εκτιμηθέντων ΑΕΓΜ (βάσει του PTP)