

NATIONAL AND KAPODISTRIAN UNIVERSITY OF ATHENS
FACULTY OF POSITIVE SCIENCE

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Φυλογένεση και φυσιολογικές προσαρμογές του
γένους *Lacerta sensu lato* (Sauria: Lacertidae)
στην Ελλάδα**

**ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΣΑΓΩΝΑΣ
ΒΙΟΛΟΓΟΣ**

ΑΘΗΝΑ 2014



NATIONAL AND KAPODISTRIAN UNIVERSITY OF ATHENS
SCHOOL OF SCIENCE
FACULTY OF BIOLOGY

DOCTORAL THESIS

Phylogeny and physiological adaptations of the genus *Lacerta sensu lato* (Sauria: Lacertidae) in Greece

KONSTANTINOS SAGONAS
BIOLOGIST

ATHENS 2014

Η παρούσα διατριβή εκπονήθηκε στο Τμήμα Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου του Πανεπιστημίου Αθηνών, ενώ μέρος αυτής πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Μοριακής Συστηματικής και Εξέλιξης του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας Κρήτης και στο Εργαστήριο Μοριακής Οικολογίας και Εξέλιξης (MEEL) του Πανεπιστημίου Lund της Σουηδίας και υποβλήθηκε στο Τμήμα Βιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Επιβλέπων Καθηγητής:

Ευστράτιος Δ. Βαλάκος (Αναπληρωτής Καθηγητής, Πανεπιστημίου Αθηνών)

Συμβουλευτική Επιτροπή:

Ευστράτιος Δ. Βαλάκος (Αναπληρωτής Καθηγητής, Πανεπιστημίου Αθηνών)

Αικατερίνη Γαϊτανάκη (Καθηγήτρια, Πανεπιστημίου Αθηνών)

Νίκος Πουλακάκης (Επίκουρος Καθηγητής, Πανεπιστημίου Κρήτης)

Εξεταστική Επιτροπή:

Μυλωνάς Μυλωνάς (Καθηγητής, Πανεπιστημίου Κρήτης)

Αριστείδης Παρμακέλης (Επίκουρος Καθηγητής, Πανεπιστημίου Αθηνών)

Παναγιώτης Παφίλης (Επίκουρος Καθηγητής, Πανεπιστημίου Αθηνών)

Ουρανία Τσιτσιλώνη (Επίκουρη Καθηγήτρια, Πανεπιστημίου Αθηνών)

Η έγκριση διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Βιολογίας της Σχολής Θετικών Επιστημών του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν σημαίνει και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (Ν.5343/1932, άρθρο 202).

Μέρος της παρούσας διατριβής ενισχύθηκε οικονομικά από τα προγράμματα του ΕΛΚΕ και από το Πανεπιστήμιο Lund της Σουηδίας.

στην οικογένειά μου

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διατριβή εκπονήθηκε στον Τομέα Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών, κατά τα ακαδημαϊκά έτη 2009-2014 υπό την επίβλεψη του Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Ευστράτιου Βαλάκου. Με την ευκαιρία της ολοκλήρωσής της, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στους ανθρώπους που με τον ένα ή τον άλλο τρόπο βοήθησαν στην υλοποίηση αυτού του εγχειρήματος.

Πρώτα από όλους οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στον Αναπληρωτή Καθηγητή του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Ευστράτιο Βαλάκο κοντά στον οποίον πήρα τις πρώτες βασικές γνώσεις περιβαλλοντικής φυσιολογίας κατά τη διάρκεια της διπλωματικής μου εργασίας και ο οποίος έχει επωμιστεί την επίβλεψη αυτής της διατριβής. Σε εκείνον οφείλονται πολλές από τις επιλογές μου. Τον ευχαριστώ ιδιαίτερα για την πολύτιμη βοήθεια του, τις συμβουλές και κατευθύνσεις που μου έδωσε αλλά και την υποστήριξη που μου παρείχε, τόσο στο καθαρά επιστημονικό κομμάτι όσο και σε άλλα πρακτικά και προσωπικά προβλήματα που προέκυπταν όλα αυτά τα χρόνια.

Στη συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω την Καθηγήτρια κα. Κατερίνα Γαϊτανάκη για τη συμμετοχή της στην Συμβουλευτική Επιτροπή και τις πολύτιμες συμβουλές της καθ' όλη τη διάρκεια της διατριβής μου. Η ίδια παρακολούθησε αυτή τη διατριβή από την αρχή και με τις παρατηρήσεις και τα σχόλια της συνέβαλλε ανεκτίμητα στην ολοκλήρωση και συγγραφή της. Η ευρεία γνώση της σε θέματα φυσιολογίας και οι προτάσεις της για τη σημαντική βελτίωση του έργου αποτέλεσαν αξιοσημείωτη βοήθεια και είχαν ιδιαίτερη βαρύτητα για εμένα.

Επιπρόσθετα, ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στον Επίκουρο Καθηγητή κ. Νίκο Πουλακάκη για τη φιλοξενία του στο Εργαστήριο Μοριακής Ταξινομικής και Εξέλιξης του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας του Πανεπιστημίου Κρήτης. Στο εργαστήριό του και χάρη στην βοήθειά του έμαθα όλες τις μοριακές τεχνικές και αναλύσεις. Αν μπορώ να πω πως σήμερα μπορώ να σταθώ σε ένα εργαστήριο μοριακής, το οφείλω σε μεγάλο βαθμό σε εκείνον. Τον ευχαριστώ για την υποστήριξή του όλα αυτά τα χρόνια και την ανεκτίμητη καθοδήγηση που μου παρείχε σε πολλά θέματα της διατριβής.

Η Συμβουλευτική μου Επιτροπή, στην πραγματικότητα, ήταν τετραμελής - και όχι τριμελής - χάρη στον Επίκουρο Καθηγητή κ. Παναγιώτη Παφίλη. Καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής με στήριξε και με διευκόλυνε με κάθε δυνατό τρόπο. Τον

ευχαριστώ ιδιαίτερα για την καθημερινή συνεργασία μας, τις συμβουλές του για τη διαχείριση των προβλημάτων που προέκυπταν και αφορούσαν τη διατριβή και όχι μόνο, τις αμέτρητες συζητήσεις μας, την υποστήριξή του όλα αυτά τα χρόνια, αλλά και όλες τις υπέροχες δειγματοληψίες που πραγματοποιήσαμε.

Θερμές ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω και στα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής: τον Καθηγητή κ. Μωυσή Μυλωνά, την Επίκουρη Καθηγήτρια κα. Ουρανία Τσιτσιλώνη και τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Αριστείδη Παρμακέλη για τις ενδιαφέρουσες συζητήσεις που κάναμε και την πολύτιμη βοήθεια τους σε θέματα οικολογίας, ανοσολογίας και γενετικής, αντίστοιχα, αλλά και για τη φιλοξενία τους στα εργαστήριά τους. Τους ευχαριστώ θερμά για την καλή διάθεση να μου προσφέρουν την επιστημονική τους άποψη και τις καλοπροαίρετες παρατηρήσεις τους στη διόρθωση και βελτίωση του κειμένου.

Πολλές ευχαριστίες οφείλω στους συναδέλφους από το Μουσείο Φυσικής Ιστορίας Κρήτης και ειδικά στον ερευνητή και έφορο των Σπονδυλωτών του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας Δρ. Πέτρο Λυμπεράκη. Η υλοποίηση της παρούσας εργασίας δεν θα ήταν δυνατή χωρίς την πολύτιμη βοήθειά του. Η ενεργή συνεισφορά και οι επιστημονικές συμβουλές του υπήρξαν πολύτιμες σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής μου. Τον ευχαριστώ για τη φιλοξενία στο εργαστήριό του, στο σπίτι του, αλλά και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε όλα αυτά τα χρόνια.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω στον Επίκουρο Καθηγητή Bengt Hansson του Πανεπιστημίου Lund και στην Δρ. Anna Runemark στους οποίους οφείλω την «σουηδική» πλευρά της διατριβής. Η φιλοξενία τους και η εμπιστοσύνη που μου έδειξαν όλα αυτά τα χρόνια υπήρξαν ουσιαστική βοήθεια για εμένα. Χωρίς την συνεργασία αυτή, δεν έχω καμία αμφιβολία, πως ένα μεγάλο μέρος της παρούσας διατριβής δεν θα είχε υλοποιηθεί.

Το μεγαλύτερο μέρος της διατριβής αυτής πραγματοποιήθηκε στον Τομέα Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου. Θέλω να ευχαριστήσω από καρδιάς, όλα τα μέλη του Τομέα για την αγάπη τους, τη ζεστή ατμόσφαιρα και τη βοήθεια τους. Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στη Δρ. Αθηνά Μαρμάρη, στη Δρ. Ιωάννα Αγγελή και στη Δρ. Σύλβια Παπαβασιλείου για τη συμπαράσταση και το ενδιαφέρον όλα αυτά τα χρόνια. Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω τις συναδέλφους και συνοδοιπόρους Δρ. Μαριλένα Χοβαλοπούλου, Δρ. Όλγα Μαυροφρύδη, Κίρκη Ζηκάκη, Δρ. Πηνελόπη Σαμαρά, Δρ. Κική Ιωάννου και Παναγιώτα Μαυροειδή για όλες τις όμορφες στιγμές που μοιραστήκαμε. Επίσης, ευχαριστώ για την εμπιστοσύνη και τη συνεργασία τους, τους φοιτητές που

εκπύνησαν μαζί μου τη διπλωματική τους εργασία και που αδιαμαρτύρητα με συνόδευσαν σε πολλές δειγματοληψίες.

Πολλά ευχαριστώ οφείλω στους συναδέλφους αλλά πάνω από όλα φίλους μου (κατά σειρά αρχαιότητας...) Σοφία Τερζοπούλου, Μάλντα Σταλιμέρου, Εμμανουέλα Καραμέτα, Ευγένιο Χαλβατζή, Δρ. Παναγιώτα Κοτσακιάζη, Δρ. Πασχαλιά Καπλή και Κατερίνα Μπαλανίκα. Όλοι τους μαζί και ο καθένας με το δικό του τρόπο με στήριξαν όλον αυτόν τον καιρό. Η υπομονή μου θα είχε πολλές φορές εξαντληθεί δίχως εκείνους, ενώ χωρίς το χαμόγελο που απλόχερα μου χάριζαν όλα θα ήταν πιο δύσκολα.

Ένα ξεχωριστό και μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στη Φένια Παρασκευοπούλου για όλη την υπομονή, την κατανόηση και ανοχή που έδειξε όλο αυτό το διάστημα. Την ευχαριστώ που ήταν δίπλα μου στηρίζοντάς με κάθε φορά που τη χρειαζόμουν με το χαμόγελο και την αγάπη της.

Τέλος, το μεγαλύτερο ευχαριστώ το οφείλω στην οικογένεια μου, χωρίς την ηθική στήριξη, τη συμπαράσταση και την ενθάρρυνση των οποίων τίποτα από όλα αυτά δεν θα είχε πραγματοποιηθεί. Από τα βάθη της καρδιάς μου τους ευχαριστώ και τους το αφιερώνω.

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

16S rRNA	<i>16S ribosomal RNA</i>	Μεγάλη ριβοσωμική υπομονάδα του RNA
ADE	Apparent Digestive Efficiency	Φαινομενική πεπτική αποδοτικότητα
AIC	Akaike Information Criterion	Κριτήριο της ελάχιστης πληροφορίας
ANCOVA	Analysis of Covariance	Ανάλυση συνδιακύμανσης
ANOVA	Analysis of Variance	Ανάλυσης διακύμανσης
BF	Bite Force	Δύναμη δήγματος
BI	Bayesian Inference	Μπεϋζιανή Συμπερασματολογία
CD4⁺	Helper T-cells	T-βοηθητικά λεμφοκύτταρα
CD8⁺	Cytotoxic T lymphocyte	T-κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα
CV1	Canonical Variate 1	Κύρια μεταβλητή 1
CV2	Canonical Variate 2	Κύρια μεταβλητή 2
CVA	Canonical Variate Analysis	Ανάλυση κανονικών μεταβλητών
cyt b	<i>Cytochrome b</i>	<i>Κυτόχρωμα β</i>
D	Simpson index - Niche breadth	Δείκτης Simpson - Εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου
D	Berger-Parker index	Δείκτης εξειδίκευσης Berger-Parker
d_N	non-Synonymous substitutions	Συνώνυμες υποκαταστάσεις βάσεων
d_S	Synonymous substitutions	Μη-συνώνυμες υποκαταστάσεις βάσεων
E	Effectiveness of thermoregulation	Αποτελεσματικότητα της θερμορρύθμισης
ESSs	Effective Sample Sizes	Δραστικό μέγεθος δείγματος
G	Gamma	παράμετρος Γάμμα
GM	Geometrics Morphometrics	Γεωμετρική μορφομετρία
GPT	Gut Passage Time	Χρόνος διέλευσης της τροφής από την πεπτική οδό
GTR+G	General Time Reversible plus Gamma	Γενικευμένο Αντιστρεπτό Μοντέλο με παράμετρο Γάμμα
H'	Shannon-Wiener index - Niche breadth	Δείκτης Shannon-Wiener - Εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου
HH	Head Height	Ύψος κεφαλής
HKY+G	Hasegawa-Kishino-Yano plus Gamma	Hasegawa-Kishino-Yano με παράμετρο Γάμμα
HL	Head Length	Μήκος κεφαλής
HPD	Highest Posterior Densities	Υψηλότερη πυκνότητα των εκ των υστέρων πιθανοτήτων
HW	Head Width	Πλάτος κεφαλής
I	Invariable	Παράμετρος Αμετάβλητων Νουκλεοτιδικών Θέσεων
ICHH	Immunocompetence Handicap Hypothesis	
J	Jaccard index	Συντελεστής ομοιότητας Jaccard
JL	Jaw Length	Μήκος γνάθου
K3P+G	Kimura 3-parameter plus Gamma	Kimura 3-παραμέτρων με παράμετρο Γάμμα
LRT	Likelihood Ratio Test	Δοκιμασία του λόγου των πιθανοφανειών
MANCOVA	Multivariate Analysis of Covariance	Πολυμεταβλητή ανάλυση συνδιακύμανσης
MANOVA	Multivariate Analysis of Variance	Πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης
MAT	Mid-Aegean Trench	Φράγμα του Αιγαίου
MHC	Major histocompatibility complex	Μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας

ML	Maximum Likelihood	Μέγιστη Πιθανοφάνεια
MLR	Mixed lymphocyte reaction	Μικτή λεμφοκυτταρική αντίδραση
MP	Maximum Parsimony	Μέγιστη Φειδωλότητα
MSC	Messinian Salinity Crisis	Κρίση αλατότητας της Μεσσηνίου
mtDNA	mitochondrial DNA	μιτοχονδριακό DNA
Mya	Million years ago	Εκατομύρια χρόνια πριν από σήμερα
nDNA	nuclear DNA	πυρηνικό DNA
N_e	Effective population size	Δραστικό μέγεθος πληθυσμού
NGS	Massive parallel Next-Generation Sequencing	Μαζική μέθοδος αλληλούχισης νέας γενιάς
NHMC	Natural History Museum of Crete	Μουσείου Φυσικής Ιστορίας του Πανεπιστημίου της Κρήτης
NJ	Neighbor-Joining	Ανάλυση της Σύνδεσης Γειτόνων
NKTR	Natural Killer-Tumor Recognition gene	Γονίδιο μεμβρανικού υποδοχέα των φυσικών φονικών κυττάρων
OTU	Operational Taxonomic Unit	Λειτουργικές ταξινομικές μονάδες
PBR	Peptide Binding Region	Περιοχές παρουσίας ξένων αντιγονικών πεπτιδίων
PBS	Phosphate Buffer Saline	Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών αλάτων
PC1	Principal Component 1	Κύρια συνιστώσα 1
PC2	Principal Component 2	Κύρια συνιστώσα 2
PCA	Principal Component Analysis	Ανάλυση κυρίων συνιστωσών
PCA	Perchloric Acid	Υπερχλωρικού οξέος
PCR	Polymerase Chain Reaction	Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης
PHA	Phytohemagglutinin-induced skin swelling test	Καθυστερημένη δερματική αντίδραση υπερευαισθησίας
PL	Pileus Length	Μήκος καλύμματος κεφαλής
Q_{jk}	Pianka's overlap index	Δείκτης της επικάλυψης του τροφικού θώκου του Pianka
SH	Shimodaira-Hasegawa test	Έλεγχος Shimodaira-Hasegawa
SVL	Snout-Vent Length	Μήκος σώματος
T_b	Body temperatures	Θερμοκρασία σώματος πεδίου
TCR	T Cell Receptor	Υποδοχέας των T λεμφοκυττάρων
T_e	Operative temperatures	Λειτουργικές θερμοκρασίες
T_{pref}	Preferred temperature	Επιλεγόμενες θερμοκρασίες σώματος
TrN	Tamura & Nei model of substitution	Μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης των Tamura & Nei
T_{set}	Set-point range temperatures	Εύρος επιλεγόμενων θερμοκρασιών σώματος
TVMef+G	equal-frequency Transversion Model plus Gamma	Μοντέλο Μεταστροφών με παράμετρο Γ άμμα
v/v	volume/volume	όγκος/όγκο
w/v	weight/volume	βάρος/όγκο
ΤΔΕ		Δέκτες επαγωγικά T λεμφοκύτταρα
ΤΔΚ		Δέκτες κατασταλτικά T λεμφοκύτταρα
ΤΕΕ		Εκτελεστικά επαγωγικά T λεμφοκύτταρα
ΤΕΚ		Εκτελεστικά κατασταλτικά T λεμφοκύτταρα
ΤΠΕ		Πρόδρομα επαγωγικά T λεμφοκύτταρα
ΤΠΚ		Πρόδρομα κατασταλτικά T λεμφοκύτταρα

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Γενικά εισαγωγικά στοιχεία 1-26

1.1. Προσαρμογή και Φυσική Επιλογή.....	3
1.2. Η Σημασία και η Ζωή στα Νησιά.....	6
1.3. Περιβαλλοντική και Εξελικτική Φυσιολογία	9
1.4. Η Συγκριτική Μέθοδος.....	10
1.4.1. Φυλογένεση και σύγχρονες συγκριτικές μέθοδοι	11
1.5. Οργανισμός μελέτης.....	15
1.5.1. Οι σαύρες ως οργανισμοί-πρότυπα για μελέτες φυσιολογίας, οικολογίας και εξέλιξης.....	15
1.5.2. Το Γένος <i>Lacerta</i> (Linnaeus 1758)	16
1.5.2.1. Το είδος <i>Lacerta trilineata</i> (Bedriaga, 1886).....	18
1.5.3. Συνθήκες διατήρησης των ζώων στο εργαστήριο	20
1.6. Σκοπός της Μελέτης και Προσέγγιση των Ερωτημάτων	20
1.6.1. Στο πεδίο της φυσιολογίας και της οικολογίας	22
1.6.2. Στο πεδίο της ανοσολογίας	24

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Φυλογένεση και φυλογεωγραφία του γένους *Lacerta sensu lato* στην Ελλάδα..... 27-68

2.1. Εισαγωγή	29
2.2. Υλικά και Μέθοδοι	37
2.2.1. Συλλογή δειγμάτων και εξαγωγή γενετικού υλικού.....	37
2.2.2. Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) και προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας	38
2.2.3. Στοίχιση και ανάλυση αλληλουχιών	40
2.2.4. Μέθοδοι φυλογενετικής ανάλυσης και κατασκευή φυλογενετικού δέντρου με βάση τα μιτοχονδριακά γονίδια.....	41
2.2.5. Έλεγχος εναλλακτικών υποθέσεων.....	43
2.2.6. Μοριακό ρολόι και εκτίμηση του χρόνου απόσχισης των κλάδων με βάση τα μιτοχονδριακά γονίδια.....	44
2.2.7. Φυλογενετικές αναλύσεις στο σύνολο των δεδομένων (πυρηνικό και μιτοχονδριακά γονίδια).....	45
2.3. Αποτελέσματα	46
2.3.1. Γενετικές αποστάσεις με βάση τα μιτοχονδριακά γονίδια	46
2.3.2. Γενετικές αποστάσεις με βάση το πυρηνικό γονίδιο.....	49
2.3.3. Φυλογενετικές αναλύσεις με βάση τα μιτοχονδριακά γονίδια.....	49

2.3.4. Εκτίμηση των χρόνων απόσχισης	52
2.3.5. Συνδυασμένη ανάλυση των τριών γενετικών τόπων (πυρηνικό και μιτοχονδριακά γονίδια).....	52
2.4. Συζήτηση	54
2.4.1. Φυλογενετικές σχέσεις του γένους <i>Lacerta</i> στην Ελλάδα	54
2.4.1.1. Ο κλάδος της <i>Lacerta viridis/bilineata</i>	54
2.4.1.2. Ο κλάδος της <i>Lacerta trilineata</i>	56
2.4.2. Φυλογεωγραφία του γένους <i>Lacerta</i> στη νότια Βαλκανική Χερσόνησο	59
2.4.2.1. Ο κλάδος της <i>Lacerta viridis/bilineata</i>	59
2.4.2.2. Ο κλάδος της <i>Lacerta trilineata</i>	61
2.5. Συμπεράσματα	67
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Φυσιολογικές, οικολογικές και συμπεριφορικές προσαρμογές..	69-172
3.1. Εισαγωγή	71
3.1.1. Θερμική Βιολογία	71
3.1.2. Οικολογία της διατροφής	75
3.1.3. Μορφολογία κεφαλής και δύναμη δήγματος	78
3.1.4. Πέψη.....	80
3.1.5. Υποθέσεις και ερωτήματα κεφαλαίου.....	83
3.1.5.1. Περί θερμικής βιολογίας.....	83
3.1.5.2. Περί οικολογίας της διατροφής.....	85
3.1.5.3. Περί μορφολογίας της κεφαλής και δύναμης δήγματος	86
3.1.5.4. Περί πέψης	87
3.2. Υλικά και Μέθοδοι	88
3.2.1. Συλλογή δειγμάτων και περιγραφή των περιοχών δειγματοληψίας.....	88
3.2.1.1. Επιλογή των βιοτόπων	88
3.2.1.2. Συλλογή δειγμάτων για τη μελέτη της οικολογίας της διατροφής και της μορφολογίας της κεφαλής.....	90
3.2.2. Θερμοκρασίες σώματος πεδίου (μετρήσεις στο πεδίο).....	91
3.2.3. Λειτουργικές θερμοκρασίες (μετρήσεις στο πεδίο)	92
3.2.4. Επιλεγόμενες θερμοκρασίες (μετρήσεις στο εργαστήριο)	94
3.2.5. Αποτελεσματικότητα θερμορρύθμισης.....	95
3.2.6. Σύσταση τροφής και χαρακτηριστικά της λείας	96
3.2.7. Μέγεθος και σχήμα κεφαλής.....	98
3.2.8. Μέγεθος ισχύος δήγματος.....	99
3.2.9. Φαινομενική πεπτική αποδοτικότητα.....	99
3.2.9.1. Υπολογισμός των ολικών λιπιδίων	100

3.2.9.2. Προσδιορισμός των πρωτεϊνών	101
3.2.9.3. Προσδιορισμός των σακχάρων	101
3.2.10. Χρόνος διέλευσης της τροφής.....	102
3.2.11. Δραστικότητα των πεπτικών ενζύμων	102
3.2.11.1. Υδρόλυση των πρωτεϊνών.....	103
3.2.11.2. Υδρόλυση των υδατανθράκων	104
3.2.12. Μορφολογία του γαστρεντερικού σωλήνα	105
3.2.13. Στατιστικές αναλύσεις.....	106
3.2.13.1. Συμβατικές στατιστικές αναλύσεις.....	106
3.2.13.1.1. Περί θερμικής βιολογίας	106
3.2.13.1.2. Περί οικολογίας της διατροφής.....	107
3.2.13.1.3. Περί μορφολογίας της κεφαλής και δύναμης δήγματος.....	109
3.2.13.1.4. Περί πέψης	111
3.2.13.2. Στατιστικές αναλύσεις με βάση τη φυλογένεση.....	111
3.3. Αποτελέσματα	112
3.3.1. Μήκος σώματος (SVL)	112
3.3.2. Μετρήσεις πεδίου (T_b και T_e).....	113
3.3.3. Επιλεγόμενες θερμοκρασίες (T_{pref} και T_{set}).....	115
3.3.4. Αποτελεσματικότητα της θερμορρύθμισης (E).....	115
3.3.5. Γενικά στοιχεία της διαίτας της <i>L. trilineata</i>	117
3.3.6. Φυλετική διαφοροποίηση της τροφής.....	117
3.3.7. Διαφοροποίηση της τροφής μεταξύ αναπτυξιακών σταδίων	121
3.3.8. Εποχιακή διαφοροποίηση της τροφής.....	121
3.3.9. Γεωγραφική διαφοροποίηση της τροφής	124
3.3.10. Αποκλίσεις του μεγέθους της κεφαλής (απλή μορφομετρία)	125
3.3.11. Αποκλίσεις του σχήματος της κεφαλής (γεωμετρική μορφομετρία) και της δύναμης δήγματος.....	129
3.3.12. Μορφολογία του γαστρεντερικού σωλήνα	134
3.3.13. Χρόνος διέλευσης της τροφής (gut passage time, GPT).....	134
3.3.14. Φαινομενική πεπτική αποδοτικότητα και δραστικότητα των πεπτικών ενζύμων.....	138
3.3.15. Συνδυαστική προσέγγιση - Ανάλυση κυρίων συνιστωσών (PCA)	140
3.4. Συζήτηση	141
3.4.1. Θερμική Βιολογία.....	141
3.4.2. Οικολογία της διατροφής	147
3.4.2.1. Φυλετική και αναπτυξιακή διαφοροποίηση της διαίτας	149
3.4.2.2. Εποχιακή και γεωγραφική διαφοροποίηση της διαίτας	152

3.4.3. Μορφολογίας κεφαλής και δύναμη δήγματος.....	156
3.4.3.1. Αποκλίσεις στη μορφολογία της κεφαλής και στη δύναμη δήγματος	156
3.4.3.2. Δράση της φυσικής και φυλετικής επιλογής στη μορφολογία της κεφαλής και στην ισχύ δήγματος της <i>L. trilineata</i>	157
3.4.4. Πέψη.....	160
3.4.4.1. Μέγεθος σώματος, μορφολογία του πεπτικού σωλήνα και χρόνος διέλευσης της τροφής.....	161
3.4.4.2. Ενζυμική δραστηριότητα	164
3.4.4.3. Φαινομενική πεπτική αποδοτικότητα	165
3.4.4.4. Στοιχεία οικολογίας και πεπτική αποδοτικότητα της <i>L. trilineata</i>	169
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Ανοσολογία και ανοσογενετική	173-254
4.1. Εισαγωγή - Γενικά Στοιχεία	175
4.1.1. Γενετικό υπόβαθρο, παρασιτισμός και ανοσολογική απόκριση	178
4.1.1.1. Προέλευση και διατήρηση της γενετικής ποικιλότητας των MHC μορίων.....	181
4.1.2. Σχέση ξενιστή-παρασίτου και ανοσολογική απόκριση.....	185
4.1.3. Υποθέσεις και ερωτήματα κεφαλαίου.....	187
4.2. Υλικά και Μέθοδοι	191
4.2.1. Βιολογικό υλικό και περιοχές μελέτης	191
4.2.1.1. Είδη που μελετήθηκαν και περιοχές μελέτης για την έρευνα της γενετικής ποικιλότητας των MHC μορίων τάξης I	191
4.2.1.2. Επιλογή και περιγραφή βιοτόπων για τη μελέτη της ανοσολογικής απόκρισης... 191	
4.2.2. Μέθοδοι	193
4.2.2.1. Εξαγωγή DNA και αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)	193
4.2.2.2. Βαθμός πολυμορφισμού της πολυγονιδιακής οικογένειας του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας τάξης I (MHC I)	196
4.2.2.2.1. Γονοτύπηση του MHC τάξης I και τεχνολογία αλληλούχισης νέας γενιάς (next generation sequencing).....	196
4.2.2.2.2. Επιλογή των πραγματικών αλληλουχιών	197
4.2.2.2.3. Γενετική ποικιλότητα	198
4.2.2.2.4. Επιλογή στις θέσεις πρόσδεσης των αντιγονικών πεπτιδίων (peptide-binding region, PBR)	200
4.2.2.3. Μέθοδοι φυλογενετικής ανάλυσης και κατασκευή γονιδιακού δέντρου	201
4.2.2.4. Καταμέτρηση παρασιτικού φορτίου	203
4.2.2.5. Εξέταση της ισχύος της κυτταρικής ανοσίας.....	203
4.2.2.5.1. Μικτή λεμφοκυτταρική αντίδραση (<i>in vitro</i>).....	206
4.2.2.5.2. Καθυστερημένη δερματική αντίδραση υπερευαισθησίας (<i>in vivo</i>).....	208
4.2.3. Στατιστικές αναλύσεις.....	209

4.2.3.1. Κριτήριο πληροφορίας Akaike	210
4.3. Αποτελέσματα	212
4.3.1. Ανοσογενετική	212
4.3.1.1. Γενετική ποικιλότητα των MHC μορίων τάξης I.....	212
4.3.1.2. Φυλογενετικές αναλύσεις και βιογεωγραφικό πρότυπο	215
4.3.1.3. Επιλογή στις θέσεις πρόσδεσης των πεπτιδίων (PBR)	217
4.3.2. Κυτταρομεσολαβούμενη ανοσολογική απόκριση.....	218
4.3.2.1. Μέγεθος σώματος και βάρος σώματος	218
4.3.2.2. Αριθμός αλληλουχιών για τα εξώνια 2 & 3 των MHC μορίων τάξης I.....	220
4.3.2.3. Αντίσταση σε παράσιτα και παρασιτικό φορτίο	222
4.3.3. Κυτταρομεσολαβούμενη ανοσολογική απόκριση.....	224
4.3.3.1. Σχέση των επιπέδων της κυτταρικής ανοσίας και του παρασιτικού φορτίου	225
4.3.3.2. Σχέση του βαθμού πολυμορφισμού των MHC μορίων τάξης I με τα επίπεδα διέγερσης των T λεμφοκυττάρων και το παρασιτικό φορτίο.....	228
4.3.3.3. Κριτήριο ελάχιστης πληροφορίας (AIC)	230
4.4. Συζήτηση	232
4.4.1. Περί ανοσογενετικής.....	232
4.4.2. Περί ανοσολογικής απόκρισης.....	242
4.4.2.1. Γενετική ποικιλότητα, παρασιτικό φορτίο και κυτταρική ανοσία	243
4.4.2.2. Παρασιτικό φορτίο, φαινότυπος και κυτταρική ανοσία	247
4.4.2.3. Επίδραση των οικολογικών προσαρμογών των νησιωτικών σαυρών της <i>L. trilineata</i> στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος	251
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Γενική συζήτηση - Σύνοψη των αποτελεσμάτων	255-271
5.1. Γενική Συζήτηση-Συμπεράσματα και Ερωτήματα.....	257
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	271
Περίληψη Ελληνική.....	271
Περίληψη Αγγλική - Summary.....	275
Βιβλιογραφία	279
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι: Παράρτημα συμπληρωματικών πινάκων	335
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ: Δημοσιεύσεις που σχετίζονται με τη διδακτορική διατριβή	347
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ: Σύντομο βιογραφικό σημείωμα	351

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΓΕΝΙΚΑ ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

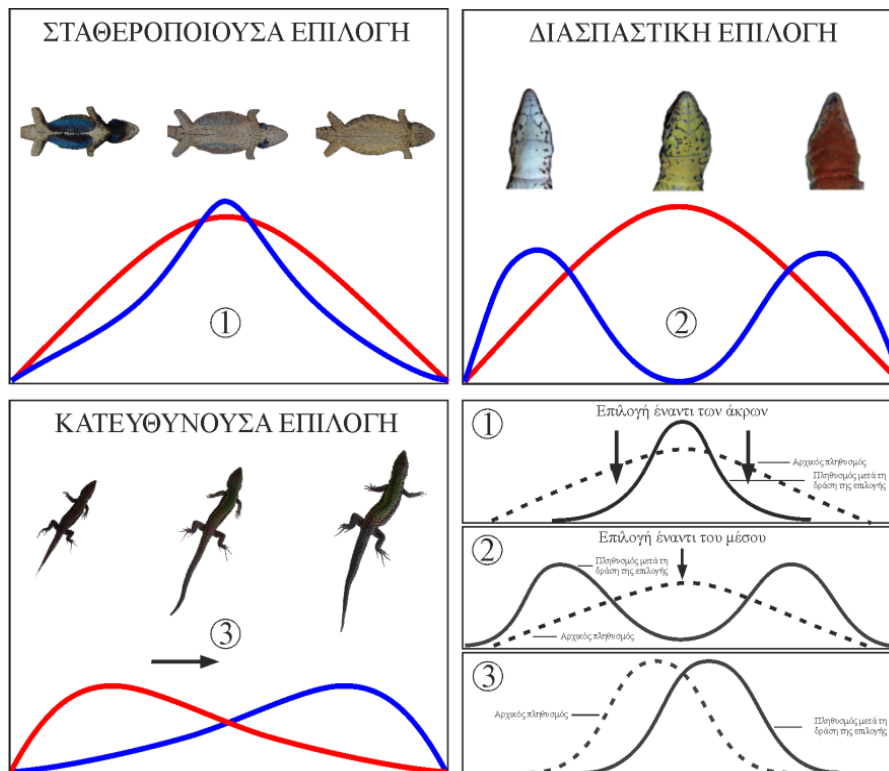
1.1. ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΗ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΗ ΕΠΙΛΟΓΗ

Η έννοια της βιολογικής προσαρμογής είναι μια από τις αρχικές ιδέες της εξέλιξης, την οποία χρησιμοποίησε ο Δαρβίνος (1859) για την ανάπτυξη της θεωρίας της εξέλιξης, μέσω των πιέσεων φυσικής επιλογής, προκειμένου να ερμηνεύσει τις φαινοτυπικές διαφορές των οργανισμών, που παρατήρησε κατά τη διάρκεια του πενταετούς ταξιδιού του. Η προσαρμογή είναι μια κεντρική αρχή της βιολογίας και συχνά αποτελεί αντικείμενο μεγάλης αντιπαράθεσης. Πολλές φορές χρησιμοποιείται με διαφορετικές σημασίες για την περιγραφή τόσο ενός προτύπου, όσο και μιας διαδικασίας, και πιο συχνά, χρησιμοποιείται με ασάφεια και αοριστία. Με τον όρο προσαρμογή, αναφερόμαστε σε κάθε κληρονομήσιμη μεταβολή ενός οποιουδήποτε χαρακτήρα, ο οποίος επιτρέπει σε ένα οργανισμό να εκμεταλλευτεί καλύτερα το περιβάλλον του. Ο χαρακτήρας αυτός μπορεί να αφορά είτε ένα δομικό (μορφολογικό) είτε ένα λειτουργικό είτε ένα φυσιολογικό χαρακτηριστικό ή, ακόμη, και ένα στοιχείο της συμπεριφοράς του (Bock 1980).

Τα μοναδικά γνωρίσματα, που συμβάλλουν στην προσαρμογή ενός οργανισμού στο περιβάλλον στο οποίο διαβιού, επιλέγονται στη φύση (φυσική επιλογή) και τελικά επικρατούν. Αδυναμία προσαρμογής ενός οργανισμού στις μεταβολές του περιβάλλοντος (π.χ. κλίμα, τροφική διαθεσιμότητα, βιοτικές και αβιοτικές αλληλεπιδράσεις, οι οποίες μεταβάλλονται χρονικά και χωρικά), μπορεί να οδηγήσει σε εξαφάνιση αυτού. Γίνεται επομένως κατανοητό ότι, η έννοια της προσαρμογής ενός οργανισμού μπορεί να υπάρξει μόνο σε σχέση με το εξωτερικό του περιβάλλον, μια και οι δυνάμεις επιλογής δεν προκύπτουν μονομερώς από το περιβάλλον, αλλά διαμορφώνονται μέσω μιας αναδραστικής σχέσης μεταξύ του οργανισμού και του περιβάλλοντός του (Bock 1980).

Οι έννοιες της επιλογής και της προσαρμοστικότητας, είναι δύο άρρηκτα συνδεδεμένες μεταξύ τους ιδέες, καθώς η τελευταία συσσωρεύει όλα αυτά που καθορίζονται από τη φυσική επιλογή. Επομένως, η έννοια της επιλογής θα πρέπει να οριστεί προσεκτικά. Ο Δαρβίνος στο έργο του «On the Origin of Species by Means of Natural Selection» (1859) (συνήθως αναφέρεται ως «Η Καταγωγή των Ειδών») καθόρισε την επιλογή τόσο ως «μηχανισμό» όσο και ως «αποτέλεσμα». Αργότερα, οι εξελικτικοί, ακολουθώντας το παράδειγμα των γενετιστών, διατήρησαν την έννοια του «μηχανισμού» (μηχανισμός αλλαγής). Πλέον, γνωρίζουμε ότι η Φυσική Επιλογή είναι η διαδικασία διαφοροποιημένης επιβίωσης και αναπαραγωγής, που οδηγεί σε αλλαγές στις συχνότητες των αλληλομόρφων γονιδίων, με την πάροδο του χρόνου, καθώς τα καλύτερα

προσαρμοσμένα άτομα τείνουν να επιζήσουν και να αναπτυχθούν, δίνοντας τις προσαρμογές τους με μεγαλύτερη συχνότητα στην επόμενη γενεά από ό,τι τα λιγότερο κατάλληλα μέλη του πληθυσμού (Futuyma 2005).



Εικόνα 1.1. Απεικόνιση των τύπων φυσικής επιλογής. Επάνω αριστερά: Σταθεροποιούσα επιλογή, όπου ευνοείται ο ενδιάμεσος φαινότυπος. Επάνω δεξιά: Διασπαστική επιλογή, όπου ευνοούνται οι δύο ακραίοι φαινότυποι. Κάτω αριστερά: Κατευθύνουσα επιλογή, όπου ευνοείται ο φαινότυπος του ενός άκρου της σειράς ποικιλομορφίας. Με κόκκινη γραμμή απεικονίζεται ο χαρακτήρας ενός πληθυσμού που μελετάτε πριν τη δράση της φυσικής επιλογής, ενώ με μπλε ο πληθυσμός μετά τη δράση της επιλογής.

Υπάρχουν τρία πρότυπα φυσικής επιλογής (**εικόνα 1.1**) (Futuyma 2005). Ο πρώτος τύπος επιλογής αναφέρεται στη σταθεροποιούσα ή εξισορροπούσα επιλογή (balancing selection), όπου, από μια σειρά φαινοτύπων, ευνοείται εκείνος με τον ενδιάμεσο φαινότυπο, ενώ οι ακραίοι φαινότυποι δεν επιλέγονται. Ο δεύτερος τύπος φυσικής επιλογής, είναι η διασπαστική ή διαφοροποιούσα (disruptive selection). Σε αυτού του τύπου την επιλογή, ευνοούνται τα άτομα που βρίσκονται στα δύο άκρα της ποικιλότητας, με άμεση συνέπεια να προκαλείται ασυνέχεια σε αυτή. Τέλος, υπάρχει η κατευθύνουσα επιλογή (directional selection), η οποία τείνει να ευνοεί φαινοτύπους του ενός άκρου της σειράς ποικιλομορφίας.

Η φυσική επιλογή τείνει να δρα πιο ισχυρά σε γνωρίσματα υψηλών βιολογικών επιπέδων οργάνωσης, όπως το συστημικό και η συμπεριφορά (εικόνα 1.2), καθώς η λειτουργία και η απόδοσή τους επηρεάζονται από πληθώρα υποκείμενων φυσιολογικών διεργασιών - που επίσης υπόκεινται σε πιέσεις επιλογής. Με άλλα λόγια, μπορούμε να πούμε ότι η επιλεκτική δύναμη του περιβάλλοντος είναι πολύ πιο ισχυρή στα γνωρίσματα αυτά, καθώς είναι το αποτέλεσμα της συσσωρευμένης πίεσης επιλογής από τα κατώτερα επίπεδα οργάνωσης (βλ. ανασκόπηση από Garland & Kelly 2006). Άμεση συνέπεια του τελευταίου είναι ότι οι χαρακτήρες των υψηλών βιολογικών επιπέδων οργάνωσης να σχετίζονται άμεσα την αρμοστικότητα του ζώου μέσα στο περιβάλλον διαβίωσης. Οι χαρακτήρες ιστορίας ζωής (αναπαραγωγική απόδοση - πρώτη ηλικία αναπαραγωγής, μέγεθος γέννας - ενηλικίωση, ποσοστό επιβίωσης, κλπ), στοιχεία της συμπεριφοράς ενός ζώου, πτυχές της φυσιολογίας και της οικολογίας ενός οργανισμού, είναι όλοι «σύνθετοι χαρακτήρες» (Angilletta Jr 2009, Irschick & Garland 2001, Ketterson & Nolan 1999, Kingsolver & Huey 2003), με την έννοια ότι η λειτουργία, η διαμόρφωση και η οργάνωσή τους είναι το αποτέλεσμα πολλών δευτερευόντων γνωρισμάτων (Swallow & Garland 2005) (εικόνα 1.2).

Η εξελικτική απόκριση των «σύνθετων» αυτών χαρακτήρων στις πιέσεις επιλογής, προϋποθέτει αναγκαστικά την παράλληλη αλλαγή και σε άλλες πτυχές της βιολογίας ενός οργανισμού, όπως της μορφολογίας, της φυσιολογίας, αλλά και βιοχημικών μονοπατιών (πχ. Ghalambor και συν. 2003, Sinervo & Calsbeek 2003), καθώς και αλλαγές σε μοριακό επίπεδο (πχ. Chippindale και συν. 2003, Rose και συν. 2005). Βέβαια, ανεξαρτήτως του επιπέδου οργάνωσης ενός χαρακτήρα, όλα τα γνωρίσματα επηρεάζονται από τη συνεργατική δράση των αλληλομόρφων γονιδίων, των οποίων η έκφραση καθορίζεται από πληθώρα περιβαλλοντικών παραγόντων, τόσο βιοτικών (όπως οι κοινωνικές αλληλεπιδράσεις) όσο και φυσικών/αβιοτικών (όπως η θερμοκρασία και η διαθεσιμότητα τροφής) (Angilletta Jr 2009, Runemark και συν. 2013). Συνεπώς, είναι σαφές ότι αλλαγές στο φαινότυπο μίας λειτουργίας, συνήθως, αντανακλούν και σε αλλαγές στη μοριακή βάση του χαρακτήρα αυτού (μεταγραφικό, αμινοξικό και/ή νουκλεοτιδικό επίπεδο) (πχ. Chippindale και συν. 2003, Rose και συν. 2005).

Εικόνα 1.2. Απεικόνιση της ισχύος των πιέσεων φυσικής και φυλετικής επιλογής. Οι σύνθετοι χαρακτήρες, όπως στοιχεία της συμπεριφοράς ενός ζώου, διαμορφώνονται-συγκροτούνται από πληθώρα δευτερογενών, χαμηλότερων επιπέδων οργάνωσης, χαρακτήρων, οι οποίοι υπόκεινται σε πιέσεις επιλογής, με έναν αυστηρά ιεραρχημένο τρόπο. Επομένως, οι πιέσεις επιλογής τείνουν να δρουν πιο ισχυρά στα υψηλότερα επίπεδα βιολογικής οργάνωσης, όπως επισημαίνεται από το πάχος του βέλους. Μάλιστα, όπως έχει αναφερθεί, από

εξελικτικούς βιολόγους, οι πιέσεις επιλογής δρουν, συνήθως, στη φαινοτυπική ποικιλότητα (αντανακλά ποικιλότητα στη γονιδιακή έκφραση), και όχι στη γενετική (δηλαδή σε επίπεδο νουκλεοτιδικών αλληλουχιών) (ωστόσο βλ. και Stearns & Hoekstra 2005). Η εικόνα είναι ανακατασκευή από την εργασία των Garland & Kelly (2006).



1.2. Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΚΑΙ Η ΖΩΗ ΣΤΑ ΝΗΣΙΑ

...δεν θα ήταν υπερβολικό να πούμε πως, όταν θα έχουμε ξεπεράσει πλήρως τις δυσκολίες που παρουσιάζει η νησιωτική ζωή, θα μας είναι συγκριτικά εύκολο να αντιμετωπίσουμε τα περισσότερα περίπλοκα και μάλλον ακαθόριστα προβλήματα των ηπειρωτικών κατανομών...

(Wallace 1902)

Το απόσπασμα αυτό προέρχεται από το βιβλίο «Island life» του Alfred Russel Wallace (1902) και συμπληρώνει την ευρύτερη ιδέα για το ρόλο των νησιών ως φυσικών εργαστηρίων οικολογικών και εξελικτικών διεργασιών (Whittaker & Fernández-Palacios 2007). Η μελέτη των προσαρμογών, τις οποίες έχουν υιοθετήσει οι οργανισμοί, προκειμένου να επιβιώσουν και να εποίκισουν με επιτυχία τα νησιωτικά οικοσυστήματα, προσέλκυσε από πολύ νωρίς το ενδιαφέρον των ερευνητών. Πρώτος ο Δαρβίνος, στο βιβλίο του «On the Origin of Species by Means of Natural Selection» (1859), ανέπτυξε τη θεωρία για την καταγωγή των ειδών, βασιζόμενος σε μεγάλο βαθμό στις παρατηρήσεις και τις συλλογές που πραγματοποίησε ο ίδιος στο νησιωτικό συγκρότημα των Galápagos. Με βάση τις παρατηρήσεις αυτές, ο Δαρβίνος κατέληξε στο συμπέρασμα, ότι οι εξελικτικές διαφοροποιήσεις των νησιωτικών taxa μπορούν να προκύψουν από αλλαγές των πιέσεων

επιλογής, μεταξύ εκείνων που δρουν κατά τη διάρκεια της μετανάστευσης («swim still further») και εκείνων που δρουν ακολουθώντας τον αποικισμό («had stuck to the wreck») (Darwin 1859, σελ. 136). Άλλωστε, πολλά από τα αξιοσημείωτα και προφανώς αποκλίνοντα χαρακτηριστικά των οργανισμών που ζουν στα νησιά, μπορούν απλά να προκύψουν ως απόκριση στις διαφορετικές πιέσεις επιλογής, που δρουν σε αυτά, σε σχέση με εκείνες των ηπειρωτικών περιοχών. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η απώλεια ικανότητας πτήσης ορισμένων νησιωτικών taxa πτηνών και εντόμων, ως αποτέλεσμα της αυξημένης πίεσης επιλογής για μειωμένη διασπορά, η οποία δρα στα νεοαφιχθέντα άτομα ενός taxon στα νησιωτικά οικοσυστήματα (Carlquist 1974, Grant & Grant 2011, Peck 1996, Roff 1990, Sequeira και συν. 2000, Shaw 1996).

Λίγο μεταγενέστερα, ο Wallace (1880), συν-δημιουργός της θεωρίας της εξέλιξης, μέσω της φυσικής επιλογής (Darwin & Wallace 1858) (με τις ανακοινώσεις τους «Περί της τάσης των ειδών να δημιουργούν ομάδες και περί της διαιώνισης των ειδών μέσω φυσικών μεθόδων επιλογής» - οι λεπτομέρειες της θεωρίας αυτής και τα αναλυτικά επιχειρήματα παρουσιάστηκαν λίγο αργότερα στο βιβλίο που έγραψε ο Δαρβίνος το 1859), κατέδειξε τη σημασία των νησιών υπογραμμίζοντας δύο σημαντικά διαφοροποιά στοιχεία που δεσπόζουν στα εξελικτικά μονοπάτια που λαμβάνουν χώρα στα νησιά. Πρώτον, η ιστορία πολλών νησιών περιλαμβάνει δραματικά γεγονότα, όπως ηφαιστειακές εκρήξεις ή κάλυψη από τη στάθμη της θάλασσας, για ικανά χρονικά διαστήματα, που έχουν σαν συνέπεια την εξάλειψη κάθε μορφής ζωής, με αποτέλεσμα οι νέοι εποίκιστές να συναντούν ένα άδειο από άλλες μορφές ζωής περιβάλλον, διαθέσιμο για εγκατάσταση και, συνεπακόλουθα, γενετική διαφοροποίηση (Carlquist 1974). Δεύτερον, η ανάπτυξη γενετικών φραγμών και η πλήρης απομόνωση από γεγονότα μετανάστευσης από τις γειτονικές ηπειρωτικές μάζες, έχουν ως επακόλουθο το γεγονός ότι η εξέλιξη σε ορισμένα αρχιπελάγη ακολουθεί μοναδικά πρότυπα (Leigh και συν. 2007).

Οι ιδιαίτερες συνθήκες που επικρατούν σε αυτά τα μοναδικά ενδιαιτήματα, λόγω της διαφοροποίησης των βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων από εκείνους που χαρακτηρίζουν τις μεγάλες ηπειρωτικές μάζες, ασκούν μια σαφώς διακριτή επιρροή στους οργανισμούς (Blumstein & Daniel 2005, Carlquist 1974). Το μικρό μέγεθος, τα αυστηρά καθορισμένα, λόγω της θάλασσας, όρια τους και τα απλοποιημένα τους συστήματα, σε αντίθεση με εκείνων της ξηράς, κάνουν τους νησιωτικούς πληθυσμούς εύκολους στην παρατήρηση και στην ερμηνεία εξελικτικών προτύπων (Carlquist 1965, Whittaker & Fernández-Palacios 2007).

Η ανάγκη των εξελικτικών βιολόγων, οικολόγων και βιογεωγράφων να ερμηνεύσουν τις μεγάλες εξελικτικές αλλαγές, που υφίστανται οι πληθυσμοί των νησιών, ως αποτέλεσμα της προσαρμογής τους στις ιδιαίτερες περιβαλλοντικές συνθήκες (φυσικές και βιοτικές) που επικρατούν σε αυτά, έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη πολλών και ποικίλων θεωριών και υποθέσεων (Brown και συν. 2006, Carlquist 1965, Foster 1964, Grant 1998, Lomolino 2005, MacArthur & Wilson 1967, Meiri και συν. 2005, Monti και συν. 2013, Whittaker & Fernández-Palacios 2007). Δύο από τις πλέον σημαντικές θεωρίες είναι ο «κανόνας του νησιού» ("island rule", Van Valen 1973, όμως βλ. και Meiri και συν. 2008) και το «σύνδρομο του νησιού» ("island syndrome", Adler & Levins 1994, Grant 1998).

Οι ερμηνείες που μπορούν να αποδοθούν στις δύο παραπάνω θεωρίες, είναι αρκετές και οι χαρακτήρες που πραγματεύονται είναι, επιγραμματικά, οι ακόλουθοι: Αρχικά, σύμφωνα με τη θεωρία της νησιωτικής βιογεωγραφίας (MacArthur & Wilson 1967), τα νησιά διαθέτουν λιγότερα είδη και μάλιστα όσο μικρότερη είναι η έκταση ενός νησιού, τόσο λιγότερα είδη φιλοξενεί (Τριάντης 2006). Συνεπώς, θα υπάρχουν λιγότεροι ανταγωνιστές, διευκολύνοντας την εύρεση τροφής, αλλά και θηρευτές, με αποτέλεσμα τα ποσά ενέργειας που θα δαπανώνται στην άμυνα ή αποφυγή της θήρευσης να είναι περιορισμένα. Βέβαια, η έλλειψη ανταγωνιστών και θηρευτών στα οικοσυστήματα των νησιών, έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της πληθυσμιακής πυκνότητας των νησιωτικών taxa (MacArthur & Wilson 1967, Rodda & Dean-Bradley 2002). Άμεση συνέπεια του τελευταίου, είναι η ανάπτυξη έντονου ανταγωνισμού ανάμεσα στα άτομα του ίδιου είδους (ενδοειδικός ανταγωνισμός), οι οποίες ωθούν τους μικρόσωμους οργανισμούς στην ανάπτυξη μεγαλύτερων σωματικών μεγεθών (γιγαντισμός) (Case 1978, Pafilis και συν. 2009b). Από την άλλη μεριά, τα νησιά χαρακτηρίζονται από μειωμένη ροή ενέργειας και θρεπτικών συστατικών, δηλαδή περιορισμένη τροφική διαθεσιμότητα, λόγω της απομόνωσης τους από τη χέρσο (Brown & Pérez-Mellado 1994, Raia και συν. 2003). Ως εκ τούτου και σε αντιδιαστολή με την προηγούμενη υπόθεση, μεγάλου μεγέθους οργανισμοί, εμφανίζουν τάσεις νανισμού (Boback 2003, Meiri και συν. 2011).

Τελικά, φαίνεται ότι η γεωγραφική απομόνωση των νησιών οδηγεί στη διαμόρφωση διακριτών χαρακτήρων και καταλήγει στην εμφάνιση μοναδικών πανίδων και χλωρίδων, που, συνήθως, απαντώνται αποκλειστικά στα νησιωτικά οικοσυστήματα (MacArthur & Wilson 1967, Whittaker & Fernández-Palacios 2007, Williamson 1981).

1.3. ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΚΑΙ ΕΞΕΛΙΚΤΙΚΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Η κατανόηση των προσαρμογών των οργανισμών στο περιβάλλον και των μηχανισμών που εμπλέκονται στην ανάπτυξη ακραίων φυσιολογικών επιδόσεων (ειδικότερα για οργανισμούς που ζουν σε περιβάλλοντα ακραίων συνθηκών - βιοτικών και αβιοτικών), έστρεψε από πολύ νωρίς πολλούς φυσιολόγους στο πεδίο της λεγόμενης συγκριτικής φυσιολογίας (Davenport 1897, Shelford 1911). Έτσι, σε σύντομο χρονικό διάστημα σωρεύτηκε ένας εντυπωσιακός όγκος πληροφοριών, που παρά την ώθηση που έδωσε στην βιολογική σκέψη, χαρακτηρίζονταν από το σοβαρό μειονέκτημα ότι η συντριπτική πλειοψηφία των πειραμάτων πραγματοποιούνταν σε ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες. Η πεποίθηση πως η φυσιολογία δεν μπορεί να διαχωριστεί από τις στρατηγικές της συμπεριφοράς, την οικολογία και τη φυσική ιστορία των ζώων είχε ως αποτέλεσμα η συγκριτική φυσιολογία να αντικατασταθεί από την επιστήμη της περιβαλλοντικής φυσιολογίας. Η τελευταία προσπαθεί να αποσαφηνίσει τις ζωικές αποκρίσεις, καθώς και τις πραγματικές απαιτήσεις των οργανισμών στο δικό τους φυσικό περιβάλλον (Willmer και συν. 2004). Ασχολείται με μια σειρά από θέματα σχετικά με την προσαρμοστική ικανότητα των ζώων (Feder 1987) όπως: τη μεταβολή της λειτουργίας και φυσιολογίας τους ανάλογα με τη διαθεσιμότητα των πόρων, τη χρήση ενέργειας, το κόστος και τις συνέπειες της θερμορρύθμισης, τον τρόπο που το μέγεθος του σώματος επηρεάζει κάθε βιολογική μεταβλητή, τη σημασία των οικολογικών σχέσεων που αναπτύσσουν στη διαμόρφωση διαφόρων πτυχών της βιολογίας τους, αλλά και την ξεχωριστή σημασία των μηχανισμών συμπεριφοράς στη λειτουργική ρύθμιση με το περιβάλλον.

Είναι προφανές ότι η έννοια του «περιβάλλοντος» αναφέρεται στον τύπο ενδιαιτήματος όπου ζει ένας οργανισμός. Ωστόσο, τα περιβάλλοντα είναι προφανώς περισσότερο πολύπλοκα, και κάθε είδος ζώου έχει ένα σαφώς πιο καθορισμένο περιβάλλον (μικρο- περιβάλλον, ενδιαίτημα, κλίμα), με δεδομένες όχι μόνο αβιοτικές αλλά και βιοτικές αλληλεπιδράσεις, οι οποίες πολλές φορές μπορεί να είναι πολύ πιο σημαντικές από τις πρώτες. Γνωρίζοντας το περιβάλλον του ζώου, αποκτούμε πολύ περισσότερες γνώσεις για τις ανάγκες αυτού, τα προβλήματα που θα αντιμετωπίσει και τελικά τη μορφή και τις στρατηγικές που εκείνο θα υιοθετήσει/ακολουθήσει (Willmer και συν. 2004). Στις μέρες μας είναι αποδεκτή η βαρύνουσα σημασία της οικολογικής θεώρησης των οργανισμών στις φυσιολογικές μελέτες (Huey 1991, Karasov & Martinez

Del Rio 2007, Schmidt-Nielsen 1997, Sears & Angilletta Jr 2003, Stevenson και συν. 2005).

Τα τελευταία χρόνια, καθώς κατανοούμε ολοένα και καλύτερα τους διάφορους μηχανισμούς με τους οποίους τα ζώα αντιμετωπίζουν τα προβλήματα του περιβάλλοντός τους, με τη βοήθεια της περιβαλλοντικής φυσιολογίας, προκύπτει αβίαστα το ερώτημα: Πώς αυτοί οι μηχανισμοί εξελίχθηκαν και γιατί τελικά έχουμε καταλήξει στην τόσο μεγάλη διαφοροποίηση των ζωικών ομάδων; Πρέπει λοιπόν να προχωρήσουμε πέρα από προσεγγίσεις που επιδιώκουν την κατανόηση των λειτουργιών μόνο μέσω της φαινομενικής συσχέτισης συγκεκριμένων χαρακτήρων με περιβαλλοντικά στοιχεία (Townsend & Calow 1981). Οι παραπάνω διαδικασίες αποτελούν αντικείμενο μιας επιστήμης που βρίσκεται στα πρώτα της βήματα και που ήδη έχει οριστεί ως εξελικτική φυσιολογία (Garland & Carter 1994). Η εξελικτική φυσιολογία προσπαθεί να ενοποιήσει την περιβαλλοντική φυσιολογία με γενετικές προοπτικές και να κατανοήσει τη γενετική βάση των φυσιολογικών γνωρισμάτων και των αιτιών της μεταβολής τους, υπό το πρίσμα των πιέσεων φυσικής επιλογής και ακολουθώντας ένα γενεαλογικό ή φυλογενετικό δέντρο (Garland & Carter 1994, Willmer και συν. 2004).

1.4. Η ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ

Από την αρχαιότητα ως σήμερα, η ανάγκη των φιλοσόφων και επιστημόνων να κατανοήσουν και να εξηγήσουν τη μεγάλη ποικιλομορφία που παρουσιάζουν οι έμβιοι οργανισμοί, οδήγησε στην παρατήρηση και τη σύγκρισή τους (Sanford και συν. 2002). Στην αρχή ήταν κάτι εντελώς εμπειρικό, αλλά μετά το 1859 - χρονολογία έκδοσης του βιβλίου του Δαρβίνου «On the Origin of Species by Means of Natural Selection» - και τη θεωρία του περί κοινής καταγωγής των ειδών, άρχισε να εξελίσσεται σιγά-σιγά σε επιστημονική μέθοδο. Έτσι, η «συγκριτική μέθοδος», η σύγκριση δηλαδή πληθυσμών, ειδών ή ανώτερων ταξινομικών μονάδων, έχει γίνει η πιο κοινή και παραγωγική μέθοδος για την αποκάλυψη και τη μελέτη εξελικτικών διαδικασιών που έλαβαν χώρα στο παρελθόν (Brooks & McLennan 2002, Harvey & Pagel 1991). Επιπλέον, παρέχει γνώσεις για τους μηχανισμούς που δρουν στη προσαρμογή των οργανισμών στο φυσικό τους περιβάλλον, συσχετίζοντας τις διαφορές μεταξύ πληθυσμών ή ειδών με οικολογικούς παράγοντες (Futuyma 2005).

Σήμερα, οι συγκριτικές μέθοδοι χρησιμοποιούνται εκτενώς από πλήθος ερευνητών, κυρίως προκειμένου να εξετασθούν οι προσαρμογές τις οποίες υιοθετούν τα ζώα προκειμένου να αντιμετωπίσουν τα προβλήματα του περιβάλλοντος τους, εκμεταλλευόμενα τις ευκαιρίες που τους προσφέρει, ως απάντηση στις πιέσεις φυσικής επιλογής (Bennett 1997, Garland & Kelly 2006). Ωστόσο, πέραν της διερεύνησης των πιέσεων φυσικής επιλογής, οι συγκριτικές μέθοδοι χρησιμοποιούνται και για πληθώρα άλλων μελετών, όπως για τη μελέτη της επίδρασης της φυλετικής πίεσης επιλογής (Aparicio και συν. 2003, Cox και συν. 2003, Siliceo & Díaz 2010, Smith & Cheverud 2002) - μπορεί να ευνοεί προσαρμογές που είναι σε έλλειψη συνάφειας από εκείνες που επάγονται από τη φυσική επιλογή -, για τη διερεύνηση της θεωρίας της ανταγωνιστικής δράσης των φυσιολογικών μηχανισμών (trades-off)¹ (Clobert και συν. 2000, Vanhooydonck και συν. 2011), αλλά ακόμη και όταν επιχειρείται έλεγχος των λειτουργικών σχέσεων μεταξύ διαφορετικών χαρακτήρων (είτε αυτοί είναι μορφολογικοί είτε φυσιολογικοί είτε λειτουργικοί) (Gibbs και συν. 2003, Herrel και συν. 2005, Kotsakiozi και συν. 2014).

Οι συγκριτικές μέθοδοι έχουν αλλάξει σημαντικά τις τελευταίες δύο δεκαετίες, καθώς άρχισε και σταδιακά επικράτησε σε κάθε τέτοια προσέγγιση, αφενός, να λαμβάνονται υπ' όψιν οι φυλογενετικές σχέσεις των ειδών που μελετώνται και, αφετέρου, να ενσωματώνονται εξελικτικά μοντέλα που ερμηνεύουν τη σχέση των χαρακτήρων που εξετάζονται. Μάλιστα, οι Sanford και συν. (2002) πρότειναν αυτή η νέα προσέγγιση να ονομάζεται «συγκριτική φυλογενετική μέθοδος».

1.4.1. Φυλογένεση και σύγχρονες συγκριτικές μέθοδοι

Η αρχή της μετάβασης στις σύγχρονες συγκριτικές φυλογενετικές μεθόδους σηματοδοτήθηκε από την έκδοση του βιβλίου του Ridley (1983) με τίτλο «The Explanation of Organic Diversity: The Comparative Method and Adaptations for Mating» και από το άρθρο του Felsenstein (1985) με τίτλο «Phylogenies and the Comparative Method». Οι εργασίες αυτές υποστηρίζουν την ανάγκη ενσωμάτωσης της φυλογενετικής πληροφορίας και των εξελικτικών μοντέλων σε αναλύσεις συγκριτικών δεδομένων. Μέχρι

¹ Θεωρία των trades-off: Το σύνολο των φυσιολογικών λειτουργιών ενός οργανισμού και οι χαρακτηριστικές ιστορίες ζωής του (π.χ. αναπαραγωγή, ανάπτυξη, ηλικία ωρίμανσης, κ.α.) είναι άρρηκτα συνδεδεμένα μεταξύ τους. Ως εκ τούτου, το κόστος λειτουργίας ενός συστήματος μπορεί να περιορίζει τη λειτουργία ενός άλλου, οδηγώντας σε μια αρνητική μεταξύ τους συσχέτιση (trade-off). Ένα απλουστευμένο μοντέλο εξήγησης βασίζεται στην αφθονία των εσωτερικών πόρων ενός οργανισμού. Έτσι, αν οι εσωτερικοί πόροι είναι περιορισμένοι και δεν επαρκούν για να υπερκαλυφθεί το κόστος δύο διακριτών φυσιολογικών λειτουργιών, οι οποίες μοιράζονται μια κοινή δεξαμενή πόρων, τότε προκύπτει ένα trade-off. Με άλλα λόγια, αύξηση της εκμετάλλευσης των πόρων από τη μια λειτουργία περιορίζει τους διαθέσιμους πόρους για την άλλη λειτουργία (van Noordwijk & de Jong 1986).

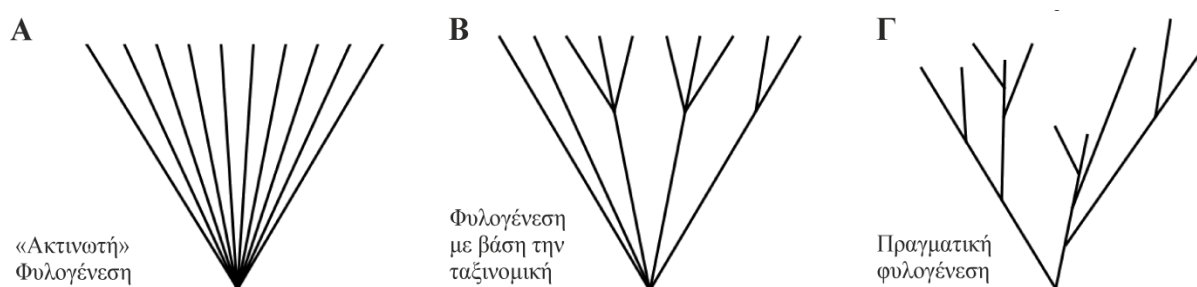
πρότινος, όταν επιχειρούνταν κάποια συγκριτική ανάλυση μεταξύ ειδών (ή πληθυσμών ή και ανώτερων του είδους ταξινομικών μονάδων), χρησιμοποιούνταν συμβατικές στατιστικές μέθοδοι. Βέβαια, μια τέτοια προσέγγιση, δημιουργεί την εκ των προτέρων παραδοχή πως όλοι οι χαρακτήρες, είτε αυτοί είναι φυσιολογικοί είτε οικολογικοί είτε λειτουργικοί είτε μορφολογικοί, είναι στατιστικά ανεξάρτητοι ο ένας από τον άλλο (Garland και συν. 1991). Στην πραγματικότητα όμως, όλοι οι οργανισμοί σχετίζονται μεταξύ τους, μέσω της φυλογενετικής τους ιστορίας. Συνέπεια του παραπάνω είναι ότι τα είδη που είναι πιο συγγενικά μεταξύ τους τείνουν να μοιάζουν, σε επίπεδο μορφολογίας, φυσιολογίας, κλπ., περισσότερο μεταξύ τους. Επομένως, οι χαρακτήρες μιας ταξινομικής μονάδας δεν είναι στατιστικά ανεξάρτητοι από εκείνους μιας άλλης (Garland και συν. 2005).

Αποτελεί πλέον κοινή παραδοχή, ότι οι μέθοδοι που δεν ενσωματώνουν τη φυλογενετική πληροφορία, ουσιαστικά «δέχονται» πως όλα τα υπό μελέτη taxa είναι μεταξύ τους το ίδιο σχετιζόμενα, ότι δηλαδή έχουν προέλθει από ακτινωτή φυλογένεση (εικόνα 1.3 Α) (βλ. Garland και συν. 2005). Η τελευταία υποδηλώνει ότι ένα σύνολο ειδών προήλθαν από έναν κοινό πρόγονο την ίδια χρονική στιγμή στο παρελθόν. Στην πραγματικότητα όμως δεν συμβαίνει κάτι τέτοιο, μια και οι εξελικτικές σχέσεις είναι ιεραρχημένες, δηλαδή ορισμένα είδη είναι πιο συγγενικά μεταξύ τους από ό,τι με κάποια άλλα (εικόνα 1.3 Γ). Άλλωστε, είναι καλά τεκμηριωμένο, από πρόσφατες εμπειρικές μελέτες (Ackerly 2004, Blomberg και συν. 2003, Freckleton και συν. 2002), πως τα περισσότερα γνωρίσματα των οργανισμών εμφανίζουν «φυλογενετικό σήμα»¹, υποδεικνύοντας πως η ακτινωτή φυλογένεση συνήθως δεν ταιριάζει με τα δεδομένα που εξετάζονται.

Δεδομένου ότι η εξέλιξη λαμβάνει χώρα, με βάση τα όσα αναφέρθηκαν μέχρι τώρα, είναι σαφές ότι σε οποιαδήποτε μελέτη που περιλαμβάνει πολλά είδη ή πληθυσμούς ή οποιαδήποτε ανώτερη ταξινομική μονάδα εξετάζεται κάθε φορά, πρέπει να ληφθούν υπ' όψιν οι φυλογενετικές σχέσεις αυτών. Σε αντίθετη περίπτωση, η φυλογένεση επηρεάζει την έκβαση των αναλύσεων ως μία παράμετρο μη ελεγχόμενη, οδηγώντας σε εσφαλμένα συμπεράσματα. Συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί ότι οι συμβατικές στατιστικές μέθοδοι που εφαρμόζονται στα συγκριτικά δεδομένα, υπερεκτιμούν τον αριθμό των ανεξάρτητων παρατηρήσεων. Ως εκ τούτου, συχνά, οδηγούν σε μεγεθυμένο σφάλμα τύπου I, δηλαδή

¹ Φυλογενετικό σήμα: Ο όρος φυλογενετικό σήμα χρησιμοποιήθηκε πρώτη φορά από τους Blomberg και συν. (2003), προκειμένου να περιγράψουν το γεγονός ότι οι οργανισμοί που σχετίζονται φυλογενετικά μεταξύ τους τείνουν να μοιάζουν και περισσότερο μεταξύ τους ως προς τα περισσότερα χαρακτηριστικά του φαινοτύπου τους.

απόρριψη της μηδενικής υπόθεσης ενώ εκείνη είναι αληθής (Díaz-Uriarte & Garland 1996, Grafen 1989, Purvis και συν. 1994). Η τελευταία υπόθεση ενισχύεται από πραγματικά παραδείγματα από τη σύγχρονη βιβλιογραφία, τα οποία αποδεικνύουν ότι η ενσωμάτωση ή μη ενσωμάτωση της φυλογενετικής πληροφορίας μπορεί να οδηγήσει σε διαφορετική ερμηνεία των αποτελεσμάτων μιας μελέτης (βλ. Foufopoulos & Ives 1999a, Garland και συν. 1991). Για το λόγο αυτό προέκυψε η ανάγκη για ενσωμάτωση της στις συγκριτικές μελέτες.



Εικόνα 1.3. Α). Απεικόνιση της παραδοχής που κάνουν οι συμβατικές στατιστικές αναλύσεις (ακτινωτή φυλογένεση με ίσους μήκους κλάδους). Αυτού του τύπου η προσέγγιση θεωρεί ότι οι τιμές (οι μέσοι όροι κάποιου γνωρίσματος για τα taxa που μελετώνται) στα άκρα των κλάδων, είναι στατιστικά ανεξάρτητες και ομοίως κατανομημένες. Β) Φυλογενετικό δέντρο που μπορεί να προκύψει από πληροφορίες συστηματικών/ταξινομικών δεδομένων. Για λόγους απλούστευσης, μπορούμε να υποθέσουμε ότι στην προκειμένη περίπτωση αντιπροσωπεύονται στο δέντρο 5 γένη μιας οικογένειας (οι 5 μεγάλοι κλάδοι του δέντρου). Στην περίπτωση αυτή, γίνεται η παραδοχή ότι τα γένη είναι μη σχετιζόμενες ομάδες, χωρίς ωστόσο κάποια ιεραρχική δομή μεταξύ τους. Επιπλέον, σε καθένα από αυτά περιέχονται ένα, δύο ή τρία σύνολα δεδομένων (μικροί κλάδοι στα άκρα). Γ). Απεικόνιση της πραγματικής φυλογένεσης. Στην περίπτωση αυτή μπορούμε να διακρίνουμε τα ασύγχρονα άκρα των κλάδων και τις ιεραρχικές σχέσεις των υπό μελέτη taxa. Τα ασύγχρονα άκρα μπορεί είτε να απεικονίζουν εξαφανισμένες ταξινομικές μονάδες, που μπορεί να συμπεριλαμβάνονται στο σύνολο των δεδομένων που εξετάζεται, είτε να οφείλονται στο διαφορετικό ρυθμό εξέλιξης μεταξύ των κλάδων. Η εικόνα αποτελεί ανακατασκευή από την εργασία των Garland και συν (2005).

Τα οφέλη από την ενσωμάτωση της φυλογενετικής πληροφορίας στη συγκριτική μέθοδο είναι πολλαπλά. Το βασικότερο όλων, είναι ότι αποτελεί τον καλύτερο τρόπο προκειμένου να αντιληφθούμε ότι όλοι οι χαρακτήρες είναι προϊόν της εξέλιξης. Αυτή είναι και η βάση της εξελικτικής φυσιολογίας, σύμφωνα με την οποία οι χαρακτήρες δεν είναι αμετάβλητοι στο χρόνο αλλά υπόκεινται σε αλλαγές, εξαιτίας της ανάγκης ενός οργανισμού να προσαρμοστεί στο συνεχώς μεταβαλλόμενο χωρικά και χρονικά περιβάλλον (Angilletta Jr 2009, Bennett 1997). Οι φυλογενετικές συγκριτικές μέθοδοι αποτελούν κυρίαρχο πλέον εργαλείο της εξελικτικής φυσιολογίας, για τη μελέτη του

προτύπου αλλαγής των χαρακτήρων. Επιπλέον, δίνουν τη δυνατότητα να υποθέσουμε την προγονική κατάσταση ενός χαρακτήρα και να εκτιμήσουμε τον ρυθμό της εξελικτικής του αλλαγής. Συνεπώς, η χρήση της φυλογένεσης στη συγκριτική μέθοδο, επέτρεψε στους ερευνητές να προσεγγίσουν θέματα που προηγουμένως αδυνατούσαν (Feder και συν. 1988).

Σήμερα, έχουν αναπτυχθεί πολλές μέθοδοι, οι οποίες χρησιμοποιούνται σε συγκριτικές μελέτες φυσιολογίας και ενσωματώνουν τη φυλογενετική πληροφορία των υπό μελέτη ομάδων (Butler & King 2004, Desdevises και συν. 2003, Diniz-Filho & Torres 2002, Housworth και συν. 2004, Paradis & Claude 2002, Rochet και συν. 2000, Thorpe και συν. 1996). Ωστόσο, οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες, που λαμβάνουν υπ' όψιν συνεχείς μεταβλητές, όπως είναι η πλειονότητα των μεγεθών που αναλύονται σε μελέτες φυσιολογίας, είναι: α) η φυλογενετική μέθοδος των ανεξάρτητων αντιθέσεων (Phylogenetically Independent Contrasts) (Felsenstein 1985), β) το γενικευμένο μοντέλο ελαχίστων τετραγώνων (Generalized Least Squares-GLS, XE "GLS") (Garland & Ives 2000, Grafen 1989) και γ) ο έλεγχος για την ύπαρξη φυλογενετικού σήματος μέσω δοκιμασίας τυχαιοποίησης (randomization test) (Blomberg και συν. 2003). Παρακάτω δίνονται επιγραμματικά οι βασικές αρχές των τριών τελευταίων μεθόδων (ωστόσο βλέπε και Κοτσακιάζη 2013).

Η φυλογενετική μέθοδος των ανεξάρτητων αντιθέσεων (Phylogenetically Independent Contrasts, PIC) (Felsenstein 1985), είναι μία συγκριτική μέθοδος η οποία επιτρέπει τον έλεγχο υποθέσεων για τον τρόπο με τον οποίον οι οργανισμοί προσαρμόζονται στο περιβάλλον τους. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί φυλογενετική πληροφορία για τη μετατροπή των αρχικών τιμών των χαρακτήρων που μελετώνται σε τιμές που είναι στατιστικά ανεξάρτητες μεταξύ τους και ταυτόσημα κατανομημένες, και, ως εκ τούτου, μπορούν να αναλυθούν με συμβατικές στατιστικές μεθόδους. Δηλαδή, υπολογίζει τις τιμές των χαρακτήρων που μελετώνται για τα προγονικά είδη, υπολογίζοντας ουσιαστικά τον μέσο όρο για κάθε ένα γνώρισμα από τα δύο αρτίγονα αδελφά taxa και εξισορροπεί με την εξελικτική απόκλιση των δύο αυτών taxa.

Η εναλλακτική μέθοδος, του γενικευμένου μοντέλου ελαχίστων τετραγώνων (Generalized Least Squares-GLS, XE "GLS"), όταν πρώτη φορά περιγράφηκε από τον Grafen (1989) χαρακτηρίστηκε ως μια γενίκευση της PIC (Felsenstein 1985). Η γενικότερη ιδέα των δύο αυτών μεθόδων είναι η ίδια, μια και αναγνωρίζουν το πρόβλημα της στατιστικής μη-ανεξαρτησίας των δεδομένων που προέρχονται από διακριτά taxa ως αποτέλεσμα της κοινής τους καταγωγής. Ωστόσο, ενώ η πρώτη (PIC) επιλύει το πρόβλημα

αυτό λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι οι διαφορές των χαρακτήρων που μελετώνται, μεταξύ στενά συγγενικών taxa, αποτελούν όντως ανεξάρτητες τιμές, επειδή είναι αποτέλεσμα ανεξάρτητων εξελικτικών μηχανισμών, η GLS αναγνωρίζει τον βαθμό της αναμενόμενης συσχέτισης των χαρακτήρων που μελετώνται μεταξύ δύο συγγενικών taxa, βάσει την κοινή εξελικτική ιστορία των taxa αυτών και το ανάγει σε πρόβλημα μεθόδου ελαχίστων τετραγώνων (Garland & Ives 2000, Grafen 1989).

Τέλος, ο έλεγχος για την ύπαρξη φυλογενετικού σήματος μέσω δοκιμασίας τυχαιοποίησης (randomization test) (Blomberg και συν. 2003) στηρίζεται στο σκεπτικό ότι: Εάν, για ένα σύνολο τιμών δεδομένου χαρακτήρα που μελετάται, τα πιο συγγενικά taxa μοιάζουν μεταξύ τους σε τέτοιο βαθμό ώστε, ύστερα από τυχαία αναδιάταξη των τιμών του χαρακτήρα αυτού, οι σχέσεις των αποκλίσεων του χαρακτήρα αυτού μεταξύ των taxa να συμφωνούν με τις φυλογενετικές σχέσεις αυτών, τότε ο χαρακτήρας εμφανίζει φυλογενετικό σήμα (Archie 1989).

1.5. ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

1.5.1. Οι σαύρες ως οργανισμοί-πρότυπα για μελέτες φυσιολογίας, οικολογίας και εξέλιξης

Οι ιδιαιτερότητες των ερπετών από πολύ νωρίς αποτέλεσαν αντικείμενο μελέτης των βιολογικών επιστημών (Cowles 1941, Martin 1903, Mosauer 1936, Sergeyev 1939). Ιδιαίτερα, από τα μέσα της δεκαετίας του 1960 και έπειτα οι εργασίες με αντικείμενο μελέτης τα ερπετά, και τις σαύρες ειδικότερα, έχουν αυξηθεί αισθητά. Ο τόμος που εκδόθηκε από τον Milstead (1967) υπήρξε ο ακρογωνιαίος λίθος μιας νέας, μακροπρόθεσμης προσέγγισης της βιολογίας της υπόταξης των σαυρών.

Οι σαύρες απαντώνται σχεδόν σε όλα τα οικοσυστήματα (εκτός από εκείνα των πλέον ψυχρών περιοχών) και σε πολλές περιπτώσεις βρίσκονται στην κορυφή της τροφικής αλυσίδας. Ο εξώθερμος χαρακτήρας τους επιτρέπει να χρησιμοποιούν εξωτερικές πηγές ενέργειας ώστε να ρυθμίζουν τη θερμοκρασία του σώματός τους με χαμηλό μεταβολικό κόστος (Bogert 1959). Χάρη σε αυτή την ικανότητα, οι σαύρες παρουσιάζουν χαμηλούς ρυθμούς κατανάλωσης ενέργειας (Cloudsley-Thompson 1999) και δύναται να διατηρούν σταθερούς πληθυσμούς σε περιοχές όπου αυτό θα ήταν αδύνατο για ένα πτηνό ή ένα θηλαστικό, που επιστρατεύουν τους πιο δαπανηρούς φυσιολογικούς

μηχανισμούς "θερμορρύθμισης" (ενδόθερμοι οργανισμοί) (Pianka 1986). Έτσι, οι χαμηλές ενεργειακές απαιτήσεις των σαυρών, σε συνδυασμό με τις μικρές τους απαιτήσεις για νερό, προσέλκυσαν το ενδιαφέρον των επιστημόνων και ανέδειξαν τον ξεχωριστό και σημαντικό ρόλο τους μέσα στα οικοσυστήματα (Nagy και συν. 1999, Pough 1973, Pough 1983).

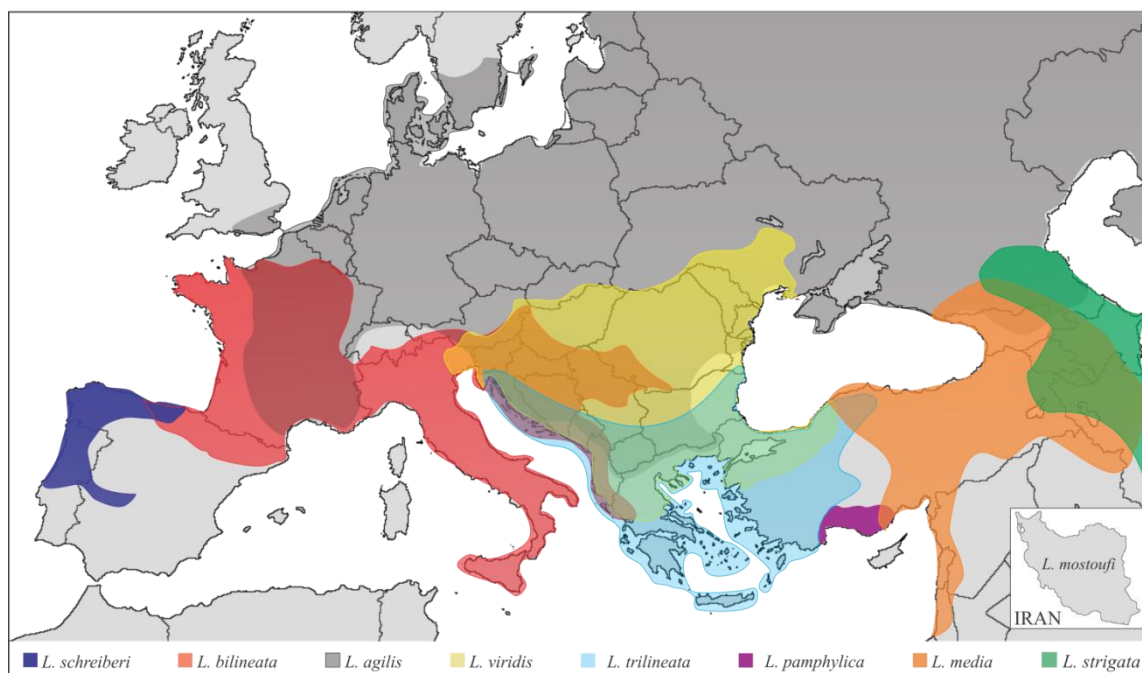
Το μικρό μέγεθος τους, ο πρακτικά εύκολος χειρισμός τους και η εντυπωσιακή ποικιλομορφία που χαρακτηρίζει αυτήν την ομάδα της ομοταξίας των ερπετών, τις κατατάσσουν ως ιδεώδη αντικείμενα ελέγχου για πληθώρα θεωριών και υποθέσεων, που διατυπώνονται σε διάφορους κλάδους των βιολογικών επιστημών, όπως της σεξουαλικής επιλογής (Andrews 1971, Runemark και συν. 2011), της οικολογίας της διατροφής (Schoener 1971, Van Damme 1999), της ανοσολογίας και ενδοκρινολογίας (Huyghe και συν. 2010, Monti και συν. 2013, Valakos και συν. 2007), αλλά και για στρατηγικές αναπαραγωγής (Castilla & Bauwens 2000, Pafilis και συν. 2011). Τέλος, ιδιαίτερη αναφορά θα πρέπει να γίνει στην περιορισμένη ικανότητα τους να διασχίζουν τα θαλάσσια φράγματα, ώστε να εποικίσουν νέες περιοχές, γεγονός που κάνει τις σαύρες ιδανικό οργανισμό για μελέτες νησιωτικής βιογεωγραφίας, φυλογεωγραφίας και ειδογένεσης (Camargo και συν. 2010, MacArthur & Wilson 1967), επιτρέποντας τη διερεύνηση σε βάθος θεωριών του νησιωτισμού (Case 1975, Meiri και συν. 2008, Schoener & Schoener 1980, Williams 1969).

Στην παρούσα διατριβή εξετάζεται αναλυτικά και κατά συγκριτικό τρόπο η οικολογία, φυσιολογία, ανοσολογία και γενετική του είδους *Lacerta trilineata* στον ελλαδικό χώρο.

1.5.2. Το Γένος *Lacerta* (Linnaeus 1758)

Το γένος *Lacerta* (Arnold και συν. 2007) ανήκει στην οικογένεια Lacertidae (Κλάση: Reptilia, Υποκλάση: Lepidosauria, Τάξη: Squamata, Υποτάξη: Sauria). Στο taxon αυτό ανήκουν μεγαλόσωμα ζώα, οι λεγόμενες πράσινες σαύρες (green lizards). Το μήκος σώματος στα ενήλικα άτομα των ειδών *Lacerta* κυμαίνεται από 80 μέχρι 175 mm (snout-vent length, SVL) (Arnold 1987, Arnold και συν. 2007), γεγονός που τις κατατάσσει δεύτερες σε μέγεθος σαύρες στην Ευρώπη, μετά από εκείνες του γένους *Timon* - αδελφό taxon του πρώτου (Arnold και συν. 2007, Fu 2000). Τα ενήλικα άτομα του γένους *Lacerta* παρουσιάζουν έντονο φυλετικό διμορφισμό, με τις αρσενικές σαύρες να είναι, συνήθως,

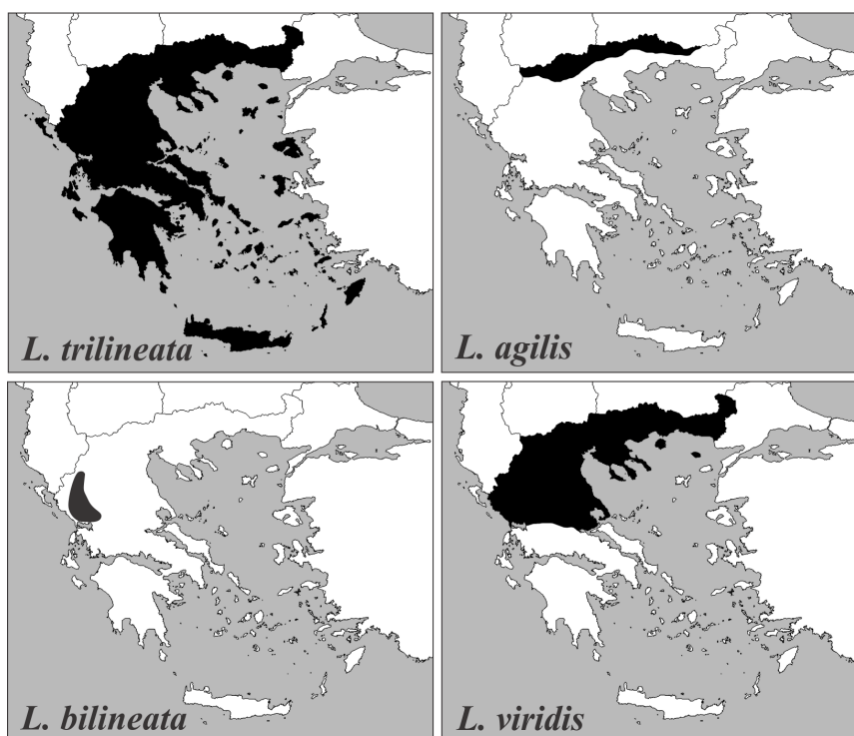
σημαντικά μεγαλύτερες και πιο εύρωστες από ό,τι οι θηλυκές. Οι σαύρες του taxon αυτού συναντώνται σε όλους τους τύπους βιοτόπων και σε περιοχές ποικίλου υψομέτρου, από σχεδόν στο επίπεδο της θάλασσας έως και υψόμετρο πάνω από 2000 m, η διαίτά τους αποτελείται κυρίως από μεγάλου μεγέθους αρθρόποδα και δραστηριοποιούνται αποκλειστικά στη διάρκεια της ημέρας (Arnold 1987, Arnold και συν. 2007, Valakos και συν. 2008).



Χάρτης 1.1. Χάρτης της γεωγραφικής κατανομής όλων των ειδών *Lacerta*, βάσει των Ahmadzadeh και συν. (2013a, 2013b), Godinho και συν. (2005) και Bohme και συν. (2007).

Το γένος *Lacerta* παρουσιάζει Ευρω-ασιατική κατανομή και περιλαμβάνει εννέα αλλοπάτρια είδη με μερικώς επικαλυπτόμενες κατανομές : τη *L. agilis*, τη *L. bilineata*, τη *L. media*, τη *L. mostoufi*, τη *L. pamphylica*, τη *L. schreiberi*, τη *L. strigata*, τη *L. trilineata* και τη *L. viridis*. Οι περιοχές εξάπλωσης των ειδών απεικονίζονται στο **χάρτη 1.1**. Από αυτά, μόνο τέσσερα είδη εξαπλώνονται στον ελλαδικό χώρο (Bohme και συν. 2007, Valakos και συν. 2008), ενώ για ένα από αυτά, τη *L. agilis*, η Ελλάδα αποτελεί το νοτιότερο άκρο εξάπλωσής της (**εικόνα 1.4**) (Kalyabina και συν. 2001, Rykena 1987). Τα είδη του γένους παρουσιάζουν εξαιρετικά μεγάλη ποικιλομορφία, τόσο ενδοειδική όσο και διαειδική, δημιουργώντας σημαντικά προβλήματα στη συστηματική τους κατάταξη με τη χρήση μορφολογικών χαρακτήρων (Arnold 2004, Peters 1962, Rykena 1991b). Η δυσκολία αυτή αντανακλάται ακόμη και σε γενετικό επίπεδο, με τις μέχρι τώρα

φυλογενετικές μελέτες (π.χ. Ahmadzadeh και συν. 2013b, Böhme και συν. 2007, Godinho και συν. 2005, Mayer & Beyerlein 2002) να αδυνατούν να καταλήξουν σε συμφωνία ως προς τις φυλογενετικές σχέσεις των ειδών του γένους, πιθανά λόγω της ικανότητας ορισμένων ειδών να υβριδίζουν (π.χ. *L. viridis* και *L. bilineata*, Rykena 1991b, Rykena και συν. 2002).

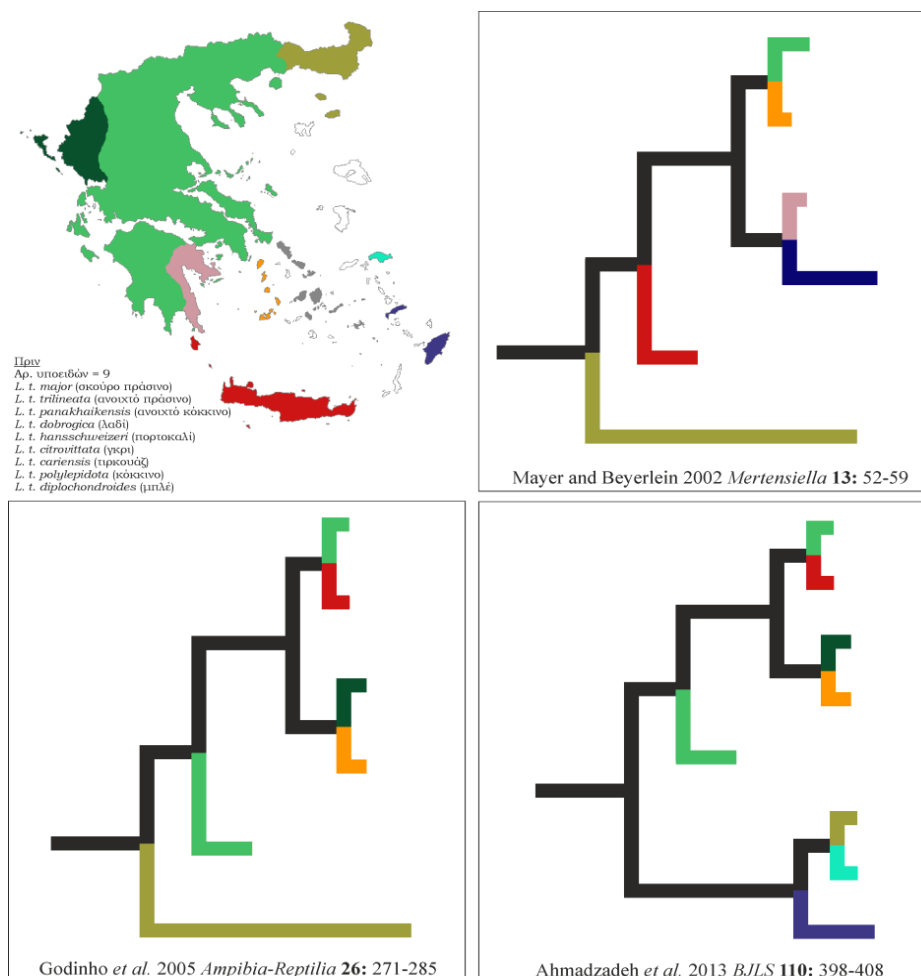


Εικόνα 1.4. Περιοχές εξάπλωσης των τεσσάρων ειδών *Lacerta* που εντοπίζονται στον ελληνικό χώρο, με βάσει την εργασία Sagonas και συν. (2014). Για το είδος *L. agilis* η Ελλάδα αποτελεί το νοτιότερο άκρο εξάπλωσής.

1.5.2.1. Το είδος *Lacerta trilineata* (Bedriaga, 1886)

Η *Lacerta trilineata* (Bedriaga, 1886) ή "τρανόσαυρα", με μήκος σώματος στα ενήλικα άτομα (SVL) που κυμαίνεται από 80 μέχρι 170 mm, βάρος μέχρι 145 gr και ουρά συνήθως με διπλάσιο μήκος από το μήκος σώματος (Arnold 1987, Valakos και συν. 2008), είναι η μεγαλύτερη σε μήκος σαύρα του ελληνικού χώρου και δεύτερη κατά σειρά στην Ευρώπη μετά από την *T. lepida*. Το είδος αυτό, εξαπλώνεται τόσο στην ηπειρωτική, όσο και στη νησιωτική Βαλκανική, ενώ απαντάται σε πληθώρα ενδιαιτημάτων, ανεξαρτήτως υψόμετρου, αν και παρουσιάζει μια προτίμηση σε παρυδάτια οικοσυστήματα και ανοικτές καλλιεργήσιμες εκτάσεις. Όπως και σε άλλα είδη *Lacerta*, τα ανήλικα άτομα καταλαμβάνουν διαφορετικού τύπου μικροενδιαιτήματα, σε σύγκριση με τα ενήλικα, με πιο αραιή και ποώδη βλάστηση (Angelici και συν. 1997, Arnold 1987). Ζει και κυνηγά στο

έδαφος, αλλά σπάνια μπορεί να παρατηρηθεί να σκαρφαλώνει σε δένδρα ή ακόμα και να διασχίζει κολυμπώντας μικρές υδατοσυλλογές (Arnold 1987). Είναι αποκλειστικά ημερόβια, ενώ κατά τη διάρκεια του χειμώνα πέφτει σε χειμέρια νάρκη (Nettmann & Rykena 1984).



Εικόνα 1.5. Εικόνα πάνω αριστερά: Γεωγραφική κατανομή των εννέα υποειδών της *L. trilineata* στον ελλαδικό χώρο (Valakos και συν. 2008). *L. t. major* (σκούρο πράσινο), *L. t. trilineata* (ανοικτό πράσινο), *L. t. panakhaikensis* (ανοικτό κόκκινο), *L. t. dobrogica* (λαδί), *L. t. hansschweizeri* (πορτοκαλί), *L. t. citrovittata* (γκρι), *L. t. cariensis* (τιρκουάζ), *L. t. polylepidota* (κόκκινο), *L. t. diplochondroides* (μπλε). Τα χρώματα στους κλάδους των τριών φυλογενετικών δέντρων (ανακατασκευή των δέντρων από τις εργασίες των: Ahmadzadeh και συν. 2013b, Godinho και συν. 2005, Mayer & Beyerlein 2002) αναφέρονται στα διαφορετικά υποείδη που απεικονίζονται στον χάρτη.

Σήμερα αναγνωρίζονται 10 μορφολογικά υποείδη (*L. t. trilineata*, *L. t. panakhaikensis*, *L. t. major*, *L. t. hansschweizeri*, *L. t. polylepidota*, *L. t. citrovittata*, *L. t. cariensis*, *L. t. dobrogica*, *L. t. diplochondroides* και *L. t. galatiensis*), από τα οποία οι πληθυσμοί των εννέα εξαπλώνονται ή είναι ενδημικοί του ελλαδικού χώρου (Mayer &

Beyerlein 2002, Valakos και συν. 2008) (εικόνα 1.5). Πέραν από ελάχιστες μελέτες οικολογίας (Angelon και συν. 1966, Arnold 1991, οικολογία της διατροφής: Molloy & Petrova 2013, οικολογία: Nettmann & Rykena 1984, αυτοτομία της ουράς: Pafilis & Valakos 2008) που έχουν πραγματοποιηθεί σε αυτό το είδος πράσινων σαυρών, δεν γνωρίζουμε τίποτε παραπάνω. Επιπλέον, οι φυλογενετικές σχέσεις των πληθυσμών/υποειδών του είναι ασαφείς. Το τελευταίο γεγονός μάλιστα αποτυπώνεται στην έλλειψη συνάφειας της τοπολογίας των φυλογενετικών δέντρων τριών προηγούμενων φυλογενετικών μελετών, βασιζόμενες σε μιτοχονδριακά γονίδια (για λεπτομέρειες βλ. **εικόνα 1.5**).

1.5.3. Συνθήκες διατήρησης των ζώων στο εργαστήριο

Όλα τα ζώα που συλλέχθηκαν από το πεδίο, καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής - η συλλογή έγινε σύμφωνα με την Ελληνική Εθνική Νομοθεσία (Προεδρικό Διάταγμα 67/1981) -, μεταφέρθηκαν στις εργαστηριακές εγκαταστάσεις του τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών. Για όσο καιρό οι σαύρες παρέμεναν στο θάλαμο εκτροφών, εκτρέφονταν σε ειδικά διαμορφωμένο χώρο, με σταθερή θερμοκρασία (28°C), υγρασία (80%) καθώς και προρρυθμισμένη φωτοπερίοδο (12 ώρες φωτός - 12 ώρες σκότους, από λάμπα ψυχρού φωτισμού). Επιπλέον, για 8 ώρες κάθε ημέρα ήταν αναμμένες λάμπες θέρμανσης (60W), ώστε να διευκολύνεται η θερμορρύθμιση των σαυρών.

Οι σαύρες στεγάστηκαν σε μεγάλα πλαστικά terraria διαστάσεων 80 cm × 30 cm × 40 cm με αμμόδες υπόστρωμα, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η όσο το δυνατό καλύτερη θερμομόνωση (η άμμος διατηρεί τη θερμοκρασία). Σε κάθε terrarium υπήρχαν σπασμένα τούβλα και πέτρες, που χρησίμευσαν σαν καταφύγια για τα ζώα. Επιπλέον, οι σαύρες είχαν πρόσβαση *ad libitum* σε νερό, ταΐζονταν κάθε δεύτερη μέρα με προνύμφες κολεοπτέρων της οικογένειας Tenebrionidae (*Tenebrio molitor*) και τριζόνια (*Acheta domestica*), ενώ συχνά η δίαιτά τους εμπλουτίζονταν με ειδικά για ερπετά πολυβιταμινούχα συμπληρώματα (TerraVit Powder, JBL GmbH & Co. KG).

1.6. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΚΑΙ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΤΩΝ ΕΡΩΤΗΜΑΤΩΝ

Η παρούσα διατριβή αποσκοπεί σε μία συγκριτική μελέτη της διερεύνησης της επίδρασης των πιέσεων φυσικής επιλογής σε διαφορετικά βιολογικά επίπεδα οργάνωσης

(μοριακό, συστημικό, οργανισμικό και συμπεριφορικό, **εικόνα 1.6**) σε εξώθερμα ζώα, όπως είναι οι σαύρες και συγκεκριμένα μεταξύ διακριτών πληθυσμών (νησιωτικών και ηπειρωτικών) του είδους *L. trilineata*. Η τελευταία, όπως ήδη αναφέρθηκε, σε αντίθεση με τα υπόλοιπα τρία είδη του γένους που εξαπλώνονται αποκλειστικά στον ηπειρωτικό ελλαδικό χώρο (εξαίρεση αποτελεί η *L. viridis* της οποίας ένας μικρός πληθυσμός έχει καταγραφεί στο νησί της Σαμοθράκης, **εικόνα 1.4**) (Valakos και συν. 2008), κατανέμεται τόσο στην ηπειρωτική όσο και νησιωτική Ελλάδα. Επιπλέον, το είδος αυτό, παρά τη μικρή χωρική κλίμακα κατανομής του, μια και κατανέμεται αποκλειστικά στα νότια Βαλκάνια (**χάρτης 1.1**), έχει διαφοροποιηθεί έντονα και σήμερα αναγνωρίζονται 10 διακριτά υποείδη. Συνεπώς, αποτελεί έναν ιδανικό οργανισμό για μια τέτοια συγκριτική μελέτη.

Στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής προσεγγίζονται ερωτήματα όπως: (α) Με ποιον τρόπο και με ποιες προσαρμογές το είδος αυτό διαμόρφωσε το σημερινό του πρότυπο κατανομής; και (β) πώς αποκρίνονται οι νησιωτικοί και ηπειρωτικοί πληθυσμοί σε επίπεδο μορφολογίας, φυσιολογίας, κλπ. στις διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες; Για την προσέγγιση των ερωτημάτων αυτών εξετάστηκαν διάφορες πτυχές της οικολογίας, φυσιολογίας, ανοσολογίας, γενετικής και γενικότερης βιολογίας της *L. trilineata*, αφού, πρωτίστως, ελήφθησαν υπ' όψιν τα προβλήματα και οι περιορισμοί που μπορούν να προκύψουν από τη σύγκριση δύο πληθυσμών (Garland & Adolph 1994a).



Εικόνα 1.6. Σχηματική απεικόνιση των χαρακτήρων, από τα διάφορα επίπεδα βιολογικής οργάνωσης, που μελετήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας διατριβής για τη διερεύνηση της μελέτης των προσαρμογών.

Η διατριβή χωρίζεται σε τρεις κύριες ενότητες, καθεμία από τις οποίες εξετάζει διαφορετικές πτυχές της βιολογίας (στοιχεία γενετικής, φυσιολογίας/οικολογίας, ανοσολογίας) της *L. trilineata*, που θεωρούνται σημαντικές για την επιτυχή εποίκιση νέων

οικοσυστημάτων και την εγκαθίδρυση νέων πληθυσμών. Στο πεδίο της φυσιολογίας/οικολογίας μελετήθηκαν η θερμική βιολογία και η οικολογία της διατροφής, ενώ έγινε επιπλέον προσπάθεια σύνδεσης της τελευταίας με τη μορφολογική και λειτουργική διαφοροποίηση των κεφαλικών χαρακτήρων και των εξαρτημάτων σύλληψης τροφής, καθώς και με τη φυσιολογική διεργασία της πέψης. Επιπλέον, μελετήθηκε το ανοσοποιητικό σύστημα, εξετάζοντας, τόσο το γενετικό όσο και κυτταρικό/συστημικό επίπεδο οργάνωσης της κυτταρικής ανοσίας.

Όπως ήδη έγινε σαφές, δεν μπορούμε να ξεκινήσουμε τη μελέτη των φυσιολογικών προσαρμογών της *L. trilineata* αν δεν διερευνήσουμε πρώτα την εγκυρότητα της ισχύουσας ταξινομικής κατάστασης του γένους *Lacerta* και των ειδών που το συγκροτούν και αν δεν διαλευκάνουμε τις φυλογενετικές τους σχέσεις (Bennett 1997, Garland & Kelly 2006). Αυτές οι σκέψεις, σε συνδυασμό με την ελλιπή γνώση της εξελικτικής ιστορίας των ελληνικών πράσινων σαυρών, διαμορφώνουν το αντικείμενο μελέτης του πρώτου κεφαλαίου (αλλά δεύτερου κατά σειρά στην παρούσα διατριβή) «Φυλογεωγραφία του γένους *Lacerta sensu lato* στην Ελλάδα» που στόχο έχει τη διερεύνηση των φυλογενετικών σχέσεων των ειδών του γένους *Lacerta* στην Ελλάδα, και ειδικότερα των πληθυσμών της *L. trilineata*. Τα ευρήματα του κεφαλαίου αυτού θα χρησιμοποιηθούν προκειμένου να ερμηνεύσουμε επαρκώς - στηριζόμενοι σε ένα φυλογενετικό πλαίσιο - τα αποτελέσματα φυσιολογίας, οικολογίας και ανοσολογίας που θα προκύψουν από τις μελέτες των επομένων κεφαλαίων.

1.6.1. Στο πεδίο της φυσιολογίας και της οικολογίας

Η καταλυτική δράση της θερμοκρασίας στην πραγματοποίηση των διαφόρων κυτταρικών αντιδράσεων είναι αδιαμφισβήτητη, με αποτέλεσμα να μη νοείται ολοκληρωμένη προσέγγιση της φυσιολογίας χωρίς την εξέταση της επίδρασης της θερμοκρασίας στον τρόπο λειτουργίας των οργανισμών (Angilletta Jr 2009, Cowles & Bogert 1944, Hofer και συν. 1975, Schmidt-Nielsen 1997). Ειδικότερα όσον αφορά τα ερπετά, όπως είναι η ομάδα των σαυρών που εξετάζεται στην παρούσα διατριβή, όλες οι φυσιολογικές λειτουργίες, αλλά και η συμπεριφορά τους, επηρεάζονται σε μικρότερο ή σε μεγαλύτερο βαθμό από τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος (Bartholomew 1982, Bennett 1980, Dawson 1975, Huey & Slatkin 1976). Αυτό οφείλεται στο γεγονός, ότι οι σαύρες δεν διαθέτουν την φυσιολογική ικανότητα ανύψωσης της θερμοκρασίας του σώματός τους

πάνω από εκείνη του περιβάλλοντος, εξαιτίας των πολύ χαμηλών μεταβολικών τους ρυθμών (Stevenson 1985). Για τον λόγο αυτό, ο πρώτος στόχος του τρίτου κεφαλαίου («Φυσιολογία και Οικολογία») είναι η αποσαφήνιση και περιγραφή των θερμορρυθμιστικών προτύπων, που έχουν υιοθετήσει τα άτομα των νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών της *L. trilineata*. Πιο συγκεκριμένα, προτού προχωρήσουμε σε οποιαδήποτε μελέτη συγκριτικής φυσιολογίας για το είδος αυτό, επιχειρήθηκε: (α) να εξετασθεί αν οι σαύρες, από τα διαφορετικά οικοσυστήματα, συμπεριφέρονται διαφορετικά, ανάλογα με το θερμικό τους περιβάλλον, αποκρινόμενες στις διαφορετικές πιέσεις επιλογής, (β) να ελεγχθεί εάν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της θερμορρυθμιστικής στρατηγικής και της φυλογενετικής ιστορίας των πληθυσμών και τέλος, (γ) να δοθούν στοιχεία για το θερμικό ανάγλυφο των οικοσυστημάτων όπου διαβιούν οι πληθυσμοί που μας απασχόλησαν και να σκιαγραφηθεί η εικόνα της θερμοχωρητικότητας των μικροενδιαιτημάτων. Τελικά, γνωρίζοντας τα θερμικά μεγέθη των εξεταζόμενων ζώων από τα διαφορετικά περιβάλλοντα, όπως τις επιλεγόμενες θερμοκρασίες σώματος, τις θερμοκρασίες σώματος πεδίου και τις λειτουργικές θερμοκρασίες (οι ορισμοί των μεγεθών αυτών δίνονται αναλυτικά στις παραγράφους 3.2.2 έως 3.2.4), θα γίνει προσπάθεια να ερμηνευθούν τα αποτελέσματα των επόμενων μελετών, ενώ παράλληλα θα αποτελέσουν υπόβαθρο για το σχεδιασμό των μετέπειτα πειραμάτων.

Για την περαιτέρω διερεύνηση φυσιολογικών και οικολογικών προσαρμογών της *L. trilineata*, σε οργανικό, συστημικό και συμπεριφορικό επίπεδο, επιχειρήθηκε η μελέτη της οικολογίας της διατροφής, μια και η ίδια παρέχει πολύτιμες πληροφορίες για τον τρόπο με τον οποίο τα ερπετά εκμεταλλεύονται το φυσικό τους περιβάλλον και αλληλεπιδρούν μέσα σε αυτό (Pincheira-Donoso 2008). Στην έρευνα αυτή αναζητήθηκε: (α) εάν υπάρχουν διαφορές στο εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου μεταξύ των διαφορετικών (νησιωτικών και ηπειρωτικών) πληθυσμών που εξετάστηκαν, καθώς και (β) αν εντοπίζονται διαφορές στη δίαιτα μεταξύ ηλικιακών κλάσεων και φύλων. Επιπλέον εξετάστηκε (γ) αν η θηρευτική συμπεριφορά μεταβάλλεται ανάλογα με το περιβάλλον διαβίωσης και αν ναι (δ) αναζητήθηκαν οι προσαρμογές που έχουν υιοθετήσει οι σαύρες της *L. trilineata* στα διαφορετικά περιβάλλοντα προκειμένου να εκμεταλλεύονται διαφορετικούς θρεπτικούς πόρους.

Όσον αφορά τη μελέτη των προσαρμογών στη διατροφή, είναι καλά τεκμηριωμένο ότι οι εξελικτικές πιέσεις που ενυπάρχουν στο περιβάλλον όπου ο πληθυσμός διαφοροποιήθηκε, όπως η διαθεσιμότητα τροφής, αντικατοπτρίζονται συνήθως στις μορφολογικές διαφοροποιήσεις των πληθυσμών (Lamb & Bauer 2006, Losos και συν.

1997), ενώ αποτελεί επίσης κοινή παραδοχή πως ο παράγοντας εκείνος που τελικά καθορίζει την επιλογή μιας λείας, είναι η εξασφάλιση ότι το ζώο αποσπά τη μέγιστη ενέργεια από αυτή (Hailey 1998, Schmidt-Nielsen 1997, Starck & Wang 2004). Για τους παραπάνω δύο λόγους, στη συνέχεια του κεφαλαίου αυτού εξετάστηκαν η μορφολογία της κεφαλής, η λειτουργία των εξαρτημάτων σύλληψης τροφής και η πεπτική αποδοτικότητα, ενώ επιχειρήθηκε η συσχέτιση αυτών με τη δίαιτα των πληθυσμών που μας απασχόλησαν. Αναφορικά με τη μελέτη της μορφολογίας της κεφαλής έγινε προσπάθεια: (α) να συγκριθεί εκείνη ανάμεσα σε σαύρες από τα νησιά και τη χέρσο, καθώς και μεταξύ των φύλων, (β) να διευκρινισθεί ο ρόλος του σχήματος της κεφαλής και, συνεπακόλουθα, της δύναμης δήγματος στον καθορισμό του εύρους της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου και (γ) να ελεγχθεί εάν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της μορφολογίας της κεφαλής και της φυλογένεσης. Ανάλογα, στη διερεύνηση της φυσιολογικής λειτουργίας της πέψης - αποκτά ιδιαίτερη σημασία, εάν μια νέα εγκαθίδρυση συνεπάγεται και την ταυτόχρονη αλλαγή του διατροφικού του προτύπου ενός ζώου (Andrews 1982, Karasov & Martinez Del Rio 2007). -, επιδιώχθηκε: (α) να συγκριθεί η απόδοση της πέψης για τα τρία οργανικά συστατικά της τροφής (λιπίδια, πρωτεΐνες και σάκχαρα), ο χρόνος διέλευσης της τροφής από τον γαστρεντερικό σωλήνα, η μορφολογία του πεπτικού σωλήνα και η δραστηριότητα των πεπτικών ενζύμων ανάμεσα σε διαφορετικούς πληθυσμούς της *L. trilineata*, (β) να αποσαφηνισθεί εάν οι διατροφικές συνήθειες και το θερμορρυθμιστικό πρότυπο των σαυρών από τα νησιά και τη χέρσο επηρεάζουν την πεπτική αποδοτικότητα και (γ) να εξετασθεί εάν οι φυλογενετικές σχέσεις των πληθυσμών που μελετώνται αντικατοπτρίζονται στην πεπτική συμπεριφορά τους.

1.6.2. Στο πεδίο της ανοσολογίας

Η ικανότητα ενός ζώου να εποικίσει με επιτυχία ένα νέο περιβάλλον, καθορίζεται, σε μεγάλο βαθμό, από τη δυνατότητά του να αντιμετωπίσει τους παθογόνους μικροοργανισμούς που ενυπάρχουν σε εκείνο (Amo και συν. 2007, Møller και συν. 2004). Αδυναμία του τελευταίου επιφέρει σημαντικές διαταραχές στην εύρυθμη λειτουργία και αρμοστικότητα του ζώου. Για το λόγο αυτό ο βασικός στόχος του τέταρτου κεφαλαίου («Ανοσολογία και Ανοσογενετική») είναι η περιγραφή του αμυντικού μηχανισμού που έχουν υιοθετήσει τα άτομα των νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών της *L. trilineata*. Για την προσέγγιση του στόχου της μελέτης αυτής εξετάστηκε, τόσο το γενετικό όσο και

κυτταρικό/συστημικό επίπεδο οργάνωσης της κυτταρικής ανοσίας, μια και κάθε μεταβολή της λειτουργίας ή του φαινοτύπου ενός βιολογικού γνωρίσματος ενός ζώου, όπως είναι ο μηχανισμός άμυνας, αντικατοπτρίζεται και σε αλλαγές στο μοριακό επίπεδο (αμινοξικό, νουκλεοτιδικό) (Angilletta Jr 2009, Runemark και συν. 2013, Wright 1931). Πιο συγκεκριμένα, στην έρευνα αυτή αναζητήθηκε: (α) αν υπάρχουν γεωγραφικές διαφορές (δηλαδή διαφορές μεταξύ πληθυσμών της *L. trilineata*) στο βαθμό πολυμορφισμού και στη γενετική ποικιλότητα του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας τάξης I (major histocompatibility complex, MHC), το οποίο συμμετέχει στην ενεργοποίηση της επίκτητης κυτταρικής ανοσίας (Roitt 1997), (β) εάν οι φυλογενετικές σχέσεις των πληθυσμών αντικατοπτρίζονται στον πολυμορφισμό του MHC τάξης I, (γ) αν εντοπίζονται διαφορές στην απόδοση του ανοσοποιητικού συστήματος και στην ικανότητα των σαυρών από τα διαφορετικά οικοσυστήματα να αντιμετωπίζουν τους παθογόνους μικροοργανισμούς και τέλος, (δ) εάν οι διαφορές αυτές μπορούν να αποδοθούν στο γονότυπο του MHC τάξης I και/ή στις φυλογενετικές σχέσεις των πληθυσμών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΦΥΛΟΓΕΝΕΣΗ ΚΑΙ ΦΥΛΟΓΕΩΓΡΑΦΙΑ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ

LACERTA SENSU LATO ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

2.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η επιστήμη της φυλογεωγραφίας ασχολείται με τις αρχές και τις διαδικασίες που καθορίζουν τα γεωγραφικά πρότυπα των γενεαλογικών γραμμών σε ενδο- και δια-ειδικό επίπεδο. Με άλλα λόγια, στη φυλογεωγραφία ο χώρος και ο χρόνος είναι οι δύο συνδεδεμένοι άξονες πάνω στους οποίους, υπό ιδεατές συνθήκες, αποτυπώνονται οι ιδιαίτερες γενεαλογίες των γονιδίων (ή ειδών) που μας ενδιαφέρουν (Avice 2000). Η ερμηνεία της κατανομής των γενεαλογιών απαιτεί, συνήθως, εκτενή δεδομένα από τη μοριακή και την πληθυσμιακή γενετική, την ηθολογία, τη φυλογένεση, τη δημογραφία, την παλαιοντολογία και την ιστορική γεωγραφία. Συνεπώς, η φυλογεωγραφία βρίσκεται στο σταυροδρόμι ποικίλων μικρο- (ηθολογία, δημογραφία, πληθυσμιακή γενετική) και μακρο- (ιστορική γεωγραφία, παλαιοντολογία, φυλογένεση) εξελικτικών συνιστωσών. Ως παρακλάδι της βιογεωγραφίας¹, η φυλογεωγραφία προσπαθεί να τοποθετήσει σε ένα ευρύτερο χρονικό πλαίσιο τις παραδοσιακές οικογεωγραφικές απόψεις και αντιλήψεις, οι οποίες έδιναν έμφαση στο ρόλο των σύγχρονων οικολογικών πιέσεων στο σχηματισμό των χωρικών κατανομών των οργανισμών (Avice και συν. 1987).

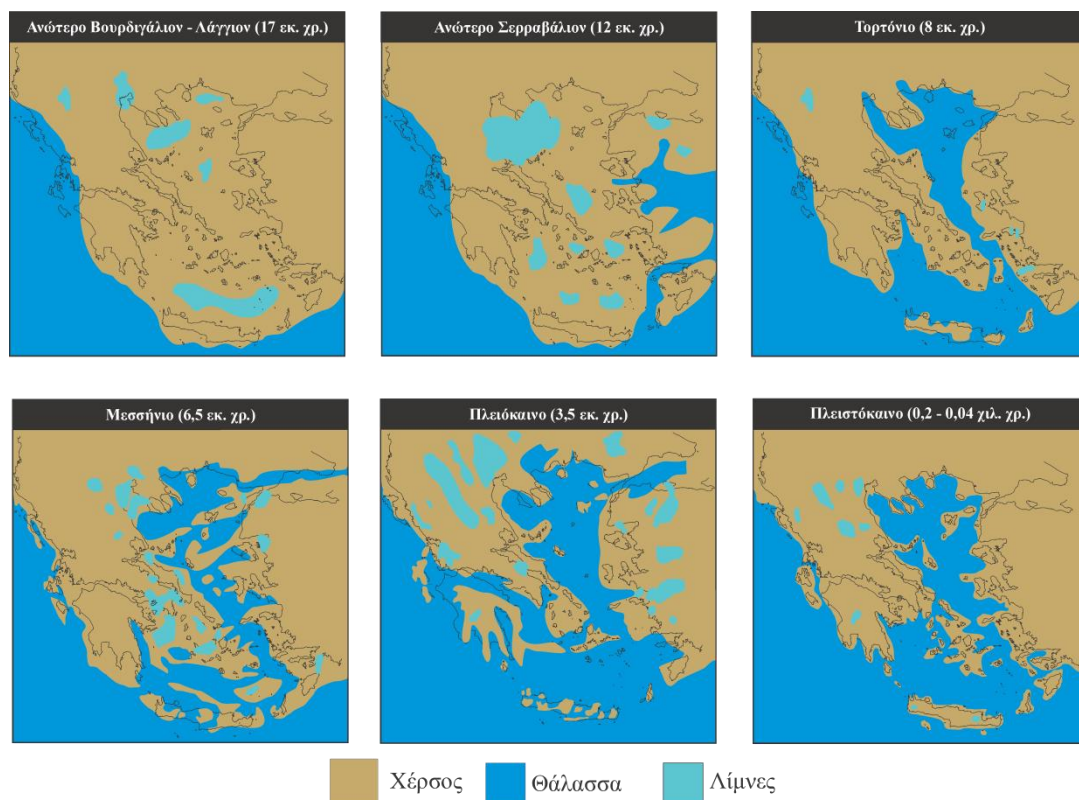
Η λεκάνη της Μεσογείου, χάρις σε μια σειρά από παλαιογεωγραφικούς, ιστορικούς, βιογεωγραφικούς και κλιματικούς λόγους, αποτελεί αντικείμενο έντονης φυλογεωγραφικής και παλαιογεωγραφικής έρευνας (Blondel & Aronson 1999, Blondel και συν. 2010). Μελέτες έχουν αποδείξει ότι η πολύπλοκη γεωλογική και φυσική ιστορία της περιοχής, αλλά και τα ιδιαίτερα γεωμορφολογικά της στοιχεία (Hewitt 2004, Hewitt 2011, Nieto 2011, Vitt & Caldwell 2014) συνέβαλαν στην πλούσια πανίδα και χλωρίδα της (Blondel και συν. 2010, Cavazza & Wexel 2003). Συγκεκριμένα, από την μια μεριά, η περίπλοκη τεκτονική ιστορία της Μεσογείου, που αποδίδεται στην εντυπωσιακή γεωδυναμική εξέλιξη της περιοχής κατά τη διάρκεια της Τριτογενούς και Τεταρτογενούς περιόδου [17 εκατομμύρια χρόνια πριν από σήμερα (Mya) έως 0,04 Mya] (Meulenkaamp και συν. 1994, Meulenkaamp και συν. 1988, Pichon και συν. 1981), περιόρισε σημαντικά τα χρονικά περιθώρια προσαρμογής και διαφοροποίησης των ειδών με τη δράση της φυσικής επιλογής, οδηγώντας σε φαινόμενα ταχείας ειδογένεσης. Από την άλλη μεριά, οι έντονες μεταβολές του κλίματος στη βόρεια Ευρασία - τα τελευταία 3 εκατομμύρια χρόνια έχουν

¹ *Βιογεωγραφία*: Είναι μια ιστορική επιστήμη, που στόχο έχει τη μελέτη, την κατανόηση και την επεξήγηση της γεωγραφικής κατανομής που παρουσιάζουν τα είδη, καθώς και τις αλλαγές αυτής μέσα στο χρόνο. Δύο παράγοντες, ο σχετικός ρόλος των οποίων μπορεί να σταθμιστεί στο πλαίσιο της φυλογενετικής ανάλυσης, που καθορίζουν, ο καθένας με το δικό του τρόπο, την προέλευση του χωρικού διαχωρισμού των ταξινομικών μονάδων είναι ο βικαρτανισμός (φαινόμενα ορογένεσης, σπασίματα ηπειρωτικών μαζών και ευστατικά φαινόμενα) και η διασπορά.

καταγραφεί περίπου 30 παγετώδεις περίοδοι, στη διάρκεια των οποίων οι πάγοι κάλυπταν το μεγαλύτερο μέρος της βόρειας Ευρασίας (Van Andel 1994) - προκάλεσαν σημαντικές κλιματικές διακυμάνσεις στις σημερινές μεσογειακές περιοχές (αν και οι περιοχές αυτές δεν καλύφθηκαν από πάγους, η μέση θερμοκρασία τους μειώθηκε από 2 έως 7 °C, Dallman 1998). Οι διακυμάνσεις αυτές άλλαζαν την επικρατούσα βλάστηση των περιοχών αυτών από φυλλοβόλα δάση βελανιδιάς, κατά τη διάρκεια των παγετωδών, σε κωνοφόρα, μακκί και φρύγανα, κατά τη διάρκεια των μεσοπαγετωδών περιόδων (Mylonas 1999), με αποτέλεσμα να οδηγούν σε αλλαγές στις κοινωνίες σπονδυλωτών και ασπονδύλων.

Όσον αφορά τον ελλαδικό χώρο, και ειδικότερα την περιοχή του Αιγαίου, παρά την μικρή του έκταση, ο αριθμός των ειδών που φιλοξενεί είναι εξαιρετικά μεγάλος και με σημαντικά ποσοστά ενδημισμού (Blondel και συν. 2010). Οι παράγοντες που συντελούν στη μεγάλη βιοποικιλότητα της περιοχής είναι: η θέση της, ο μεγάλος αριθμός νησιών και το έντονο γεωμορφολογικό ανάγλυφο. Το Αρχιπέλαγος του Αιγαίου βρίσκεται στο σταυροδρόμι τριών ηπείρων, γεγονός που αντανακλάται στο φυσικό του περιβάλλον (Foufopoulos & Ives 1999b), το οποίο συνδυάζει στοιχεία από τις τρεις αυτές ηπείρους. Καθεμία ήπειρος συμβάλλει με τη δική της διακριτή πανίδα και χλωρίδα, οδηγώντας στον υψηλό πλούτο ειδών και στα μεγάλα ποσοστά ενδημισμού (Lymberakis & Poulakakis 2010). Ο νησιωτισμός αποτελεί τον δεύτερο σημαντικό παράγοντα που καθορίζει τη βιοποικιλότητα της περιοχής (Foufopoulos και συν. 2011, Lymberakis & Poulakakis 2010). Οι διαδοχικές συνδέσεις γης και επαναβυθίσεις γεφυρών ξηράς στην περιοχή του Αιγαίου, κατά τη διάρκεια της Ανώτερης Τριτογενούς ($55,8 \pm 0,2$ Mya) και Τεταρτογενούς ($2,59 \pm 0,002$ Mya) περιόδου, οδήγησαν στο σχηματισμό 3.000 περίπου νησιών διαφορετικού μεγέθους, ηλικίας και γεωλογικής ιστορίας, που φιλοξενούν εκατοντάδες ενδημικά είδη. Τέλος, οι έντονες κλιματικές αλλαγές και η διαρκής παρουσία του ανθρώπου, έχουν σμιλέψει την φυσιογνωμία της περιοχής, αλλάζοντας το τοπίο και επιδρώντας στη σύνθεση των ζωικών και φυτικών κοινωνιών (Blondel & Aronson 1999, Blondel και συν. 2010). Και οι τρεις παραπάνω αναφερόμενοι παράγοντες οδήγησαν στην πολύ μεγάλη ποικιλότητα των χερσαίων σπονδυλωτών (Kasapidis και συν. 2005a, Kasapidis και συν. 2005b, Kyriazi και συν. 2013, Poulakakis και συν. 2005a, Poulakakis και συν. 2005c, Ursenbacher και συν. 2008) και ασπονδύλων (Klossa-Kilia και συν. 2006, Kornilios και συν. 2009, Kotsakiozi και συν. 2012, Papadopoulou και συν. 2009, Parmakelis και συν. 2006, Poulakakis & Sfenthourakis 2008, Simaiakis και συν. 2012) στην περιοχή του Αιγαίου, όπως την γνωρίζουμε σήμερα.

Με την ονομασία Αιγαίο, αναφερόμαστε στην ευρύτερη περιοχή που περιλαμβάνει εκτός από τα νησιά και τις νησίδες του αρχιπελάγους και τις γύρω ηπειρωτικές περιοχές, που, λόγω της εγγύτητάς τους, έχουν ασκήσει επίδραση στη μορφολογία του. Η παλαιογεωγραφική εξέλιξη του Αιγαίου, στη διάρκεια των κρίσιμων περιόδων της Τριτογενούς και Τεταρτογενούς, έχει αποτυπωθεί συνοπτικά σε μια σειρά παλαιογεωγραφικών χαρτών (εικόνα 2.1), οι οποίοι υποδεικνύουν τις σχετικές θέσεις των διαφόρων παλαιογεωγραφικών ενοτήτων του χώρου. Βασισμένοι σε τέτοιους χάρτες, ορισμένοι ερευνητές (Μάντζιου 2006, Παρμακέλης 2003, Πουλακάκης 2005) έχουν καταφέρει να περιγράψουν αναλυτικά την παλαιογεωγραφική ιστορία της περιοχής. Η γνώση αυτών των γεωλογικών συμβάντων είναι ιδιαίτερα χρήσιμη, προκειμένου να κατανοήσουμε και να ερμηνεύσουμε την βιογεωγραφική ιστορία και το πρότυπο κατανομής πληθώρας taxa στην Ελλάδα.



Εικόνα 2.1. Παλαιογεωγραφικοί χάρτες της εξέλιξης του Αιγαίου από το ανώτερο Βουρδιγάλιο – Λάγγιο (17 Mya) έως το ανώτερο Πλειστόκαινο (0,04 Mya), τροποποιημένοι από τον Roulakakis και συν. (2005c), βάσει των Creutzburg (1963), Dermitzakis & Papanikolaou (1981), Dermitzakis (1990), Perissoratis & Conispoliatis (2003).

Παρά τον έντονο νησιωτικό χαρακτήρα της, η Ελλάδα είναι μια κατεξοχήν ορεινή χώρα, με τα 2/3 της έκτασής της να καλύπτονται από βουνά. Το ορεινό τόξο που ξεκινά

από την Πίνδο και συνεχίζεται με τα βουνά της Στερεάς και καταλήγει στα βουνά της Πελοποννήσου αποτελεί την ραχοκοκαλιά του ελλαδικού χώρου. Στα βόρεια της χώρας η οροσειρά της Ροδόπης χωρίζει την Ελλάδα από την υπόλοιπη Βαλκανική χερσόνησο, ενώ διάφοροι άλλοι ανεξάρτητοι ορεινοί όγκοι, όπως ο Όλυμπος, το Πήλιο, τα Λευκά Όρη στην Κρήτη και ο Αίνας στην Κεφαλονιά, συμπληρώνουν το ορεινό δίκτυο. Σε αυτό το δίκτυο βουνών οφείλονται πολλές ιδιαιτερότητες της βιοποικιλότητας στη χώρα μας, καθώς, αφενός, επηρεάζει το κλίμα, δημιουργώντας ποικίλα μικροπεριβάλλοντα, τα οποία μπορούν να φιλοξενήσουν είδη με διαφορετικές οικολογικές απαιτήσεις και αφετέρου δημιουργεί ποικίλα καταφύγια, όπου λαμβάνουν λάβουν μέρος σημαντικά γεγονότα ειδογένεσης (Hughes 2004).

Η οικογένεια Lacertidae είναι αναμφίβολα μονοφυλετική ομάδα¹ σαυρών (Fu 1998, Harris και συν. 1998). Ο πρόγονος των σύγχρονων ευρωπαϊκών Lacertidae φαίνεται να εμφανίστηκε στην Ευρασία την Πρώιμη Μειόκαινο εποχή (23,03 Mya) και υπέστη μια πάρα πολύ γρήγορη διαφοροποίηση μέχρι τη Μέση Μειόκαινο (11,61 Mya), όταν η Ευρώπη ήταν σχετικά κερματισμένη, γεγονός που ευνόησε τη διαφοροποίηση αυτή (Arnold 2004, Arnold και συν. 2007, Lutz και συν. 1986).

Στο χώρο της Ευρώπης, η οικογένεια Lacertidae αποτελεί την επικρατέστερη ομάδα ερπετών, αφού περιλαμβάνει το 75% των ειδών της ευρωπαϊκής ερπετοπανίδας (Arnold 1987). Η οικογένεια Lacertidae αποτελείται από 280 περίπου είδη (Arnold και συν. 2007), τα οποία εξαπλώνονται στην Ευρώπη την Αφρική και σε μεγάλο μέρος της Ασίας, ενώ περιλαμβάνει δύο υποοικογένειες: τη Lacertinae και τη Gallotinae (ύστερα από αναθεώρηση των Arnold και συν. 2007). Παρόλο που οι φυλογενετικές σχέσεις των Lacertidae είναι από τις πλέον μελετημένες στα ερπετά, ιδίως λόγω πρόσφατων μελετών στο χώρο της Ευρώπης (Ahmadzadeh και συν. 2012, Ahmadzadeh και συν. 2013b, Crochet και συν. 2004, Godinho και συν. 2005, Harris & Sá-Sousa 2001, Poulakakis και συν. 2003, Poulakakis και συν. 2005b, Poulakakis και συν. 2005c), εξακολουθούν να υπάρχουν αρκετά ερωτήματα για την φυλογένεση των διαφόρων taxa, ενώ σε αρκετές περιπτώσεις

¹ *Μονοφυλετική ομάδα*: Με αυτόν τον όρο περιγράφεται ένα οποιοδήποτε σύνολο από είδη που έχει προέλθει από έναν μοναδικό κλάδο, δηλαδή από μια ίδια ή χαμηλότερου βαθμού ταξινομική ομάδα, στην οποία δεν περιέχεται κανένα άτομο που δεν είναι απόγονος του εν λόγω κοινού προγόνου. Αντίστοιχα, ο όρος *μονοφυλία*, στην επιστήμη της φυλογένεσης, αναφέρεται σε μια ομάδα που περιλαμβάνει τον πιο πρόσφατο κοινό πρόγονο της ομάδας και όλους τους απογόνους αυτού του προγόνου. Συγκεκριμένα, όταν ένας πληθυσμός χωρίζεται σε δύο απομονωμένους υποπληθυσμούς, οι απλότυποι του αρχικού πληθυσμού μοιράζονται στους υποπληθυσμούς με λίγο πολύ τυχαίο τρόπο, και οι κατηγορίες των φυλογενετικών σχέσεων που παρατηρούνται σε αυτά τα ζευγάρια αδελφών πληθυσμών είναι τρεις (Avice και συν. 1983): 1) αμοιβαία μονοφυλετικότητα, όπου όλοι οι απλότυποι μέσα σε κάθε θυγατρικό πληθυσμό είναι περισσότερο συγγενικοί μεταξύ τους παρά με τους απλότυπους του συγκρινόμενου πληθυσμού, 2) παραφυλετικότητα, όταν ενώ όλοι οι απλότυποι του ενός πληθυσμού είναι πιο συγγενικοί μεταξύ τους, ορισμένοι απλότυποι του δεύτερου πληθυσμού είναι συγγενικότεροι με κάποιους απλότυπους του πρώτου πληθυσμού, παρά με τους υπόλοιπους απλότυπους του δεύτερου πληθυσμού και 3) πολυφυλετικότητα, όταν οι απλότυποι ενός πληθυσμού είναι πιο συγγενικοί με κάποιους άλλου πληθυσμού παρά μεταξύ τους.

τα αποτελέσματα μεταξύ των μελετών είναι διαφορούμενα. Ο λόγος αυτής της ελλιπούς συμφωνίας μεταξύ των διαφορετικών μελετών, έγκειται πρώτον, στον μεγάλο αριθμό κρυπτικών μορφών (Barata και συν. 2012, Böhme και συν. 2007, Harris & Sá-Sousa 2001, Kyriazi και συν. 2008, Poulakakis και συν. 2003) και, δεύτερον, στη μικρή διαειδική μορφολογική διαφοροποίηση (Godinho και συν. 2005, Rykena και συν. 2002). Οι παράγοντες αυτοί, σε συνδυασμό με τη μεγάλη ενδοειδική φαινοτυπική ποικιλοότητα ορισμένων ειδών (Arnold 2004, Harris & Sá-Sousa 2001, Kapli και συν. 2013, Poulakakis και συν. 2003), δυσκολεύουν την τρέχουσα συστηματική τους και εγείρουν νέα ερωτήματα για αυτήν. Το γεγονός αυτό δημιουργεί σημαντικά προβλήματα σε μελέτες οικολογίας και συγκριτικής φυσιολογίας, όπου απαιτείται η εκ των προτέρων γνώση των φυλογενετικών σχέσεων των εξεταζόμενων ειδών ή πληθυσμών. Ως εκ τούτου, με βάση τα όσα προαναφέρθηκαν, δεν προκαλεί εντύπωση το γεγονός ότι οι φυλογενετικές σχέσεις της οικογένειας αυτής, οι οποίες σε μεγάλο βαθμό έχουν βασιστεί σε μορφολογικούς χαρακτήρες, έχουν αποτελέσει έντονο θέμα συζήτησης τις τελευταίες δύο δεκαετίες (Arnold 1989, Arnold και συν. 2007, Fu 2000, Godinho και συν. 2005, Harris και συν. 1998).

Εντός της υποοικογένειας Lacertinae, τα γένη *Timon* (Arnold και συν. 2007) και *Lacerta* (Nettman 2001) περιλαμβάνουν μεγάλο μέγεθος σώματος σαύρες, οι οποίες όντας ευδιάκριτες, χάρις στο μέγεθός τους και το έντονο πράσινο χρώμα τους, είναι από τις πιο συχνά παρατηρούμενες σαύρες στο πεδίο. Το γένος *Lacerta* εξαπλώνεται από την Ιβηρική Χερσόνησο μέχρι την δυτική Ασία (Arnold και συν. 2007) (χάρτης 1.1, δίνεται στο κεφάλαιο 1 της Εισαγωγής). Η ταξινομική και οι σχέσεις των ειδών του γένους είναι ασαφείς, ενώ το ίδιο έχει υποβληθεί σε μια σειρά ταξινομικών αναθεωρήσεων, που βασίζονται κατά κύριο λόγο σε μορφολογικά δεδομένα και πειράματα υβριδισμού (Arnold 1973, Peters 1962, Rykena 1991a, Rykena 2001, Schmidler 1986).

Η πλειοψηφία των μέχρι τώρα φυλογενετικών μελετών, που έχουν διεξαχθεί και αφορούν το γένος *Lacerta*, επικεντρώθηκε σε συγκεκριμένα είδη ή περιοχές εξάπλωσης αυτού και όχι στο σύνολο των ειδών του γένους, αποκαλύπτοντας πολύπλοκα φυλογεωγραφικά πρότυπα (*L. schreiberi*: Godinho και συν. 2008, Godinho και συν. 2005, *L. agilis*: Kalyabina και συν. 2001), κρυπτικά είδη (*L. bilineata* και *L. viridis*: Böhme και συν. 2007) και φαινόμενα ταχείας διαφοροποίησης και ειδογένεσης (κλάδος της *L. trilineata*: Ahmadzadeh και συν. 2013a, Ahmadzadeh και συν. 2013b). Όσον αφορά την ομάδα της *L. trilineata*, που συμπεριλαμβάνει τα είδη *L. trilineata*, *L. media* και *L. pamphylica*, οι τελευταίοι ερευνητές κατέληξαν σε ένα μάλλον ενδιαφέρον συμπέρασμα.

Πιο συγκεκριμένα, υποστήριξαν την πρόσφατη διαφοροποίηση των ειδών *L. trilineata* και *L. media* (4,0 Mya) και την εξάπλωση του είδους *L. trilineata* στα Βαλκάνια μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα κατά τη περίοδο της Πλειόκαινου (5,33 – 2,59 Mya), με φαινόμενα πολλαπλής διασποράς. Η ιδιαίτερη αναφορά που γίνεται για την ομάδα αυτή, οφείλεται στο γεγονός ότι το ομώνυμο είδος *L. trilineata* του κλάδου της *trilineata* αποτελεί το θέμα μελέτης της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Σήμερα, το γένος *Lacerta* θεωρείται μονοφυλετικό (Arnold και συν. 2007, Godinho και συν. 2005) και περιλαμβάνει εννέα αλλοπάτρια είδη με μερικώς επικαλυπτόμενες κατανομές (*L. agilis*, *L. bilineata*, *L. media*, *L. mostoufii*, *L. pamphylica*, *L. schreiberi*, *L. strigata*, *L. trilineata* και *L. viridis*) (χάρτης 1.1, στο κεφάλαιο 1 της Εισαγωγής). Εντός του γένους, οι σχέσεις των ειδών είναι πολύπλοκες, με τα είδη *L. trilineata* και *L. viridis* να εμφανίζονται παραφυλετικά¹ σε σχέση με τα είδη *L. pamphylica* (Ahmadzadeh και συν. 2013b, Godinho και συν. 2005) και *L. bilineata* (Godinho και συν. 2005, Mayer & Beyerlein 2002), αντίστοιχα. Ωστόσο, οι Böhme και συν. (2007) στην πιο πρόσφατη εργασία τους για την ομάδα της *viridis* (*L. viridis* και *L. bilineata*), υποστήριξαν την ύπαρξη ενός νέου υποείδους της *L. bilineata*, δυτικά της Οροσειράς της Πίνδου (*L. bilineata* ssp. *εφεξής*), απορρίπτοντας με τον τρόπο αυτό την παραφυλετικότητα των ειδών *L. viridis* και *L. bilineata* και αυξάνοντας παράλληλα τον αριθμό των ειδών *Lacerta* στο χώρο της Ελλάδας από τρία σε τέσσερα (*L. trilineata*, *L. viridis*, *L. agilis* και *L. bilineata*) (Böhme και συν. 2007, Valakos και συν. 2008).

Ωστόσο, η διάκριση των ελληνικών πράσινων σαυρών με βάση τη διαφοροποίηση των μορφολογικών τους χαρακτήρων, ιδιαίτερα όσον αφορά τα είδη *L. viridis*, *L. bilineata* και *L. trilineata*, παραμένει ακόμη εξαιρετικά δύσκολη. Τούτο, οφείλεται στην ιδιαίτερα μικρή διαειδική και μεγάλη ενδοειδική μορφολογική διαφοροποίηση (μεγάλη φαινοτυπική και χρωματική ποικιλότητα και έντονη διαφοροποίηση στον αριθμό των κεφαλικών και σωματικών φολίδων) που εμφανίζουν τα τρία τελευταία είδη (Rykeno και συν. 2002).

Όσον αφορά το είδος *L. trilineata*, μέχρι σήμερα έχουν αναγνωριστεί 10 υποείδη, εννέα εκ των οποίων εξαπλώνονται ή είναι ενδημικά στον ελλαδικό χώρο (ηπειρωτικό και νησιωτικό χώρο) (Mayer & Beyerlein 2002, Valakos και συν. 2008) (χάρτης 2.1). Αξίζει

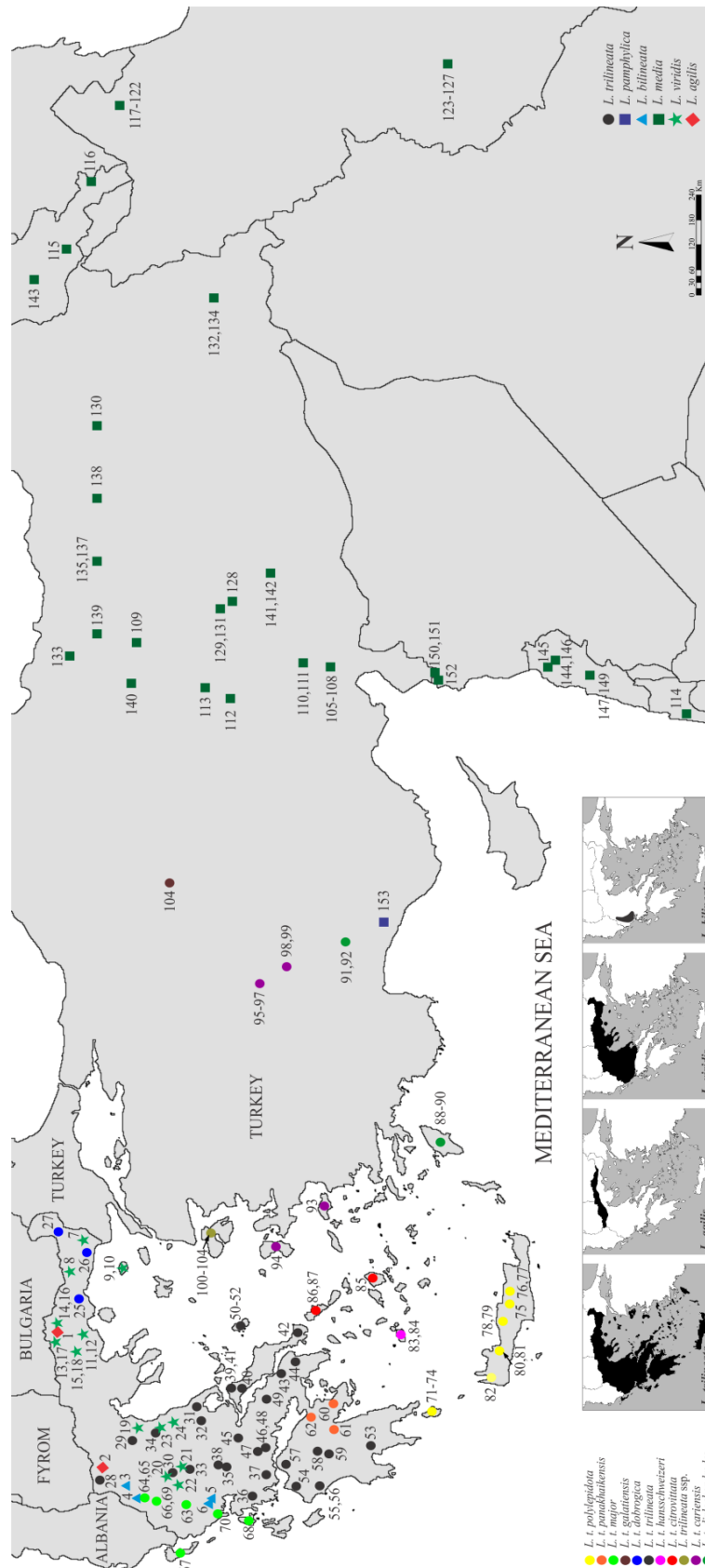
¹ Παραφυλετικά είδη: Αμέσως μετά το διαχωρισμό ενός πληθυσμού στους υποπληθυσμούς του, εξαιτίας ενός φράγματος που εμποδίζει τη γονιδιακή ροή μεταξύ των υποπληθυσμών, εκείνοι εμφανίζονται πολυφυλετικοί, μια και οι απλότυποι του προγονικού πληθυσμού διαχωρίζονται στους θυγατρικούς με τυχαίο τρόπο. Ωστόσο, λόγω της μετέπειτα τυχαίας εξαφάνισης ορισμένων γενεαλογικών γραμμών, οι πληθυσμοί αυτοί εμφανίζονται παραφυλετικοί. Δηλαδή, στην περίπτωση της παραφυλίας, η ομάδα δεν περιλαμβάνει όλους τους απογόνους ενός κοινού προγόνου. Βέβαια, υπάρχουν δύο φαινόμενα που, ακόμα και όταν οι πληθυσμοί φτάσουν σε κατάσταση αμοιβαίας μονοφυλετικότητας, μπορούν να οδηγήσουν σε πολύ- ή πάρα- φυλετικές καταστάσεις (δευτερογενή γονιδιακή ροή μεταξύ των παραγόμενων πληθυσμών) και αφορούν την ατελή επιλογή γενεαλογικών γραμμών και τη διείσδυση γονιδιώματος (Funk & Omland 2003 και αναφορές εντός).

να σημειωθεί ότι για ένα εξ αυτών, το υποείδος *L. t. panakhaikensis*, που εντοπίζεται στην ανατολική Πελοπόννησο, τα μόνα διαθέσιμα στοιχεία που υπάρχουν, αφορούν την περιγραφή του με βάση μοριακά δεδομένα μιτοχονδριακού DNA από τη μελέτη των Mayer & Beyrlein (2002). Το δεύτερο είδος που εξαπλώνεται στον ελλαδικό χώρο, η *L. viridis* περιλαμβάνει πέντε υποείδη (Rykeno και συν. 2002), τρία από τα οποία εξαπλώνονται στη βόρεια (Ηπειρο, Μακεδονία, Θράκη), κεντρική (Θεσσαλία) και ηπειρωτική Ελλάδα (Frör 1979, Mayer & Tiedemann 1982, Pafilis & Maragou 2013) (χάρτης 2.1). Τέλος, τα εναπομείναντα δύο είδη *L. agilis* και *L. bilineata* κατανέμονται στο βορειότερο μέρος της Ελλάδας και δυτικά της Οροσειράς της Πίνδου, αντίστοιχα (Böhme και συν. 2007, Valakos και συν. 2008) (χάρτης 2.1).

Δεδομένης της ελλιπούς γνώσης της εξελικτικής ιστορίας των ελληνικών πράσινων σαυρών, η παρούσα μελέτη έχει σαν στόχο, πρώτον, τη διερεύνηση των φυλογενετικών σχέσεων και της φυλογεωγραφικής κατανομής των ειδών του γένους *Lacerta* στην Ελλάδα, και, δεύτερον, τον έλεγχο της εγκυρότητας της ισχύουσας ταξινομικής κατάστασης. Επιπλέον, επειδή σε μελέτες συγκριτικής φυσιολογίας μια συμβατική προσέγγιση, με τη μη ενσωμάτωση των φυλογενετικών σχέσεων των πληθυσμών/ειδών, μπορεί να επηρεάσει τη στατιστική ανάλυση, οδηγώντας σε σφάλματα τύπου I¹, τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας θα διαμορφώσουν το πλαίσιο για τις μετέπειτα συγκριτικές μελέτες διαφόρων πτυχών της οικολογίας, φυσιολογίας και γενικότερης βιολογίας της *L. trilineata*.

Προκειμένου να προσεγγίσουμε τα θέματα αυτά, εξετάστηκαν δείγματα του γένους *Lacerta* του ελλαδικού χώρου και των γύρω περιοχών, που ανήκουν στα τέσσερα προαναφερθέντα είδη (χάρτης 2.1) και αναλύθηκαν ένα πυρηνικό (που κωδικοποιεί για έναν μεμβρανικό υποδοχέα των φυσικών φονικών κυττάρων, natural killer-tumor recognition, *NKTR*) και δύο μιτοχονδριακά [που κωδικοποιούν για το κυτόχρωμα β (*cyt b*) και την μεγάλη ριβοσωμική υπομονάδα του RNA (16S *rRNA*)] γονίδια, τα οποία χρησιμοποιούνται ευρύτατα σε ερπετολογικές φυλογενετικές μελέτες (Godinho και συν. 2005, Kapli και συν. 2008, Poulakakis και συν. 2005c, Townsend και συν. 2011).

¹ Σφάλμα τύπου I: Σε μελέτες συγκριτικής φυσιολογίας μεταξύ διακριτών ειδών συχνά παρατηρείται το φαινόμενο να χρησιμοποιούνται συμβατικές στατιστικές μέθοδοι προκειμένου να εξεταστούν οι σχέσεις μεταξύ ορισμένων χαρακτήρων ανάμεσα σε διαφορετικά είδη. Ωστόσο, μια τέτοια προσέγγιση κάνει, εκ των προτέρων, τη σιωπηρή παραδοχή ότι όλα τα δεδομένα είναι ανεξάρτητα το ένα από το άλλο. Στην πραγματικότητα όμως, ο μέσος φαινότυπος μιας βιολογικής ταξινομικής μονάδας συνήθως δεν είναι στατιστικά ανεξάρτητος από εκείνον άλλων μονάδων, μιας και όλοι οι οργανισμοί σχετίζονται μεταξύ τους, μέσω της φυλογενετικής τους ιστορίας. Με άλλα λόγια, τα είδη που είναι πιο συγγενικά μεταξύ τους τείνουν να μοιάζουν περισσότερο (Garland και συν. 2005). Συνεπώς, είναι σαφές ότι η μη ενσωμάτωση φυλογενετικών δεδομένων σε τέτοιες συγκριτικές μελέτες μπορεί να επηρεάσει την στατιστική ανάλυση, υπερεκτιμώντας τον αριθμό των ανεξάρτητων παρατηρήσεων και οδηγώντας σε σφάλματα τύπου I, δηλαδή απόρριψη της μηδενικής υπόθεσης, ενώ εκείνη είναι αληθής (Garland και συν. 2005, Grafen 1989, Purvis και συν. 1994).



Χάρτης 2.1. Γεωγραφική προέλευση των δειγμάτων και κατανομή των τεσσάρων ειδών *Lacerta* που εξαπλώνονται στον ελλαδικό χώρο. Οι αριθμοί αντιστοιχούν στους κωδικούς όπως αυτοί αναφέρονται στο παράρτημα Ι συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ2.1 και στις εικόνες 2.2, 2.3 και 2.4.

2.2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.2.1. Συλλογή δειγμάτων και εξαγωγή γενετικού υλικού

Η συλλογή των δειγμάτων και η επιλογή των πληθυσμών, βασίστηκε καθαρά στην προσπάθεια κάλυψης της κατανομής των υπό μελέτη taxa στο χώρο της Ελλάδας, με όσο το δυνατόν πιο ομοιόμορφο τρόπο. Συνολικά, χρησιμοποιήθηκαν 89 δείγματα των τεσσάρων υπό εξέταση taxa, τα οποία βρίσκονται κατατεθειμένα στις συλλογές του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας του Πανεπιστημίου της Κρήτης (Natural History Museum of Crete, NHMC) και αφορούν δείγματα που συλλέχθηκαν κατά τη διάρκεια των εξερευνητικών αποστολών των ερευνητών του Μουσείου, καθώς και δείγματα τα οποία συλλέχθηκαν από άλλους ερευνητές και κατατέθηκαν στις συλλογές του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας. Όλα τα δείγματα βρίσκονται διατηρημένα σε 96% αιθανόλη.

Πέραν των αλληλουχιών που παρήχθησαν από τα προαναφερθέντα δείγματα, στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν συμπληρωματικά 77 δικτυακές αλληλουχίες (από διαφορετικά είδη του γένους *Lacerta*) που ανακτήθηκαν από τη βάση γενετικών δεδομένων GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) για τα γονίδια *κυτόχρωμα β* και *16S rRNA*. Πιο συγκεκριμένα, ανακτήθηκαν 13 αλληλουχίες από το είδος *L. trilineata*, δύο από το είδος *L. pamphylica*, 48 από το είδος *L. media*, πέντε από το είδος *L. agilis*, δύο από το είδος *L. viridis*, πέντε από το είδος *L. bilineata*, μία από το είδος *L. strigata* και μία από το είδος *L. schreiberi*. Η πλειονότητα των αλληλουχιών αυτών προέρχονται από τη μελέτη των Ahmadzadeh και συν. (2013b), για την οποία σχετική αναφορά έγινε στο κεφάλαιο της Εισαγωγής. Τέλος, έξι δείγματα από το γένος *Gallotia* ssp. και τέσσερα από το *Timon*, που αποτελεί αδελφή ταξινομική ομάδα του γένους *Lacerta* (Arnold και συν. 2007, Fu 2000), χρησιμοποιήθηκαν ως παραομάδα για την εύρεση του χρόνου διαφοροποίησης του γένους. Το σύνολο των δειγμάτων, με πληροφορίες για το είδος, την περιοχή προέλευσης, τον κωδικό της μουσειακής συλλογής, τον αριθμό πρόσβασης στην GenBank, καθώς και η εργασία στην οποία είναι δημοσιευμένες οι συμπληρωματικές αλληλουχίες, παρατίθενται στο **παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ2.1**. Η γεωγραφική προέλευση των δειγμάτων απεικονίζεται στο **χάρτη 2.1**.

Το σύνολο σχεδόν όλων των εργαστηριακών πειραμάτων, πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Μοριακής Συστηματικής του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας Κρήτης και στο εργαστήριο Μοριακής Οικολογίας του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Η απομόνωση του συνολικού γενετικού υλικού έγινε από τον ιστό της γλώσσας ή από το μυ της ουράς της σαύρας, ακολουθώντας το κλασικό πρωτόκολλο των Hillis και συν. (1996), βάσει του οποίου, αρχικά, γίνεται πέψη του ιστού (κομμάτι ουράς ή συκωτιού) σε διάλυμα εξαγωγής με πρωτεΐνάση K και στη συνέχεια το DNA εξάγεται με καθαρισμό μέσω φαινόλης - χλωροφόρμιου, ενώ τελικά κατακρημνίζεται με ισοπροπανόλη ή με απόλυτη αιθανόλη. Για την παρασκευή του διαλύματος εξαγωγής DNA ακολουθήθηκε το πρωτόκολλο των Holmes & Bonner (1973), όπως αυτό τροποποιήθηκε κατάλληλα από τους Poulakakis και συν. (2005a), που στη συγκεκριμένη μελέτη χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία στην εξαγωγή DNA από πολύ χαμηλής ποιότητας δείγματα.

2.2.2. Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) και προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας

Οι γενετικοί δείκτες, που επιλέχθηκαν για τη διερεύνηση των φυλογενετικών σχέσεων του γένους *Lacerta* στην Ελλάδα, ήταν το μιτοχονδριακό γονίδιο που κωδικοποιεί για την πρωτεΐνη του κυτοχρώματος β , το μιτοχονδριακό γονίδιο της μεγάλης ριβοσωμικής υπομονάδας και το πυρηνικό γονίδιο που κωδικοποιεί για έναν μεμβρανικό υποδοχέα των φυσικών φονικών κυττάρων.

Η επιλογή των γονιδίων δεν έγινε τυχαία. Το γονίδιο του κυτοχρώματος β χρησιμοποιείται ευρύτατα σε ερπετολογικές και όχι μόνο φυλογενετικές μελέτες, αφού αποτελεί ένα από τα ταχύτερα εξελισσόμενα γονίδια του μιτοχονδριακού γονιδιώματος (Avice 2000). Το γεγονός αυτό εξυπηρετεί στη διερεύνηση των φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ πρόσφατα διαχωρισμένων ειδών. Αντίστοιχα, το δεύτερο γονίδιο (16S rRNA) που επιλέχθηκε, αν και πληροί παρόμοιες προϋποθέσεις όπως το *cyt b*, δηλαδή φέρει περιοχές που εξελίσσονται ταχύτατα και είναι ευρέως χρησιμοποιούμενο σε ανάλογες φυλογενετικές μελέτες, έχει και περιοχές αρκετά συντηρημένες, που εξυπηρετούν στη διερεύνηση των σχέσεων μεταξύ ταξινομικών μονάδων που έχουν διαχωριστεί εδώ και εκατοντάδες εκατομμύρια χρόνια. Συνεπώς, επιλύει τις σχέσεις των ειδών πιο κοντά στη βάση του φυλογενετικού δέντρου. Τέλος, επειδή, σε ορισμένες περιπτώσεις, οι σχέσεις των εξεταζόμενων ειδών παρέμειναν ασαφείς, δημιουργήθηκε η ανάγκη επιπλέον αναζήτησης ενός περισσότερο αργού σημαντή, που θα είναι σε θέση να επιλύει βαθύτερες φυλογενέσεις, όπως το πυρηνικό γονίδιο *NKTR*, που μόλις πρόσφατα άρχισε να

χρησιμοποιείται σε ερπετολογικές φυλογενετικές μελέτες (Townsend και συν. 2008, Townsend και συν. 2011).

Τα ζεύγη των γενικών εκκινητών (universal primers), το μέγεθος του προϊόντος που παράγουν, η εργασία στην οποία είναι δημοσιευμένοι, καθώς και οι συνθήκες της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (polymerase chain reaction, PCR), που χρησιμοποιήθηκαν για τον πολλαπλασιασμό των γονιδίων, δίνονται στον **πίνακα 2.1**. Ο προσδιορισμός των αλληλουχιών έγινε σε αυτοματοποιημένο αναλυτή αλληλούχισης μοντέλο ABI 3730XL ακολουθώντας τις οδηγίες του κατασκευαστή και με τη χρήση του Big-Dye Terminator Cycle Sequencing kit (v3.1).

Πίνακας 2.1. Δίνονται τα γονίδια-στόχοι της παρούσας εργασίας, τα ζεύγη των γενικών εκκινητών και οι αλληλουχίες τους, το μέγεθος του προϊόντος που παράγουν, η πηγή προέλευσης τους, καθώς και οι συνθήκες της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) που χρησιμοποιήθηκαν για τον πολλαπλασιασμό των γονιδίων.

Γονίδιο	Εκκινητής	Αλληλουχία Εκκινητή (5' - 3')	Μέγεθος	Συνθήκες PCR	Αναφορά
<i>Cyt b</i>	GLUDG-L	TGA CCT GAA RAA CCA YCG TTTG	~ 420 bp	3mM Mg ⁺⁺ , 94°C/1min, 48,6°C/1min, 72°C/1min x 40 κύκλους	Palumbi (1996)
	CB2-H	CCC TCA GAA TGA TAT TTTG TCC TCA			
16S	16Sar-L	CGC CTG TTT ATC AAA AAC AT	~550 bp	3mM Mg ⁺⁺ , 94°C/1min, 50°C/1min, 72°C/1min x 40 κύκλους	Palumbi (1996)
	16Sbr-H	CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG T			
<i>NKTR</i>	NKTR-f19	GAT GAC ATG GAG ATY TGY ACT CC	~630 bp	3mM Mg ⁺⁺ , 94°C/1min, 55°C/1min, 72°C/1min x 40 κύκλους	Townsend και συν. (2011)
	NKTR-r18	CTY CTD GAY CGA CTT CTT GAG TGA CT			

Οι αλληλουχίες που ελήφθησαν, διορθώθηκαν με τη χρήση του προγράμματος Codon-Code Aligner (v. 4.1.1, Codon Code Corporation), ενώ στη συνέχεια, με τη βοήθεια του διαδικτυακού εργαλείου BLAST, της βάσης γενετικών δεδομένων του NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), ελέγχθηκε η αυθεντικότητα των αποκτηθεισών αλληλουχιών καθώς και η ομολογία τους με τα γονίδια στόχους. Όσον αφορά τα γονίδια, που κωδικοποιούν πρωτεΐνες (*cyt b* και *NKTR*), αφού μεταφράστηκαν σε αμινοξέα, πραγματοποιήθηκε επιπλέον έλεγχος, πρώτον, για την απουσία κωδικονίων λήξης εντός του πλαισίου ανάγνωσης της αλληλουχίας και, δεύτερον, για την ομολογία της πρωτεΐνης με τις κατατεθειμένες αλληλουχίες στη βάση γενετικών δεδομένων.

2.2.3. Στοιχίση και ανάλυση αλληλουχιών

Αφού έγινε προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας του προϊόντος της PCR (sequencing), ακολούθησε στοιχίση (alignment) των αλληλουχιών, που αποσκοπούσε στον προσδιορισμό των ομόλογων θέσεων¹, βάσει των οποίων υπολογίζονται οι εξελικτικές τους σχέσεις. Συνεπώς, η στοιχίση των αλληλουχιών είναι μια διαδικασία εξαιρετικής σημασίας για την εύρεση των πραγματικών φυλογενετικών σχέσεων των υπό εξέταση ταξινομικών μονάδων (Collins και συν. 1994). Οι διορθωμένες αλληλουχίες στοιχήθηκαν για περαιτέρω αναλύσεις με το πρόγραμμα ClustalX (Thompson και συν. 1997), ενώ μικρές διορθώσεις έγιναν εμπειρικά. Συγκεκριμένα, είναι γνωστό ότι στα ριβοσωμικά γονίδια είναι δυνατή η παρουσία κενών (gaps) μεταξύ των νουκλεοτιδίων. Αντίθετα, για τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, η παρουσία κενών είναι απαγορευμένη. Ως εκ τούτου, κριτήριο για την καλή ποιότητα της διαδικασίας είναι η απολυτότητα της στοιχίσης, χωρίς ενθέσεις ή ελλείψεις βάσεων. Με βάση τα κριτήρια αυτά, έγιναν, όπου ήταν δυνατόν, παρεμβάσεις, με ιδιαίτερη πάντα προσοχή.

Οι γενετικές αποστάσεις, μεταξύ ειδών και υποειδών, υπολογίστηκαν με τη βοήθεια του προγράμματος MEGA v. 5.0.5 (Tamura και συν. 2011), χρησιμοποιώντας το μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης των Tamura & Nei (TrN) (Tamura & Nei 1993). Οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν αφενός στο ενιαίο σύνολο δεδομένων και, αφετέρου, για κάθε γονίδιο ξεχωριστά.

Για τις περαιτέρω φυλογενετικές αναλύσεις και την κατασκευή του φυλογενετικού δέντρου, εφαρμόστηκε για κάθε γονίδιο χωριστά το μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης που προτάθηκε από το υπολογιστικό πρόγραμμα Modeltest 3.7 (Posada & Crandall 1998) και το PAUP (v.4.0b10) (Swofford 2002), σύμφωνα με το κριτήριο της ελάχιστης πληροφορίας (Akaike Information Criterion, AIC) (Akaike 1974a). Ωστόσο, λόγω της αδυναμίας των μοντέλων να εκτιμήσουν αξιόπιστα τις παραμέτρους Γάμμα (Gamma, G) και Αμετάβλητων Νουκλεοτιδικών Θέσεων (Invariable, I), όταν αυτές χρησιμοποιούνται ταυτόχρονα (G+I μοντέλα)², εξαιτίας της έλλειψης υπολογιστικής

¹ Ομόλογες θέσεις: Στη φυλογένεση, με τον όρο «ομόλογοι χαρακτήρες» γίνεται αναφορά σε εκείνους τους χαρακτήρες, που έχουν κληρονομήσει δύο ή περισσότερα είδη (τροποποιημένους ή όχι) από τον κοινό τους πρόγονο, δηλαδή είναι το αποτέλεσμα της κοινής τους καταγωγής. Αντίθετο της ομολογίας είναι η αναλογία ή ομοπλασία όπου, σε οργανισμούς που προέρχονται από διαφορετικές εξελικτικές γραμμές, ανάλογα χαρακτηριστικά εξελίσσονται ανεξάρτητα μεταξύ τους (μέσω της εξελικτικής σύγκλισης), ως ένα προϊόν προσαρμογής αυτών στο περιβάλλον τους. Συνεπώς, η συγκλίνουσα εξέλιξη (αναλογία) μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένη φυλογένεση.

² Παράμετροι Γάμμα (Gamma, G) και Αμετάβλητων Νουκλεοτιδικών Θέσεων (Invariable, I): Σε πραγματικές αλληλουχίες οι διαφορετικές νουκλεοτιδικές θέσεις παρουσιάζουν διαφορές στο ρυθμό που υφίστανται υποκαταστάσεις, ενώ ορισμένες αλλαγές που παρατηρούνται κατά μήκος μια αλληλουχίας, ακόμα και αν απέχουν αρκετά μεταξύ τους τα νουκλεοτιδία, μπορεί να μην είναι μεταξύ τους ανεξάρτητες. Ως εκ τούτου, η παραδοχή ότι η συχνότητα των νουκλεοτιδίων είναι σε ισορροπία, μπορεί να οδηγήσει σε

ισχύος, πραγματοποιήθηκε έλεγχος μόνο για μοντέλα που περιελάμβαναν την παράμετρο Γ (για περισσότερες πληροφορίες βλέπε Yang 2006).

2.2.4. Μέθοδοι φυλογενετικής ανάλυσης και κατασκευή φυλογενετικού δέντρου με βάσει τα μιτοχονδριακά γονίδια

Το σύνολο των μιτοχονδριακών δεδομένων (τα δύο γονίδια ανεξάρτητα αλλά και ο συνδυασμός αυτών), υποβλήθηκε στις αναλύσεις Μέγιστης Φειδωλότητας (Maximum Parsimony, MP), Μέγιστης Πιθανοφάνειας (Maximum Likelihood, ML) και Μπεϋζιανής Συμπερασματολογίας (Bayesian Inference, BI).

Η ανάλυση Μέγιστης Φειδωλότητας¹, πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα PAUP* (v.4.0b10) (Swofford 2002), χρησιμοποιώντας την ευρετική μέθοδο αναζήτησης (Swofford και συν. 1996). Η ευρετική προσέγγιση (heuristic search) είναι, ουσιαστικά, ένας αλγόριθμος «αναρρίχησης», βάσει του οποίου επιλέγεται ένα αρχικό δέντρο και επιχειρείται η βελτίωσή του, μέσω αναδιευθετήσεων των κλάδων και με τη σταδιακή προσθήκη νέων αλληλουχιών. Για την εκτίμηση της αξιοπιστίας των κόμβων, χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία bootstrap με 1000 ψευδοεπαναλήψεις (ψευδοαντίγραφα του πρωτότυπου συνόλου δεδομένων).

Η ανάλυση της Μπεϋζιανής Συμπερασματολογίας² πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist 2001), χρησιμοποιώντας το Γενικευμένο Αντιστρεπτό Μοντέλο με παράμετρο Γ για τις μεταβλητές θέσεις (GTR+G εξελικτικό μοντέλο) (Rodriguez και συν. 1990) και για τους δύο μιτοχονδριακούς δείκτες. Συνολικά, πραγματοποιήθηκαν τέσσερις ανεξάρτητες εκτελέσεις, κάθε μία εκ των οποίων περιελάμβανε οκτώ αλυσίδες (chains). Σε κάθε ανάλυση, ο αριθμός των επαναλήψεων (γενεών) ορίστηκε σε 10^7 , ενώ κάθε 100 γενεές αποθηκευόταν το τρέχον δέντρο,

σημαντικά προβλήματα στην κατασκευή του σωστού εξελικτικού δέντρου (Sullivan & Swofford 2001). Η σωστότερη προσέγγιση θα ήταν να εκτιμήσουμε το ρυθμό αλλαγής κάθε θέσης ξεχωριστά. Αυτό φυσικά απαιτεί μια ξεχωριστή παράμετρο για κάθε μια θέση, γεγονός που θα μείωνε σημαντικά την πιθανότητα εκτίμησης μιας φυλογένεσης, εξαιτίας της έλλειψης υπολογιστικής ισχύος. Συνεπώς, η καλύτερη προσέγγιση είναι να θεωρήσουμε ότι οι ρυθμοί υποκατάστασης ακολουθούν μια συγκεκριμένη κατανομή. Έτσι, κάθε θέση έχει ένα δεδομένο ρυθμό αλλαγής, που εξάγεται από αυτήν την κατανομή τυχαία και ανεξάρτητα από τις υπόλοιπες θέσεις (Felsenstein 2004). Στατιστικές αναλύσεις του ρυθμού υποκατάστασης σε διάφορες νουκλεοτιδικές θέσεις έδειξαν ότι εκείνος ποικίλλει και μπορεί να ακολουθεί είτε διακριτές κατανομές (όπως εκείνη των αμετάβλητων νουκλεοτιδικών θέσεων), όπου ο ρυθμός αλλαγής των νουκλεοτιδικών αλλαγών εμπίπτει σε συγκεκριμένες κλάσεις (Hasegawa και συν. 1985, Yang 1995) ή συνεχή κατανομή γάμμα (Γ) (Tamura & Nei 1993, Yang 1996).

¹ Μέγιστη Φειδωλότητα (Maximum Parsimony, MP): Σύμφωνα με το κριτήριο της φειδωλότητας το δέντρο που επιλέγεται είναι εκείνο που απαιτεί συνολικά το μικρότερο αριθμό εξελικτικών αλλαγών προκειμένου να εξηγηθούν οι διαφορές που παρατηρούνται μεταξύ των λειτουργικών ταξινομικών μονάδων (OTU) που μελετώνται.

² Μπεϋζιανή Συμπερασματολογία (Bayesian Inference, BI): Η BI βασίζεται στην εκ των υστέρων πιθανότητα ενός φυλογενετικού δέντρου, η οποία υπολογίζεται κάτω από τη θεώρηση ότι οι υποκαταστάσεις ακολουθούν χρονικά ομοιογενή κατανομή Poisson. Τελικά, το δέντρο με την υψηλότερη τιμή, όσον αφορά την εκ των υστέρων πιθανότητα, επιλέγεται ως το «καλύτερο» ή πιο αληθινό στην εκτίμηση των φυλογενετικών σχέσεων των εξεταζόμενων ειδών.

δημιουργώντας μία μήτρα 10^5 δέντρων. Ως μέση τυπική απόκλιση του διαχωρισμού των συχνοτήτων (average standard deviation of split frequencies) των τεσσάρων αναλύσεων, ορίστηκε η τιμή 0,01, το όριο της οποίας θεωρήθηκε ως το σημείο σταθεροποίησης της τιμής πιθανοφάνειας ($-\ln L$), επιβεβαιώνοντας ταυτόχρονα τη σύγκλιση μεταξύ διαφορετικών εκτελέσεων (για περισσότερες πληροφορίες βλέπε το εγχειρίδιο του προγράμματος MrBayes 3.1.2). Ως αποτέλεσμα αυτού, τα πρώτα $2,5 \times 10^4$ δέντρα που παρήχθησαν (25% επί του συνόλου) απερρίφθησαν (burn-in), ως ένα συντηρητικό μέτρο αποφυγής της πιθανότητας να συμπεριληφθούν στα αποτελέσματά μας τυχαία και ακατάλληλα δέντρα, μια και το διάστημα αυτό θεωρείται ότι απαιτείται μέχρι τη σταθεροποίηση της τιμής $-\ln L$. Από τα εναπομείναντα $7,5 \times 10^4$ δέντρα, κατασκευάστηκε το συναινετικό δέντρο. Το συναινετικό δέντρο κατασκευάστηκε και εκτιμήθηκε με βάση την εκ των υστέρων κατανομή των δέντρων ακολουθώντας τον κανόνα του 50% πλειοψηφικής αποδοχής δέντρου (50% majority rule consensus tree), ενώ οι εκ των υστέρων πιθανότητες υπολογίστηκαν ως το ποσοστό των δέντρων που υποστηρίζουν έναν κλάδο (Huelsenbeck & Ronquist 2001). Πιθανότητες $\geq 95\%$ υποδεικνύουν σημαντική στατιστική υποστήριξη.

Η ανάλυση Μέγιστης Πιθανοφάνειας¹ διεξήχθη με τη χρησιμοποίηση του λογισμικού GARLI v.2.0 (Zwickl 2006). Το πρόγραμμα αυτό υπολογίζει τη μέγιστη πιθανοφάνεια μίας συγκεκριμένης τοπολογίας, χρησιμοποιώντας έναν γενετικό ευρετικό αλγόριθμο, που αξιολογεί αποδοτικά και εναλλακτικές τοπολογίες (Nei & Kumar 2000). Η πιθανή τοπολογία του δέντρου προέκυψε ύστερα από 50 ανεξάρτητες εκτελέσεις, ξεκινώντας με τυχαία δέντρα, ενώ για κάθε ένα από τα δύο γονίδια χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης GTR+G, που προτάθηκε από το πρόγραμμα Modeltest 3.7 (Posada & Crandall 1998). Όλες οι άλλες παράμετροι του προγράμματος, αφέθηκαν στις προκαθορισμένες (default) τιμές. Οι ανεξάρτητες αυτές εκτελέσεις, τελικά, συγκλίνουν όταν οι τιμές πιθανοφάνειας διαφέρουν λιγότερο από τη μονάδα. Το δέντρο με τη μεγαλύτερη πιθανοφάνεια επιλέγεται ως το καλύτερο και χρησιμοποιείται σαν εναρκτήριο για τη δοκιμασία bootstrap με 200 ψευδοεπαναλήψεις. Βασιζόμενοι στα δέντρα που παρήχθησαν από τη δοκιμασία bootstrap και χρησιμοποιώντας το Sum Trees στο λογισμικό Python, όπως προτείνεται από τον ιστότοπο του προγράμματος (http://www.nescent.org/wg_garli/Advanced_topics#Using_SumTrees), κατασκευάστηκε

¹ Μέγιστη Πιθανοφάνεια (Maximum Likelihood, ML): Η τοπολογία του δέντρου προκύπτει υπολογίζοντας την πιθανότητα που έχει ένα συγκεκριμένο σύνολο δεδομένων (αλληλουχιών) να παρατηρηθεί μέσα από τις σχέσεις που περιγράφει το αξιολογούμενο δένδρο, όταν οι αλληλουχίες εξελίσσονται σύμφωνα με ένα εξ αρχής ορισμένο μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης (Nei & Kumar 2000). Το δέντρο με τη μεγαλύτερη τιμή πιθανοφάνειας (συνήθως χρησιμοποιείται ο λογάριθμος της τιμής αυτής) είναι εκείνο το οποίο τελικά προτείνεται ως το πιο κοντινό προς το πραγματικό.

το συναινετικό δέντρο, ακολουθώντας τον κανόνα του 50% πλειοψηφικής αποδοχής δέντρου. Η στήριξη των κλάδων του συναινετικού αυτού δέντρου απεικονίζεται για το καλύτερο δέντρο, στο οποίο κατέληξε το πρόγραμμα.

2.2.5. Έλεγχος εναλλακτικών υποθέσεων

Με βάση την υπάρχουσα βιβλιογραφία, ελέγχθηκαν δύο εναλλακτικές υποθέσεις για τις φυλογενετικές σχέσεις μεταξύ των ειδών του γένους *Lacerta* χρησιμοποιώντας τον έλεγχο Shimodaira-Hasegawa (SH) (Goldman και συν. 2000, Shimodaira & Hasegawa 1999), με δοκιμασία RELL bootstrap με 1000 ψευδοεπαναλήψεις, όπως αυτή εφαρμόζεται στο πρόγραμμα PAUP v.4.0b10 (Swofford 2002). Η πρώτη υπόθεση που ελέγχθηκε υποστηρίζει ότι το είδος *L. agilis* είναι πιο συγγενικό με το είδος *L. viridis* (Godinho και συν. 2005, Lutz & Mayer 1985), ενώ η εναλλακτική της υπόθεση υποστηρίζει ότι η *L. agilis* είναι πιο συγγενική σε σχέση με τη *L. trilineata*. Η δεύτερη υπόθεση που ελέγχθηκε υποστηρίζει ότι η *L. trilineata* είναι μονοφυλετική, ενώ η εναλλακτική της ότι η *L. trilineata* είναι παραφυλετική σε σχέση με τη *L. pamphylica*.

Για τον έλεγχο των υποθέσεων αυτών, κατασκευάστηκαν, στο πρόγραμμα PAUP v.4.0b10 (Swofford 2002), δύο φυλογενετικά δέντρα, ένα για κάθε μία από τις υποθέσεις ελέγχου, υπό το κριτήριο της Μέγιστης Πιθανοφάνειας (ML). Στην πρώτη περίπτωση, τα είδη *L. agilis* και *L. viridis* εμφανίζονταν πιο συγγενικά μεταξύ τους, από ό,τι το κάθε ένα με τη *L. trilineata*, ενώ στη δεύτερη περίπτωση όλα τα άτομα της *L. trilineata* συμπεριελήφθησαν σε έναν κλάδο (μονοφυλετικό είδος). Η υποστήριξη των εσωτερικών κλάδων εκτιμήθηκε με τη δοκιμασία μήκους-μηδενικού κλάδου που προτάθηκε από τον Slowinski (2001), σύμφωνα με το κριτήριο της φειδωλότητας (ML-based zero-branch length) και όπως αυτό εφαρμόζεται στο πρόγραμμα PAUP v.4.0b10 (Swofford 2002). Τέλος, η τοπολογία του καθενός από τα δέντρα συγκρίθηκε με τη βέλτιστη τοπολογία του συναινετικού δέντρου, που προέκυψε από τις αναλύσεις που αναφέρθηκαν στην παράγραφο 2.4, χωρίς ωστόσο να δίνονται οι περιορισμοί που τέθηκαν εδώ για τη δοκιμασία SH (Shimodaira & Hasegawa 1999).

2.2.6. Μοριακό ρολόι και εκτίμηση του χρόνου απόσχισης των κλάδων με βάσει τα μιτοχονδριακά γονίδια

Προκειμένου να ελεγχθεί εάν ισχύει το μοριακό ρολόι πραγματοποιήθηκε η στατιστική δοκιμασία Likelihood Ratio Test (LRT). Αν το αποτέλεσμα της δοκιμασίας αυτής είναι θετικό, με άλλα λόγια το μοριακό ρολόι ισχύει, τότε δύναται να μεταφράσουμε τη γενετική απόσταση, που υπολογίστηκε για τις αλληλουχίες, σε χρόνο απόσχισης των κλάδων, δεδομένου ότι διαθέτουμε κάποιο ρυθμό μοριακής εξέλιξης του γονιδίου ή κάποιο παλαιογεωγραφικό γεγονός ή κάποιο χρονολογημένο απολίθωμα ή συνδυασμό αυτών.

Στην παρούσα μελέτη, για την εκτίμηση του χρόνου απόσχισης και των διαστημάτων εμπιστοσύνης των κόμβων για το γένος *Lacerta*, χρησιμοποιήθηκαν τα ίδια σημεία αναφοράς με εκείνα που χρησιμοποιήθηκαν στις μελέτες του Ahmadzadeh και συν. (2013a, 2013b), σύμφωνα με τις οποίες υποστηρίζεται η ταχεία διαφοροποίηση της ομάδας της *L. trilineata*, προκειμένου τα αποτελέσματά μας να είναι συγκρίσιμα με εκείνα του τελευταίου ερευνητή. Συνοπτικά, βασιζόμενοι στο αρχείο των απολιθωμάτων, ως σημεία αναφοράς για τη βαθμονόμηση του μοριακού ρολογιού, χρησιμοποιήθηκαν οι χρόνοι απόσχισης μεταξύ: 1) των γενών *Lacerta* και *Timon* (17,5 Mya, Čerňanský 2010), 2) των Ευρωπαϊκών και Αφρικανικών ειδών του γένους *Timon* (5,3 Mya, Estes 1983) και 3) των ειδών εντός της ομάδας της *L. viridis* (8,7 Mya, Venczel 2006). Επιπλέον, λήφθηκε υπ' όψιν τη διαφοροποίηση της *Gallotia caesaris caesaris* από τη *G. c. gomerae* (είδη που χρησιμοποιήθηκαν ως παραομάδες στην κατασκευή του φυλογενετικού δέντρου του γένους *Lacerta*) που βασίζεται σε ένα καλά μελετημένο παλαιογεωγραφικό γεγονός: το σχηματισμό του νησιού El Hierro των Καναρίων Νησιών (1,05 Mya, Guillou και συν. 1996). Οι γεωλογικοί χρόνοι των Καναρίων Νησιών έχουν χρησιμοποιηθεί επανειλημμένα σε προηγούμενες ερπετολογικές φυλογενετικές μελέτες σε Lacertidae, προκειμένου, να εκτιμηθούν οι χρόνοι απόσχισης των εκάστοτε εξεταζόμενων taxa (Carranza και συν. 2004, Carranza και συν. 2008, Cox και συν. 2010, Kapli και συν. 2013, Poulakakis και συν. 2003).

Η εκτίμηση του χρόνου απόσχισης διεξήχθη υπό το πλαίσιο της Μπεϋζιανής Συμπερασματολογίας στο πρόγραμμα BEAST v1.6.1 (Drummond & Rambaut 2007). Σε κάθε ανάλυση ο αριθμός των γενεών ορίστηκε σε 10^8 ενώ οι παράμετροι και το τρέχον δέντρο αποθηκεύονταν κάθε 1000 γενεές. Το 10% του συνόλου αγνοήθηκε, ως περίοδος

burn-in. Οι παράμετροι του κάθε μοντέλου ορίστηκαν όπως αναφέρονται παρακάτω, αλλιώς αφέθηκαν στις προκαθορισμένες τους τιμές. Ως μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης για τα γονίδια *cyt b* και *16S rRNA* ορίστηκε το GTR+G (Rodriguez και συν. 1990). Για την εκτίμηση του μοριακού ρολογιού χρησιμοποιήθηκε το Χαλαρό Ασυσχετίστο Λογαριθμοκανονικό Ρολόι (Relaxed Uncorrelated Lognormal Clock) με Yule διαδικασία ειδογένεσης (Yule process of speciation) και τυχαίο δέντρο εκκίνησης. Η αξιολόγηση της σύγκλισης των εκτιμώμενων παραμέτρων, έγινε με τη βοήθεια του προγράμματος Tracer (Rambaut & Drummond 2008). Το δραστικό μέγεθος δείγματος (effective sample sizes, ESSs) όλων των παραμέτρων, ήταν πάνω από 200, τιμή που θεωρείται επαρκές επίπεδο δειγματοληψίας (Rambaut & Drummond 2008). Από τα δέντρα που προέκυψαν καταλήξαμε σε ένα, εκείνο με τη μεγαλύτερη αξιοπιστία των κλάδων (maximum posterior probabilities), με τη βοήθεια του προγράμματος TreeAnnotator v.1.6.1. (Rambaut & Drummond 2008). Στη συνέχεια, υπολογίστηκαν οι ηλικίες και το 95% διάστημα της υψηλότερης πυκνότητας των εκ των υστέρων πιθανοτήτων (95% highest posterior densities, HPD) του καθενός κόμβου. Το συναινετικό δέντρο (Species tree) απεικονίστηκε με τη βοήθεια του προγράμματος FigTree v1.3.1 (Rambaut 2006-2009).

2.2.7. Φυλογενετικές αναλύσεις στο σύνολο των δεδομένων (πυρηνικό και μιτοχονδριακά γονίδια)

Οι ίδιες φυλογενετικές αναλύσεις (MP, ML, BI) που περιγράφηκαν παραπάνω, πραγματοποιήθηκαν και για το σύνολο των δεδομένων, που περιλαμβάνει τόσο το πυρηνικό όσο και τα δύο μιτοχονδριακά γονίδια. Ωστόσο, για τις αναλύσεις του πυρηνικού γονιδίου επιλέχθηκαν και αλληλουχήθηκαν 58 δείγματα, από το σύνολο των 89 δειγμάτων που αλληλουχήθηκαν για τα μιτοχονδριακά γονίδια, με γνώμονα την προσπάθεια κάλυψης της κατανομής των ειδών, με όσο το δυνατόν πιο ομοιόμορφο τρόπο. Λόγω της μη διαθεσιμότητας του γονιδίου *NKTR* στη βάση γενετικών δεδομένων για τα είδη *L. media* και *L. pamphylica*, τα είδη αυτά δεν συμπεριελήφθησαν στις τρέχουσες αναλύσεις. Συνεπώς, χρησιμοποιήθηκαν μόνο τα τέσσερα είδη άμεσου ενδιαφέροντος (*L. trilineata*, *L. viridis*, *L. bilineata* και *L. agilis*), που εξαπλώνονται στην Ελλάδα και των οποίων οι αλληλουχίες ταυτοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία.

Τα μοντέλα εξέλιξης της νουκλεοτιδικής υποκατάστασης που χρησιμοποιήθηκαν, ήταν το HKY+G (Hasegawa-Kishino-Yano) για το πυρηνικό γονίδιο, το οποίο ορίζει ότι η αναλογία μεταπτώσεων προς μεταστροφές είναι ίση με 2 (Hasegawa και συν. 1985) και το GTR+G (σχετική αναφορά έγινε παραπάνω) (Rodriguez και συν. 1990) για τα μιτοχονδριακά γονίδια. Οι υπόλοιπες παράμετροι των τριών αναλύσεων ορίστηκαν όπως περιγράφηκαν προηγουμένως (παράγραφος 2.4).

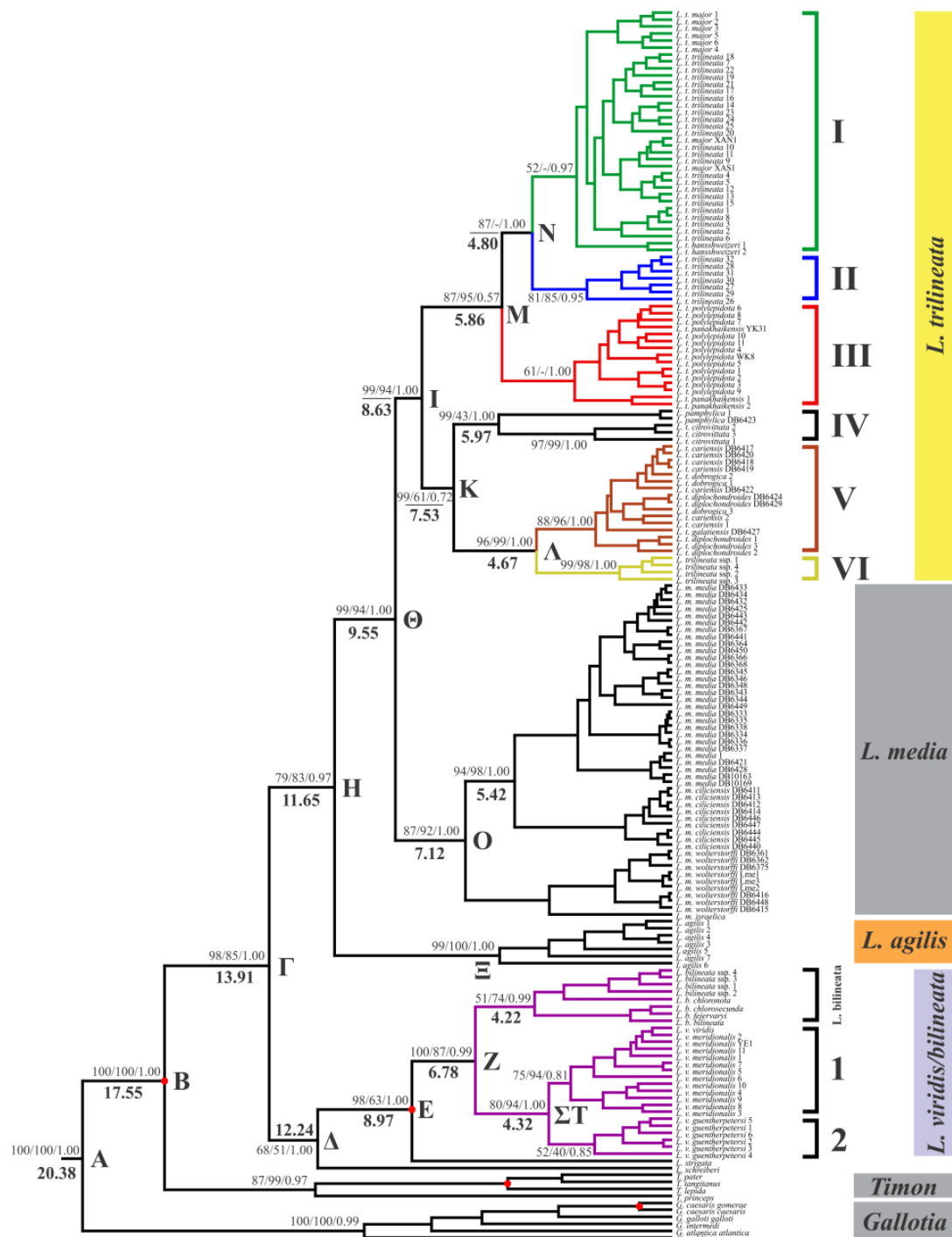
2.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

2.3.1. Γενετικές αποστάσεις με βάση τα μιτοχονδριακά γονίδια

Συνολικά ευθυγραμμίστηκαν 989 ζεύγη βάσεων (429 για το *cyt b* και 560 για το *16S rRNA*), από το σύνολο των 166 δειγμάτων του γένους *Lacerta* που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα φυλογενετική μελέτη. Η ανάλυση των δειγμάτων αυτών αποκάλυψε 305 πολυμορφικές (variable) και 227 πληροφοριακές (informative) θέσεις, σύμφωνα με το κριτήριο της φειδωλότητας. Τα αντίστοιχα νούμερα ανήλθαν σε 385 και 309, όταν στην ανάλυση συμπεριελήφθησαν και τα άτομα των παραομάδων (*Timon* και *Gallotia*).

Οι γενετικές αποστάσεις των υπό εξέταση αλληλουχιών, από την ανάλυση της Σύνδεσης Γειτόνων (Neighbor-Joining, NJ), εκτιμήθηκαν με βάση το μοντέλο των Tamura & Nei (TrN) (1993), με τη βοήθεια του φυλογενετικού προγράμματος MEGA (Kumar και συν. 2004). Στο παρόν κείμενο, για λόγους απλότητας, θα γίνει αναφορά των αποστάσεων μόνο μεταξύ των γενεαλογικών γραμμών του είδους *L. trilineata* (για πληροφορίες για τις γενεαλογικές γραμμές βλ. **εικόνα 2.2**), όπως αυτές καθορίστηκαν με βάση τη γεωγραφική τους προέλευση. Τα αποτελέσματα των γενετικών αποστάσεων, τόσο εντός όσο και μεταξύ των ειδών *Lacerta*, καθώς επίσης και μεταξύ των τελευταίων και των παραομάδων (*Timon* και *Gallotia*), που δεν θα περιγραφθούν εδώ, δίνονται στον **πίνακα 2.2**.

Σε γενικές γραμμές, οι γενετικές αποστάσεις εντός του γένους, για όλους τους ανά δύο συνδυασμούς ειδών, για το *cyt b* κυμαίνονται από 0%, όταν η σύγκριση πραγματοποιείται ανάμεσα σε άτομα του ίδιου είδους ή κοντινών σχετικά πληθυσμών, μέχρι 25,9%, όταν η σύγκριση γίνεται μεταξύ ατόμων διακριτών ειδών. Αντίστοιχα για το *16S rRNA* οι γενετικές αποστάσεις κυμαίνονται από 0% έως 14,3%. Τέλος, όταν στις αναλύσεις συμπεριληφθούν και τα άτομα των παραομάδων (*Timon* και *Gallotia*), οι γενετικές αποστάσεις και για τα δύο μιτοχονδριακά γονίδια προσεγγίζουν το 30%.



Εικόνα 2.2. Σχηματική απεικόνιση του 50% πλειοψηφικής αποδοχής δέντρου (50% majority rule consensus tree) της Μπεϋζιανής ανάλυσης για τα δύο μιτοχονδριακά γονίδια (*cyt b* και *16S rRNA*) που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Οι αριθμοί πάνω στους κλάδους (MP/ML/BI) αντιστοιχούν κατά σειρά στις τιμές bootstrap, ύστερα από 1000 επαναλήψεις για την ανάλυση της Μέγιστης Φειδωλότητας (MP) και 200 επαναλήψεις για την ανάλυση της Μέγιστης Πιθανοφάνειας (ML), ενώ οι τρίτες κατά σειρά τιμές αναφέρονται στις εκ των υστέρων πιθανότητες της Μπεϋζιανής ανάλυσης (BI). Οι έντονοι αριθμοί κάτω από τους κλάδους υποδηλώνουν στους χρόνους απόσχισης, όπως υπολογίστηκαν από την ανάλυση BEAST. Τα κόκκινα σημεία παρουσιάζουν τα σημεία αναφοράς (γνωστοί χρόνοι απόσχισης) βάσει των οποίων πραγματοποιήθηκε η βαθμονόμηση του μοριακού ρολογιού για το γένος *Lacerta*.

Πίνακας 2.2. Γενετικές αποστάσεις (%) μεταξύ των κύριων γεναλογικών γραμμών του γένους *Lacerta* και των προαμάδων (*Timon* και *Gallotia*). Οι τιμές για το *cyt b* (κάτω διαγώνιος) και για το *16S rRNA* (επάνω διαγώνιος) βασίζονται στο εξελικτικό μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης Tamura & Nei (TrN, 1993), υπολογίστηκαν με τη βοήθεια του προγράμματος MEGA v. 5.0.5 (Tamura και συν. 2011). Οι τιμές στη διαγώνιο (με έντονη γραμματοσειρά) αντιστοιχούν στις γενετικές αποστάσεις εντός της κάθε γεναλογικής γραμμής [*cyt b* (16S)]. μ/ν αναφέρεται σε μη υπολογίσιμες τιμές.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Γεναλογική γραμμή	(I)	(II)	(III)	(IV)	(V)	(VI)	(VII)	(VIII)	(IX)	(X)	(XI)	(XII)	(XIII)	(XIV)	(XV)	(XVI)	(XVII)
1. <i>L. agilis</i>	3,2(2,1)	7,6	8,2	7,9	7,5	8,2	7,5	8,4	8,7	8,2	8,5	9,8	8,8	9,0	10,0	13,8	21,9
2. <i>L. trilineata</i> (I)	12,9	1,1(0,5)	1,7	0,5	2,4	2,6	2,8	8,6	9,0	7,9	8,7	2,6	3,9	8,6	12,0	11,9	20,0
3. <i>L. trilineata</i> (II)	11,9	3,6	0,9(0,9)	1,3	2,7	3,2	3,5	8,5	8,9	8,1	8,6	3,2	4,3	8,7	12,0	12,4	20,0
4. <i>L. trilineata</i> (III)	11,7	4,2	4,7	1,8(0,3)	2,6	2,8	3,1	9,3	9,5	8,6	9,4	2,4	4,2	8,9	12,0	11,9	19,9
5. <i>L. trilineata</i> (IV)	11,1	9,0	8,1	8,5	1,8(0,6)	2,3	2,8	8,3	8,9	8,5	9,1	3,0	3,8	9,2	11,0	13,3	20,1
6. <i>L. trilineata</i> (V)	12,2	9,5	8,8	9,1	6,2	1,4(0,2)	1,7	9,9	10,1	8,8	9,6	3,5	4,8	8,6	13,0	13,1	22,3
7. <i>L. trilineata</i> (VI)	11,2	8,9	8,1	9,1	5,6	3,5	0,7(0,5)	9,8	9,8	8,5	9,3	3,9	5,4	8,4	12,0	13,0	21,4
8. <i>L. bilineata</i> ssp.	13,1	18,6	15,3	16,9	15,6	15,8	16,5	2,9(1,5)	1,3	2,8	3,6	12,0	10,2	8,8	8,6	15,0	22,3
9. <i>L. bilineata</i>	12,3	17,1	13,8	15,7	13,4	13,8	14,9	3,0	1,3(2,8)	2,9	3,7	11,8	10,3	8,8	8,8	15,4	23,2
10. <i>L. viridis</i> (I)	12,4	17,2	14,0	15	14,1	14,3	14,9	5,6	6,3	3,1(0,7)	1,3	10,9	9,7	8,2	8,9	14,7	22,8
11. <i>L. viridis</i> (2)	13,0	16,3	15,0	14,3	12,7	12,9	13,3	6,7	6,6	5,8	4,3(1,1)	11,9	10,1	9,2	8,9	15,1	23,0
12. <i>L. pamphylica</i>	11,8	9,7	9,3	9,3	5,7	7,5	6,4	14,7	14,7	13,4	13,4	0,0(0,0)	4,9	9,3	14,0	14,1	22,6
13. <i>L. media</i>	10,2	8,8	8,2	8,6	6,6	7,8	7,4	16,1	14,5	14,7	14,2	7,7	4,7(2,0)	10,0	12,0	13,4	21,4
14. <i>L. schreiberi</i>	17,5	14,4	12,4	14,5	13,7	13,8	14,4	17	16,2	17,1	18,8	15,4	14,62	μ/ν	11,0	14,3	26,4
15. <i>L. strigata</i>	17,5	17,7	17,1	16,7	15,4	15,9	16,8	18,9	17,1	16,3	16,8	17,5	15,4	18,0	μ/ν	18,4	28,9
16. <i>Timon</i>	21,4	20,7	21,1	20,2	21,0	23,5	22,3	21,8	19,9	21,7	21,1	22,6	20,9	23,0	21,0	17,3(8,6)	22,0
17. <i>Gallotia</i>	27,8	28,2	27,8	27,4	25,2	27,7	26,8	26,5	26,5	26,1	26,8	26,0	25,9	29,0	26,0	28,4	13(4,9)

Όσον αφορά τη γενετική διαφοροποίηση που καταγράφηκε εντός του είδους *L. trilineata*, εξαιρετικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι υψηλές τιμές μεταξύ των έξι γενεαλογικών γραμμών (lineages) - που δεν αντιπροσωπεύουν πάντα διαφορετικά υποείδη - (εικόνα 2.2), οι οποίες κυμαίνονται από 3,6% έως 9,5% για το *cyt b*, ενώ για το 16S *rRNA* φτάνουν το 3,5% (πίνακας 2.2). Επιπλέον, σε έλλειψη συμφωνίας με την τρέχουσα μορφολογική ταξινομική κατάσταση του είδους είναι αφενός, οι υψηλές τιμές γενετικών αποστάσεων καταγράφηκαν μεταξύ ορισμένων υποειδών της *L. trilineata*, που στην περίπτωση του κυτοχρώματος β μπορεί να ξεπεράσουν το 10%, και, αφετέρου, οι εξαιρετικά μικρές τιμές γενετικών αποστάσεων που καταγράφηκαν μεταξύ υποειδών που ανήκουν στην ίδια γενεαλογική γραμμή (μικρότερες του 1,5% για το *cyt b*) (παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ2.2).

2.3.2. Γενετικές αποστάσεις με βάση το πυρηνικό γονίδιο

Συνολικά ευθυγραμμίστηκαν 630 ζεύγη βάσεων, για τα 58 υπό μελέτη δείγματα των τεσσάρων ειδών του γένους *Lacerta* της Ελλάδας. Η ανάλυση των δειγμάτων αυτών αποκάλυψε 30 πολυμορφικές και 16 πληροφοριακές θέσεις, σύμφωνα με το κριτήριο της φειδωλότητας. Οι γενετικές αποστάσεις εντός του γένους, για όλους τους ανά δύο συνδυασμούς των δειγμάτων, ήταν σχετικά μικρές και κυμαίνονταν από 0% έως 2,4%, ενώ όταν η σύγκριση πραγματοποιήθηκε ανάμεσα στα τέσσερα είδη οι τιμές αυτές διαμορφώθηκαν από 0,4% έως 1,3%.

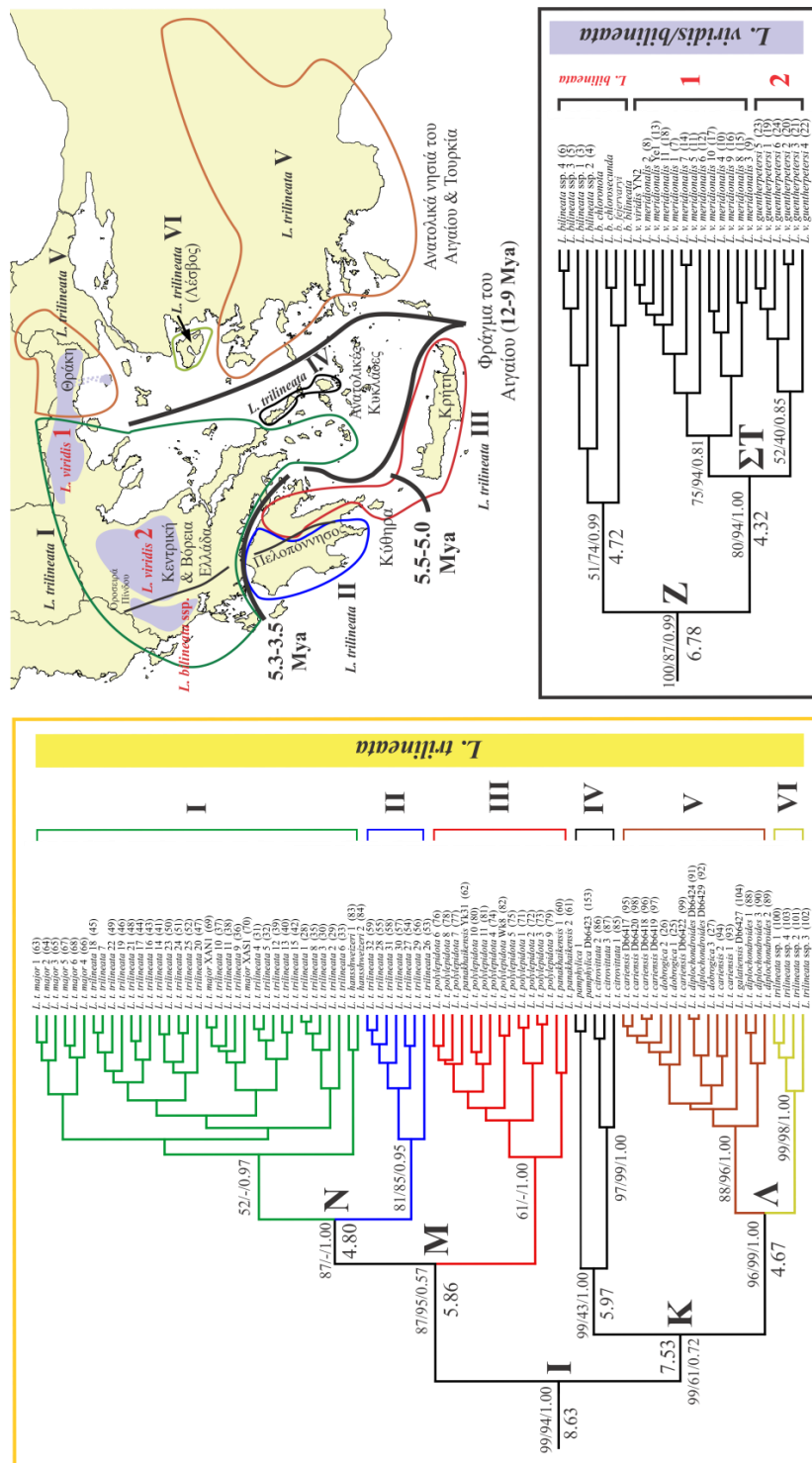
2.3.3. Φυλογενετικές αναλύσεις με βάση τα μιτοχονδριακά γονίδια

Όλες οι φυλογενετικές αναλύσεις που χρησιμοποιήθηκαν (MP, ML, BI) συγκλίνουν σε μία κοινή τοπολογία, η γενική περιγραφή της οποίας δίνεται παρακάτω και απεικονίζεται στην εικόνα 2.2. Όταν γίνεται λόγος για το κατά πόσο διαφέρουν ή όχι οι τοπολογίες των δέντρων, που παρήχθησαν από τις τρεις διαφορετικές αναλύσεις, αναφερόμαστε στην ομοιότητα τους σε επίπεδο γενεαλογικών γραμμών, δηλαδή στους κλάδους Z, ΣΤ, Θ, Ι, Κ, Λ, Μ και Ν. Αναλυτικά, στο φυλογενετικό δέντρο του γένους *Lacerta* αναγνωρίστηκαν τέσσερις μεγάλοι κλάδοι, μια και δεν ελήφθησαν υπ' όψιν οι γενεαλογικές γραμμές των *L. strigata* και *L. schreiberi*, δεδομένου ότι η καθεμία περιλαμβάνει ένα μόνο δείγμα. Οι τέσσερις αυτοί κλάδοι αντιστοιχούν στα έξι

εναπομείναντα διακριτά είδη του γένους *Lacerta*, τα οποία εξαπλώνονται στον χώρο της Ελλάδας και της Τουρκίας (**εικόνα 2.2**). Ο πρώτος κλάδος (κλάδος I της *L. trilineata*) αντιστοιχεί στα είδη *L. trilineata* και *L. pamphylica*, ο δεύτερος (κλάδος O της *L. media*) στο είδος *L. media*, ο τρίτος (κλάδος Ξ της *L. agilis*) στο ομώνυμο είδος *L. agilis*, ενώ ο τέταρτος (κλάδος Z της *L. viridis*) περιλαμβάνει τα είδη *L. viridis* και *L. bilineata*.

Όσον αφορά τον πρώτο κλάδο, της *L. trilineata*, αναγνωρίστηκαν έξι διακριτές γενεαλογικές γραμμές (I-VI), που καταλαμβάνουν ξεχωριστές γεωγραφικές περιοχές στον ελλαδικό χώρο (I: *L. t. major*, *L. t. trilineata* και *L. t. hansschweizeri* από την ηπειρωτική Ελλάδα και τις νοτιοδυτικές Κυκλάδες, II: *L. t. trilineata* από τη δυτική Πελοπόννησο, III: *L. t. polylepidota* και *L. t. panakhaikensis* από την ανατολική Πελοπόννησο και τα νησιά Κρήτη και Κύθηρα, IV: *L. t. citrovittata* από τις ανατολικές Κυκλάδες, V: *L. t. dobrogica*, *L. t. diplochondrodes*, *L. t. cariensis* και *L. galatiensis* από τη Θράκη, τα ανατολικά νησιά του Αιγαίου αρχιπελάγους και την Κεντρική Τουρκία και VI: *L. trilineata* spp. από το νησί της Λέσβου, **εικόνα 2.3**). Το κυριότερο χαρακτηριστικό του κλάδου αυτού, είναι ότι το είδος *L. trilineata* δεν εμφανίζεται μονοφυλετικό αλλά παραφυλετικό, μια και τα δείγματα *L. trilineata* από τις ανατολικές Κυκλάδες (από τα νησιά Άνδρο και Νάξο) σχηματίζουν αδελφή ομάδα με εκείνα της *L. pamphylica* από την περιοχή της Τουρκίας (γενεαλογική γραμμή IV). Παρ' όλα αυτά, ο στατιστικός έλεγχος SH (Shimodaira & Hasegawa 1999) δεν απέρριψε την εναλλακτική υπόθεση που υποστηρίζει τη μονοφυλετικότητα της *L. trilineata* ($P = 0.106$).

Στην περίπτωση του κλάδου της *L. viridis/bilineata* αναγνωρίστηκαν δύο καλά υποστηριζόμενες γενεαλογικές γραμμές. Η πρώτη περιλαμβάνει δείγματα του είδους *L. bilineata* από την βορειοανατολική ηπειρωτική Ελλάδα, ενώ η δεύτερη αντιστοιχεί στο είδος *L. viridis*. Επιπλέον, εντός της *L. viridis* αναγνωρίστηκαν δύο ακόμη ομάδες που ταυτίζονται με τη γεωγραφική κατανομή των δύο διακριτών υποειδών του είδους, που κατανέμονται στην βορειοανατολική (*L. v. meridionalis*, 1) και κεντρική (*L. v. guentherpetersi*, 2) ηπειρωτική Ελλάδα (**εικόνα 2.3**).



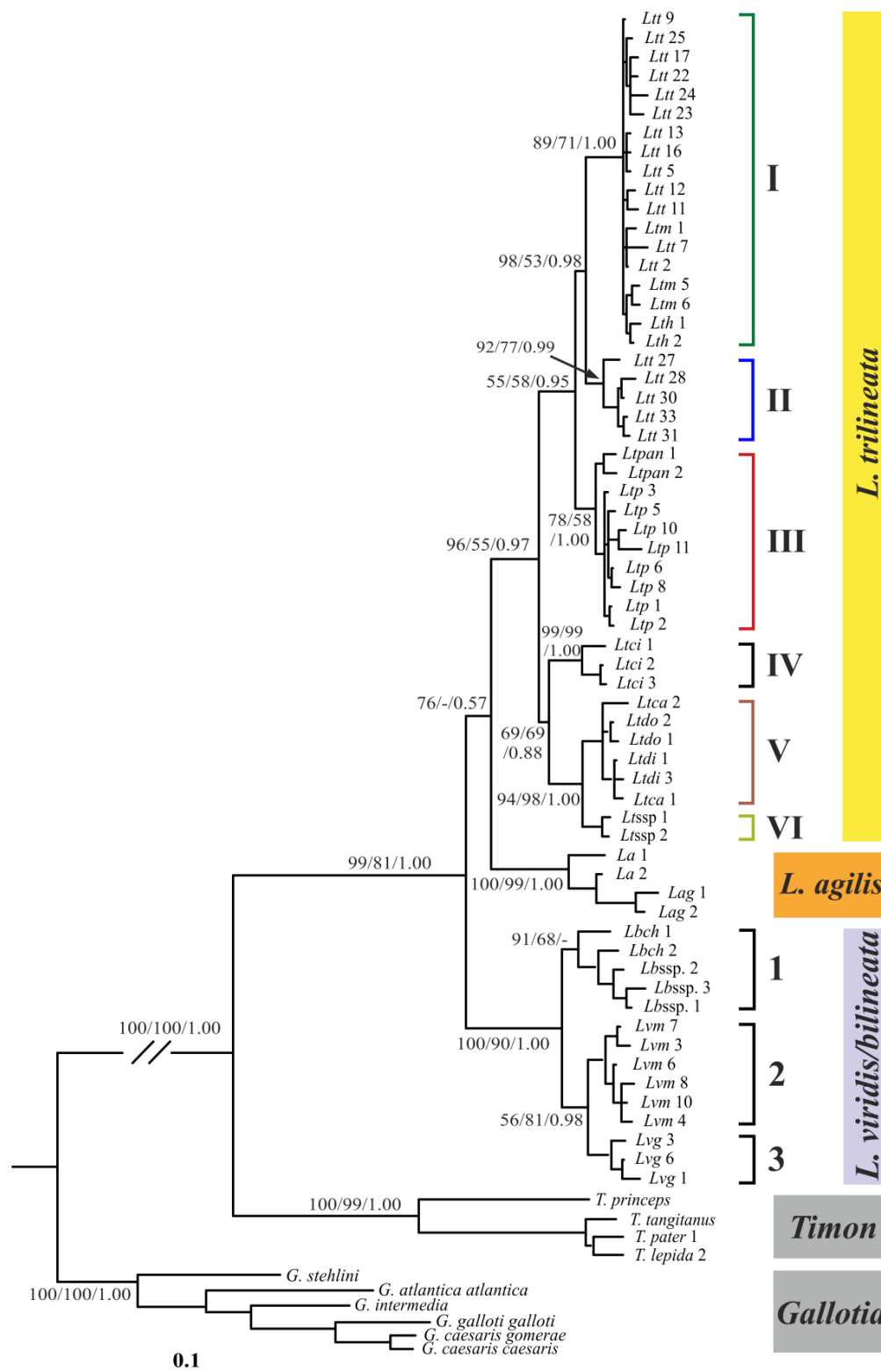
Εικόνα 2.3. Σχηματική απεικόνιση τμήματος του 50% πλειοψηφικού αποδοχής δέντρου της Μπεϋζιανής ανάλυσης της εικόνας 2.2. Στην εικόνα αυτή δίνεται έμφαση στους κλάδους των *L. viridis* και *L. trilineata* και γίνεται αντιστοίχιση των γενεαλογικών γραμμών με τη γεωγραφική τους προέλευση. Ο ενσωματωμένος χάρτης αναπαριστά τα βασικότερα γεγονότα της παλαιογεωγραφίας της περιοχής του Αιγαίου και έχει προκύψει ύστερα από τροποποίηση του χάρτη των Lymberakis & Poulakakis (2010). Οι αριθμοί πάνω στους κλάδους αντιστοιχούν κατά σειρά στις τιμές bootstrap για την ανάλυση της Μέγιστης Φειδωλότητας (MP) και της Μέγιστης Πιθανοφάνειας (ML), ενώ οι τρίτες κατά σειρά τιμές αναφέρονται στις εκ των υστέρων πιθανότητες της Μπεϋζιανής ανάλυσης (BI). Οι αριθμοί κάτω από τους κλάδους υποδηλώνουν στους χρόνους απόσχισης.

2.3.4. Εκτίμηση των χρόνων απόσχισης

Το δραστικό μέγεθος δείγματος (ESS), όλων των παραμέτρων από την ανάλυση BEAST, ήταν ψηλό (τιμές ESS > 1000), υποδηλώνοντας ότι όλες οι αναλύσεις είχαν συγκλίνει, με άλλα λόγια ότι το επίπεδο δειγματοληψίας ήταν επαρκές (Rambaut & Drummond 2008). Με βάση τους χρόνους απόσχισης, η διαφοροποίηση των γενεαλογικών γραμμών των πρασίνων σαυρών (γένος *Lacerta*) στον ελληνικό χώρο ξεκίνησε κατά τη Μέση Μειόκαινο εποχή. Η πρώτη απόσχιση κλάδων αφορά την ομάδα της *L. viridis/bilineata* από τα είδη *L. trilineata* και *L. agilis* (13,91 Mya, κόμβος Γ, **εικόνα 2.2**) και η δεύτερη τον μετέπειτα διαχωρισμό των δύο τελευταίων ειδών, πριν από 11,65 My (κόμβος Η, **εικόνα 2.2**). Τέλος, η διαφοροποίηση εντός των ομάδων της *L. trilineata* (κόμβος Ι) και της *L. viridis/bilineata* (κόμβος Ζ) πραγματοποιήθηκε στα τέλη της Μειόκαινου (8,63 και 6,78 Mya, αντίστοιχα, **εικόνες 2.2 και 2.3**).

2.3.5. Συνδυασμένη ανάλυση των τριών γενετικών τόπων (πυρηνικό και μιτοχονδριακά γονίδια)

Για τη συνδυασμένη φυλογενετική ανάλυση των τριών γονιδίων, χρησιμοποιήθηκε ένα σύνολο 72 διαφορετικών αλληλουχιών, συμπεριλαμβανομένων των παραομάδων και ορισμένων δειγμάτων *Lacerta*, που ανακτήθηκαν από τη βάση δεδομένων της GenBank. Συνολικά ευθυγραμμίστηκαν 1621 ζεύγη βάσεων (bp), εκ των οποίων οι 986 αντιστοιχούν στα δύο μιτοχονδριακά γονίδια και οι 630 στο πυρηνικό γονίδιο. Όλες οι φυλογενετικές αναλύσεις που χρησιμοποιήθηκαν, συνέκλιναν σε μία κοινή τοπολογία, η οποία βρίσκεται σε συμφωνία με εκείνη του μιτοχονδριακού συναινετικού (50% πλειοψηφικής αποδοχής) δέντρου (**εικόνα 2.4**).



Εικόνα 2.4. Σχηματική απεικόνιση του 50% πλειοψηφικής αποδοχής δέντρου της Μπεϋζιανής ανάλυσης για το σύνολο των τριών γονιδίων (*cyt b*, *16S rRNA*, *NKTR*) που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Οι αριθμοί πάνω στους κλάδους (MP/ML/BI) αντιστοιχούν κατά σειρά στις τιμές bootstrap ύστερα 1000 επαναλήψεις για την ανάλυση της Μέγιστης Φειδωλότητας (MP) και 200 επαναλήψεις για την ανάλυση της Μέγιστης Πιθανοφάνειας (ML), ενώ οι τρίτες κατά σειρά τιμές αναφέρονται στις εκ των υστέρων πιθανότητες της Μπεϋζιανής ανάλυσης (BI).

2.4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

2.4.1. Φυλογενετικές σχέσεις του γένους *Lacerta* στην Ελλάδα

Και οι τρεις φυλογενετικές αναλύσεις υποστήριξαν τη μονοφυλετικότητα του γένους *Lacerta*, αναγνωρίζοντας τέσσερις διακριτούς κλάδους, όπου πληθυσμοί από τους τρεις κλάδους κατανέμονται στον ελλαδικό χώρο (**εικόνα 2.2**). Ο πρώτος κλάδος περιλαμβάνει την ομάδα της *Lacerta viridis*, με τα είδη *L. viridis* και *L. bilineata*, ο δεύτερος κλάδος της *Lacerta agilis* περιλαμβάνει το ομώνυμο είδος *L. agilis*, ενώ ο τρίτος της *Lacerta trilineata* περιλαμβάνει το είδος *L. trilineata*.

Από φυλογενετική άποψη, ο κλάδος της *L. trilineata* έχει αδελφή ομάδα τη *L. media*, ενώ η *L. agilis* αποτελεί αδελφή ομάδα στη βάση αυτού του κλάδου (Θ, **εικόνα 2.2**). Το αποτέλεσμα αυτό βρίσκεται σε ασυμφωνία με προηγούμενες μελέτες του γένους, που υποστηρίζουν τη φυλογενετική συγγένεια των ομάδων *L. agilis* και *L. viridis* (Godinho και συν. 2005, Lutz & Mayer 1985). Ωστόσο, επειδή η εναλλακτική υπόθεση, δηλαδή η συγγένεια της *L. agilis* με τη *L. viridis*, δεν απερρίφθη (SH δοκιμασία, $P = 0,086$), υποθέτουμε ότι περισσότερα δείγματα, που θα καλύπτουν ένα μεγάλο εύρος (αν όχι όλο) της εξάπλωσης της *L. agilis*, θα μπορέσουν να δώσουν περισσότερα στοιχεία σχετικά με τη φυλογένεση και τη φυλογεωγραφική της ιστορία.

Όσον αφορά το είδος *L. trilineata*, οι φυλογενετικές σχέσεις που προέκυψαν από τις αναλύσεις της παρούσας εργασίας δεν συνάδουν με την τρέχουσα ταξινομική του. Αντίθετα, εγείρουν νέα ερωτήματα που απαιτούν περαιτέρω διερεύνηση. Τέλος, τα ευρήματα της τρέχουσας εργασίας για την ομάδα της *L. viridis* βρίσκονται σε συμφωνία με εκείνα της μελέτης των Böhme και συν. (2007).

2.4.1.1. Ο κλάδος της *Lacerta viridis/bilineata*

Εντός του κλάδου αυτού, αναγνωρίζονται δύο διακριτές γενεαλογικές γραμμές, που αντιστοιχούν στα δύο είδη *L. viridis* και *L. bilineata*. Εντός του είδους *L. viridis* εντοπίστηκαν ακόμη δύο διακριτές ομάδες (1, 2), με αλλοπάτρια κατανομή (**εικόνα 2.2**) και σχετικά μικρή μεταξύ τους γενετική απόσταση (5,8% για το *cyt b* και 1,3% *16S rRNA*, **πίνακας 2.2**), που ταυτίζονται με τα υποείδη *L. v. meridionalis* (κατανέμεται στην βορειοανατολική ηπειρωτική Ελλάδα και στο νησί της Σαμοθράκης, ομάδα 1) και *L. v. guentherpetersi* (κεντρική Ελλάδα, ομάδα 2). Παρ' όλα αυτά, δεν επιβεβαιώθηκε η

υπόθεση των Böhme και συν. (2007), που υποστήριξε την ύπαρξη μίας τρίτης, επιπλέον, ανεξάρτητης γενεαλογικής γραμμής εντός της *L. viridis* στην περιοχή της Θεσσαλονίκης και των γύρω περιοχών, λόγω της απουσίας δειγμάτων από τις προαναφερθείσες τοποθεσίες.

Η γενετική διαφοροποίηση που καταγράφηκε μεταξύ των ειδών *L. viridis* και *L. bilineata* είναι σχετικά χαμηλή (6,3% για το *cyt b* και 3,2% για το 16S *rRNA*, **πίνακας 2.2**), συγκρινόμενη με εκείνη που έχει καταγραφεί μεταξύ άλλων ειδών *Lacerta* (όπως: ~12% μεταξύ *L. agilis* και *L. trilineata* και ~15,5% μεταξύ *L. trilineata* και *L. bilineata*) (Godinho και συν. 2005). Ωστόσο, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης βρίσκονται σε συμφωνία με προηγούμενες έρευνες (Böehme και συν. 2007, Godinho και συν. 2005). Δεδομένου ότι τα δύο είδη είναι ικανά να υβριδίζουν (Rykena 2001) και η διάκριση τους, με βάση μορφολογικούς χαρακτήρες, είναι σχεδόν αδύνατη (Brückner και συν. 2001, Nettman 2001), η παρατηρούμενη μικρή γενετική απόσταση ήταν μάλλον αναμενόμενη. Λαμβάνοντας υπ' όψιν όλα τα παραπάνω, δεν προκαλεί εντύπωση το γεγονός ότι, συχνά, προηγούμενοι ερευνητές αναφέρονται σε αυτά τα δύο είδη ως ενιαίο είδος (Arnold 2002a, Godinho και συν. 2005). Η υπόθεση αυτή, ενισχύεται περαιτέρω, αν αναλογιστούμε πως η μέση μη διορθωμένη γενετική απόσταση μεταξύ ειδών ερπετών, που ανήκουν στο ίδιο γένος, είναι της τάξης του 13,6%, ενώ στα Lacertidae, συγκεκριμένα, η απόσταση αυτή είναι της τάξης του 11% (Harris 2002).

Τέλος, όσον αφορά τη *L. bilineata* η κατανομή της, από βιογεωγραφική σκοπιά, είναι αμφίβολη. Πιο συγκεκριμένα, η πλειοψηφία των μέχρι σήμερα μελετών υποδηλώνουν ότι η Ιταλική Χερσόνησος (Απέννινα Όρη) είναι το ανατολικότερο άκρο εμφάνισής της (Godinho και συν. 2005, Joger και συν. 2001, Keller & Vassilakaki 2002, Nettman 2001). Εξαίρεση αποτελεί η μελέτη της Böhme και συν. (2007) που, βασισμένη σε μιτοχονδριακά δεδομένα, υποστήριξε την παρουσία του είδους και δυτικά της Οροσειράς της Πίνδου, απορρίπτοντας οποιαδήποτε σενάρια παραφυλίας μεταξύ της *L. viridis* και της *L. bilineata* (βλ. Godinho και συν. 2005). Τα αποτελέσματα της τελευταίας έρευνας βρίσκονται σε πλήρη συνάφεια με αυτά της παρούσας μελέτης. Φαίνεται δηλαδή ότι η μία ξεχωριστή γενεαλογική γραμμή της *L. bilineata* (εφεξής *L. bilineata* ssp., **χάρτης 2.1** και **εικόνα 2.3**) διαφοροποιήθηκε στο Βαλκανικό χώρο δυτικά της Οροσειράς της Πίνδου.

2.4.1.2. Ο κλάδος της *Lacerta trilineata*

Οι φυλογενετικές σχέσεις εντός του κλάδου της *L. trilineata*, που περιλαμβάνει τρία μορφολογικά είδη (*L. media*, *L. trilineata* και *L. pamphylica*), αποκάλυψαν αρκετά ταξινομικά προβλήματα, τόσο σε επίπεδο ειδών όσο και υποειδών, ιδιαίτερα όσον αφορά τους πληθυσμούς του είδους *L. trilineata* που κατανέμονται στον ελλαδικό χώρο. Έτσι, αν και η *L. media* είναι μονοφυλετικό είδος, τα αποτελέσματά μας έδειξαν πως η *L. trilineata* δεν είναι (**εικόνα 2.2**). Συγκεκριμένα, εντός του είδους *L. trilineata* αναγνωρίστηκαν έξι γενεαλογικές γραμμές (I-VI), που μπορούν να χωριστούν σε δύο μεγάλες ομάδες, αλλά με χαμηλή υποστήριξη κλάδων (κόμβοι K και M, **εικόνα 2.3**). Η πρώτη ομάδα (γενεαλογικές γραμμές I, II και III) περιλαμβάνει τους πληθυσμούς που κατανέμονται δυτικά του φράγματος του Αιγαίου (mid-Aegean trench, MAT), δηλαδή στην ηπειρωτική Ελλάδα, στην Πελοπόννησο, στις Κυκλάδες και στην Κρήτη. Αντίθετα, η δεύτερη ομάδα (γενεαλογικές γραμμές IV, V και VI) περιλαμβάνει πληθυσμούς που εξαπλώνονται, τόσο δυτικά του Αιγαίου τόξου (βορειοανατολικές Κυκλάδες) όσο και ανατολικά (Θράκη και νησιά του ανατολικού Αιγαίου).

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, ένα από τα βασικότερα χαρακτηριστικά του κλάδου αυτού είναι η σχέση της *L. trilineata* με τη *L. pamphylica*. Με άλλα λόγια, οι πληθυσμοί της *L. pamphylica* από την νοτιοδυτική Τουρκία εμφανίζονται περισσότερο συγγενικοί με τους πληθυσμούς της *L. trilineata* από τα νησιά Άνδρο και Νάξο (ανατολικές Κυκλάδες), παρά με τους πληθυσμούς της *L. media* και *L. trilineata* που κατανέμονται στα ανατολικά νησιά του Αιγαίου και στην Τουρκία (**εικόνα 2.3**). Παρά το γεγονός ότι η παραμετρική δοκιμασία SH δεν απέρριψε την υπόθεση της μονοφυλετικότητας της *L. trilineata*, τα τελευταία αποτελέσματα υποδηλώνουν ξεκάθαρα την ανάγκη επαναξιολόγησης της υπάρχουσας ταξινομικής κατάστασης του είδους.

Φαινόμενα παραφυλίας (δευτερογενή γονιδιακή ροή μεταξύ απογονικών πληθυσμών/ειδών ενός αρχικού πληθυσμού/είδους) έχουν αναφερθεί σε αρκετά είδη (Funk & Omland 2003 και αναφορές εντός) και μπορούν να αποδοθούν σε τρεις λόγους: (α) εισχώρηση γονιδιώματος (introgressive hybridization), που προκαλείται από διασταυρώσεις μεταξύ διαφορετικών ειδών/taxa (υβριδισμός), που ακολουθούνται από ανάδρομες διασταυρώσεις (backcrossing) υβριδίων με πατρικούς πληθυσμούς, (β) ατελή επιλογή γενεαλογικών γραμμών (incomplete lineage sorting), λόγω πρόσφατων γεγονότων

ειδογένεσης¹ (Pinho και συν. 2008) και (γ) λανθασμένη ταξινόμηση, λόγω της εσφαλμένης ταυτοποίησης, που μπορεί να οφείλεται στη μεγάλη ενδοειδική ποικιλότητα (Funk & Omland 2003). Στην περίπτωση της *L. trilineata* το πρώτο σενάριο φαίνεται αδύνατο, δεδομένης της αλλοπάτριας διασποράς της γενεαλογικής γραμμής IV του είδους *L. trilineata* και της *L. ramphyllica*. Ανάλογα, αν η παρατηρούμενη παραφυλία οφείλεται στην ατελή απόσχιση των γενεαλογικών γραμμών των απλοτύπων που ήταν παρόντες στον κοινό πρόγονο, τότε τα ειδογενετικά συμβάντα, που οδήγησαν στις ξεχωριστές γενεαλογίες, θα πρέπει να συνέβησαν αρκετά πρόσφατα (Pinho και συν. 2008). Με τον τρόπο αυτό, το μιτοχονδριακό γονιδίωμα, που κληρονομήθηκε από τα θυγατρικά είδη, δεν θα είχε προφθάσει ακόμα να συσσωρεύσει ανεξάρτητες αλλαγές (Pinho και συν. 2008). Ωστόσο, ούτε το δεύτερο σενάριο φαίνεται πιθανό, λόγω του ότι η απόκλιση της *L. ramphyllica* από την γενεαλογική γραμμή IV της *L. trilineata* συνέβη 5,97 Mya (Ανώτερη με Κατώτερη Μειόκαινο, **εικόνα 2.3**). Συνεπώς, η πιθανότερη εξήγηση της παρατηρούμενης παραφυλετικότητας, θα πρέπει να αναζητηθεί στη λανθασμένη ταξινόμηση. Η τελευταία υπόθεση έχει επισημανθεί και από προηγούμενους ερευνητές (Ahmadzadeh και συν. 2013b, Schmidtler 1975). Με άλλα λόγια, η παραφυλία των δύο ειδών μπορεί να επιλυθεί επεμβαίνοντας στην τρέχουσα ταξινομική κατάταξη του είδους *L. ramphyllica*, ώστε το τελευταίο να θεωρηθεί υποείδος της *L. trilineata*. Βέβαια, λόγω της μικρής εκπροσώπησης της *L. ramphyllica* στην τρέχουσα ανάλυση, μια και δεν υπάρχουν διαθέσιμες επιπλέον αλληλουχίες στην βάση γενετικών δεδομένων GenBank, προτείνουμε ότι, προτού προχωρήσουμε σε οποιαδήποτε ταξινομική αναθεώρηση, απαιτούνται περαιτέρω δεδομένα, ήτοι μορφολογικά, οικολογικά, φυσιολογικά και γενετικά.

Οι γενετικές αποστάσεις, που καταγράφηκαν ανάμεσα στα άτομα της *L. trilineata* για το γονίδιο του κυτοχρώματος β , είναι αρκετά υψηλές (π.χ. 10,3% μεταξύ των γενεαλογικών γραμμών I και VI, **παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ2.2**) και συγκρίσιμες με εκείνες που έχουν αναφερθεί μεταξύ ειδών *Lacerta* (Böhme και συν. 2007, Crochet και συν. 2004, Godinho και συν. 2005). Για το λόγο αυτό, το ανωτέρω συμπέρασμα περί ταξινομικής αναθεώρησης του είδους ενισχύεται περαιτέρω, ενώ ταυτόχρονα τίθεται και το ερώτημα: Κατά πόσον η *L. trilineata* μπορεί να θεωρείται ένα ενιαίο είδος; Επιπλέον, λαμβανομένου υπ' όψιν του γεγονότος, ότι τα μορφολογικά

¹ Ατελής επιλογή γενεαλογικών γραμμών: Σε γεγονότα πρόσφατης ειδογένεσης, είναι πιθανόν οι δύο αποκλίνουσες μορφές που θα δημιουργηθούν (απόγονοι του προγονικού πληθυσμού) να εξακολουθούν να μοιράζονται ένα μεγάλο μέρος της γενετικής ποικιλότητας του προγονικού πληθυσμού για μακρά χρονική περίοδο. Το γινόμενο αυτό οδηγεί σε πολυ- ή παρα- φυλετικές καταστάσεις, ακόμη και αν και οι πληθυσμοί φτάσουν σε κατάσταση αμοιβαίας μονοφυλετικότητας.

υποείδη της *L. trilineata* δεν αντιπροσωπεύουν μονοφυλετικές ομάδες, καθώς τα δέκα μορφολογικά υποείδη αντιστοιχούν σε έξι γενεαλογικές γραμμές [π.χ. μόνο το υποείδος *L. t. citrovittata* σχηματίζει μονοφυλετική γενεαλογική γραμμή (IV), ενώ το υποείδος *L. t. trilineata* είναι παραφυλετικό σε σχέση με τη *L. t. major*, τη *L. t. hansschweizeri* (I) και τη *L. t. polylepidota* (III)] (εικόνα 2.3 και παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ2.2), είναι προφανές πως αντίστοιχη αναθεώρηση απαιτείται και σε επίπεδο υποειδών.

Τα παραπάνω αποτελέσματα θέτουν υπό αμφισβήτηση την πρακτική αναγνώρισης υποειδών, αλλά και την αναγνώριση τοπικών πληθυσμών ως ξεχωριστών υποειδών, βάσει περιορισμένων χαρακτήρων, είτε αυτοί είναι μορφολογικοί είτε μοριακοί. Πάντως, τα δεδομένα μας υποστηρίζουν την άποψη ότι η *L. trilineata* μπορεί να χωριστεί σε δύο διακριτά είδη. Το πρώτο είδος αντιστοιχεί στην ομάδα των γενεαλογικών γραμμών που κατανέμονται αποκλειστικά δυτικά, ενώ το δεύτερο ανατολικά του φράγματος του Αιγαίου. Προκειμένου όμως να διευκρινιστεί πλήρως το θέμα αυτό, απαιτείται περαιτέρω μορφολογική, οικολογική και φυσιολογική έρευνα.

Λαμβάνοντας υπ' όψιν τις έξι γενεαλογικές γραμμές της *L. trilineata*, καθώς και τις φυλογενετικές τους σχέσεις, οι τοπολογίες των πληθυσμών των ανατολικών Κυκλάδων (IV) και του νησιού της Λέσβου (VI), παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον (εικόνα 2.3). Αν και η γενεαλογική γραμμή IV, γεωγραφικά, βρίσκεται δυτικά του MAT, εμφανίζεται περισσότερο συγγενική με τις γενεαλογικές γραμμές των νησιών του ανατολικού Αιγαίου και της Τουρκίας, υποδηλώνοντας μία περίπλοκη βιογεωγραφική ιστορία (σχετική αναφορά γίνεται στη συνέχεια). Επιπλέον, τα δείγματα της *L. trilineata*, από το νησί της Λέσβου (VI), σχηματίζουν μία μονοφυλετική ομάδα, με σχετικά υψηλή γενετική διαφοροποίηση (για το *cyt b*: 3,5 – 5,6% και για το 16S: 1,7 – 2,8%, πίνακας 2.2), η οποία είναι συγκρίσιμη με τις γενετικές αποστάσεις των υπολοίπων πληθυσμών των νησιών του ανατολικού Αιγαίου (V) (για επιπρόσθετες συγκρίσεις μεταξύ των γνωστών υποειδών και της γενεαλογικής γραμμής VI βλ. παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ2.2). Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ότι ο πληθυσμός της Λέσβου μπορεί να αποτελεί μία ακόμη περίπτωση κρυπτικής μορφής της *L. trilineata* και θα μπορούσε να θεωρηθεί ξεχωριστό υποείδος (εφεξής *L. trilineata* ssp.). Η ύπαρξη άλλωστε κρυπτικών ειδών σε ερπετά και αμφίβια στην περιοχή της Ανατολίας, αλλά και σε άλλα taxa, που παρουσιάζουν συνεχή γεωγραφική κατανομή, έχει επιβεβαιωθεί και από τα αποτελέσματα προηγούμενων μελετών (*Ophisops elegans*, *Pelophylax* spp., *Typhlops vermicularis*; Akin και συν. 2010, Kornilios και συν. 2011, Kornilios και συν. 2012, Kyriazi και συν. 2008).

Προκειμένου όμως να διατυπωθεί μία ορθή υπόθεση για την ιστορία της γενεαλογικής γραμμής IV, θα ήταν σκόπιμο να προστεθούν επιπλέον δείγματα από τις βορειοδυτικές περιοχές της Τουρκίας.

2.4.2. Φυλογεωγραφία του γένους *Lacerta* στη νότια Βαλκανική Χερσόνησο

Απαραίτητη προϋπόθεση, προκειμένου να προταθεί ένα ισχυρό βιογεωγραφικό σενάριο για μία ταξινομική ομάδα, είναι οι αξιόπιστες φυλογενετικές σχέσεις των taxa που την απαρτίζουν (Knowles & Maddison 2002). Ως εκ τούτου, είναι πιθανόν ότι, όταν και τα υπόλοιπα είδη *Lacerta*, που είτε δεν μελετήθηκαν στα πλαίσια της διατριβής αυτής είτε εκπροσωπήθηκαν με μικρό δείγμα, συμπεριληφθούν σε μελλοντική βιογεωγραφική ανάλυση, θα προκύψει ένα σενάριο με πιο ισχυρή στατιστική υποστήριξη. Για το λόγο αυτό, στη μετέπειτα συζήτηση θα γίνει εκτενής αναφορά της ιστορικής βιογεωγραφίας μόνον όσον αφορά το είδος *L. trilineata*, ενώ σε μικρότερο βαθμό θα πραγματοποιηθεί συζήτηση για τα είδη *L. viridis* και *L. bilineata*.

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, η πρώτη απόσχιση των πράσινων σαυρών, που κατανέμονται στον ελλαδικό χώρο, συνέβη κατά τη διάρκεια της Μέσης Μειόκαινου (13,91 Mya, κόμβος Γ, **εικόνα 2.2**), οδηγώντας στο διαχωρισμό της ομάδας *viridis/bilineata* από τους κλάδους των *L. agilis* και *L. trilineata*. Το επόμενο μεγάλο κλαδογενετικό συμβάν, που έλαβε χώρα στην Κατώτερη Μειόκαινο (11,65 Mya, κόμβος Η, **εικόνα 2.2**), οδήγησε στο διαχωρισμό των κλάδων της *L. agilis* και *L. trilineata*. Οι τελευταίες εκτιμήσεις βρίσκονται σε συμφωνία με τα ευρήματα της μελέτης των Yablokov και συν. (1981), που πρότεινε ότι ο πρόγονος της *L. agilis* εμφανίστηκε στην περιοχή του Καυκάσου την Κατώτερη Μειόκαινο (Kalyabina και συν. 2001).

2.4.2.1. Ο κλάδος της *Lacerta viridis/bilineata*

Η εξελικτική ιστορία της ομάδας αυτής στο χώρο της Ελλάδας, άρχισε την Ανώτερη Μειόκαινο (6,78 Mya, κόμβος Ζ, **εικόνα 2.3**), με την απόσχιση των κλάδων της *L. viridis* και *L. bilineata*. Η χρονολογία αυτή έρχεται σε συμφωνία με εκείνη που εκτιμήθηκε από απολιθώματα της προγονικής μορφή της *Lacerta cf. viridis* (Ανώτερη Μειόκαινο) στις περιοχές Polgárdi 4 της Ουγγαρίας (Venczel 2006) και Kohfidisch της Αυστρίας (Tempfer 2005). Σχεδόν δυόμιση εκατομμύρια χρόνια αργότερα, ένα επόμενο γεγονός απόσχισης

οδήγησε στη δημιουργία των δύο γεωγραφικά διακριτών γενεαλογικών γραμμών της *L. viridis* στην Ελλάδα: τη *L. v. meridionalis* και τη *L. v. guentherpetersi* (ομάδες 1 και 2 αντίστοιχα στην **εικόνα 2.3**).

Όσον αφορά το είδος *L. viridis*, προηγούμενες μελέτες έχουν υποστηρίξει ότι η προέλευση και η διαφοροποίησή του ξεκίνησε από μία πλούσια σε καταφύγια και μικρογεωγραφικά πρότυπα περιοχή των νοτίων Βαλκανίων (Böhme και συν. 2007, Godinho και συν. 2005). Η απουσία άλλωστε του είδους αυτού από την Ανατολία, σε συνδυασμό με την νότιο-κεντροευρωπαϊκή του εξάπλωση, εισηγούνται την προέλευση του από περιοχές της νότιας Μεσογείου. Οι διάφορες ορογενετικές διαδικασίες που συνέβησαν στην ηπειρωτική Ελλάδα (όπως οι σχηματισμοί των οροσειρών της Πίνδου, από τη νότια Αλβανία μέχρι την βορειοδυτική Ελλάδα, και της Ροδόπης, στην περιοχή της Μακεδονίας), φαίνεται να έπαιξαν καθοριστικό ρόλο στο σχηματισμό απομονωμένων καταφυγίων. Στα καταφύγια αυτά θα ήταν δυνατόν να λάβουν μέρος γεγονότα ειδογένεσης (Hughes 2004), ενώ τα ίδια θα μπορούσαν να διαδραματίσουν επιπλέον, σημαντικό, ρόλο στην εξάπλωση της προγονικής μορφής της *L. viridis* και στην υπόλοιπη Ευρώπη. Ένα τέτοιο σενάριο, μπορεί να εξηγήσει την αλλοπάτρια κατανομή και τη διαφοροποίηση των δύο γενεαλογικών γραμμών του κλάδου της *L. viridis* στο χώρο της Ελλάδας, αλλά και τη μετέπειτα εξάπλωση του είδους αυτού στην Ευρώπη (βλ. Böhme και συν. 2007, Godinho και συν. 2005).

Αναφορικά με το είδος *L. bilineata*, η μικρή εκπροσώπησή του στην παρούσα μελέτη, θέτει δυσκολίες στο να προταθεί ένα ισχυρό και αξιόπιστο βιογεωγραφικό σενάριο. Έτσι, οποιαδήποτε ερμηνεία θα πρέπει να γίνει με ιδιαίτερη προσοχή. Στο παρελθόν έχουν προταθεί δύο υποθέσεις για τη διαφοροποίηση της *L. bilineata*. Η πρώτη υπόθεση ειδογένεσης υποστηρίζει ότι η *L. bilineata* κατάγεται από κεντρικούς και βόρειους πληθυσμούς της *L. viridis*. Οι αρχικοί αυτοί πληθυσμοί απομονώθηκαν, εξαιτίας κάποιου φράγματος που περιόρισε την κατανομή της προγονικής μορφής της *L. viridis*, οδηγώντας τελικά τη διαφοροποίησή της - στο είδος που σήμερα αναγνωρίζεται ως *L. bilineata* - στη Χερσόνησο των Απεννίνων (Godinho και συν. 2005). Εναλλακτικά, η δεύτερη υπόθεση υποστηρίζει ότι η προγονική μορφή της *L. bilineata* διαφοροποιήθηκε σε δύο απομακρυσμένες περιοχές καταφυγίων, μία στα Απέννινα Όρη και μία στα νότια Βαλκάνια (Οροσειρά της Πίνδου) (Böhme και συν. 2007).

Η ελλιπής συνάφεια μεταξύ των δύο σεναρίων έγκειται στο γεγονός πως οι Godinho και συν. (2005) (πρώτη υπόθεση) υπέθεσαν πως οι πληθυσμοί των πράσινων σαυρών από τη δυτική πλαγιά των Δαλματικών Όρων (Κροατία) και οι πληθυσμοί της Οροσειράς της

Πίνδου (Ελλάδα) αντιπροσωπεύουν και οι δύο το είδος *L. viridis*. Αντίθετα, οι Böhme και συν. (2007) υποστήριξαν (δεύτερη υπόθεση) ότι οι πληθυσμοί δυτικά της Οροσειράς της Πίνδου αντιπροσωπεύουν το είδος *L. bilineata*. Δεδομένου όμως ότι οι εναλλακτικές υποθέσεις είναι πολλές, αλλά και ότι η ταξινομική κατάσταση των ειδών αυτών δεν είναι πλήρως αποσαφηνισμένη, απαιτούνται περισσότερα δείγματα και αναλύσεις, προκειμένου να αξιολογήσουμε σωστά τη φυλογεωγραφική ιστορία αυτών των δύο taxa στη νότια Ευρώπη.

2.4.2.2. Ο κλάδος της *Lacerta trilineata*

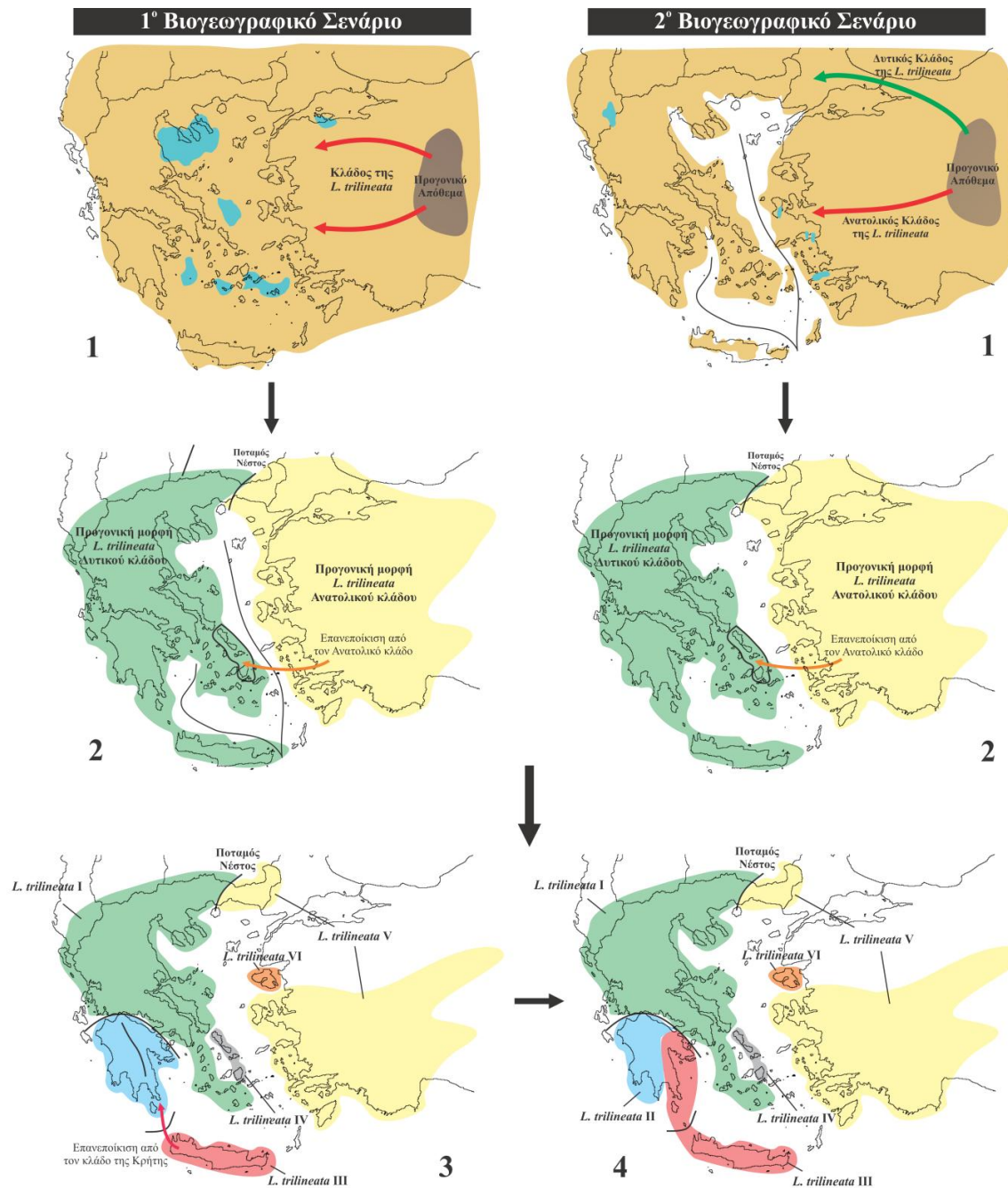
Η πολύπλοκη γεωλογική ιστορία της Ανατολικής Μεσογείου και ιδιαίτερα της περιοχής του Αιγαίου, έχει επηρεάσει τη βιογεωγραφική ιστορία πληθώρας χερσαίων σπονδυλωτών και ασπονδύλων (Lymberakis & Poulakakis 2010 και αναφορές εντός). Ένα από τα μεγαλύτερα γεωλογικά γεγονότα της περιοχής, που συνέβη στο οριακό μεσοδιάστημα μεταξύ της Σερραβάλλιου και της Τορτόνιου (12 – 9 Mya), είναι ο σχηματισμός του φράγματος του Αιγαίου (εικόνα 2.3) από την έντονη διάρρηξη της Αιγαίδος, με την εισχώρηση της θάλασσας στο χώρο μεταξύ της σημερινής Κρήτης και της Κάσου-Καρπάθου προς το βορρά έως την περιοχή του βόρειου Αιγαίου (Creutzburg 1963, Dermitzakis & Papanikolaou 1981). Ο σχηματισμός αυτός προκάλεσε τον διαχωρισμό των νησιών του Ανατολικού Αιγαίου από την υπόλοιπη δυτική Ελλάδα.

Σε αντίθεση με τον κλάδο της *Lacerta viridis*, που προήλθε και διαφοροποιήθηκε στη περιοχή των Βαλκανίων, ο κλάδος της *Lacerta trilineata* προήλθε και διαφοροποιήθηκε στη δυτική Ανατολία (Ahmadzadeh και συν. 2013b). Από τα τρία είδη (*L. trilineata*, *L. media*, *L. pamphylica*) που συγκροτούν αυτόν τον κλάδο, μόνο η προγονική μορφή της *L. trilineata* διεσπάρη από την Τουρκία, εποικίζοντας τον τότε χώρο της Ελλάδας. Υποθέτουμε, ωστόσο, ότι η παρουσία της προγονικής μορφής της *L. viridis* στα βόρεια Βαλκάνια και στην κεντρική Ευρώπη, συνετέλεσε στον περιορισμό της εξάπλωσης της *L. trilineata* αποκλειστικά στο χώρο των νοτίων Βαλκανίων. Συνεπώς, μολονότι συμφωνούμε με την εργασία των Ahmadzadeh και συν. (2013b), όσον αφορά την καταγωγή του κλάδου της *L. trilineata*, τα αποτελέσματά μας αποκάλυψαν ένα τελείως διαφορετικό σενάριο ειδογένεσης, που βρίσκεται σε συμφωνία με τα παλαιογεωγραφικά γεγονότα της περιοχής του Αιγαίου (συνοπτικά, η παλαιογεωγραφική εξέλιξη του Αιγαίου κατά τη διάρκεια της Ανώτερης Τριτογενούς και της Τεταρτογενούς αναπαρίσταται στους έξι παλαιογεωγραφικούς χάρτες της εικόνας 2.1). Αναλυτικά, τα ευρήματά μας

υποστηρίζουν ότι το πρώτο ειδογενετικό συμβάν έλαβε χώρα την Ανώτερη Τορτόνιο (κλάδος Θ, 9,55 Mya), οδηγώντας στο σχηματισμό της *L. trilineata* (Βαλκάνια και ανατολική Τουρκία) και της *L. media* (κεντρική και δυτική Ανατολία). Αντίθετα, οι Ahmadzadeh και συν. (2013b) υποστήριξαν ότι η απόσχιση του κλάδου αυτού πραγματοποιήθηκε κατά τη διάρκεια της Πλειοκαίνου, δηλαδή στα 4 Mya. Η αιτία των δύο αντικρουόμενων αποτελεσμάτων θα πρέπει να αναζητηθεί στη μικρή αντιπροσώπευση απλοτύπων (6 δείγματα) του είδους *L. trilineata* δυτικά του φράγματος του Αιγαίου από τους τελευταίους ερευνητές.

Λαμβάνοντας υπ' όψιν τη γεωλογική ιστορία της Ελλάδας, το πρότυπο των φυλογενετικών σχέσεων της *L. trilineata* στην περιοχή του Αιγαίου [δηλαδή ο διαχωρισμός των δυτικών (I, II και III) και ανατολικών (IV, V και VI) γενεαλογικών γραμμών], θα μπορούσε να είναι το αποτέλεσμα δύο διαφορετικών βιογεωγραφικών σεναρίων (εικόνα 2.5). Όμως, σε κάθε μία περίπτωση, η ιστορία της *L. trilineata* στον ελλαδικό χώρο άρχισε όταν δυνητικά είχε αρχίσει και πιθανά ολοκληρωθεί η διάνοιξη του φράγματος του Αιγαίου, η περίφημη μεσοαιγαιακή αύλακα (Creutzburg 1963), η οποία διέκοψε τη χερσαία επικοινωνία των περιοχών του ανατολικού Αιγαίου με τις περιοχές της δυτικής Ελλάδας.

Το πρώτο σενάριο (σενάριο βικαριανισμού) υποστηρίζει μια μακρά ιστορία του είδους *L. trilineata*, του οποίου η προγονική μορφή εποίκησε την περιοχή της Ελλάδας, πριν τον πλήρη σχηματισμό της αύλακος του Αιγαίου (~9 Mya). Τελικά, η ολοκλήρωση της διάνοιξης αυτής απέτρεψε τη μετέπειτα γονιδιακή ροή μεταξύ των πληθυσμών της ανατολικής και δυτικής Ελλάδας, οδηγώντας στη δημιουργία των δύο διακριτών ομάδων γενεαλογικών γραμμών όπως τις αναγνωρίζουμε σήμερα (I, II και III στα δυτικά και IV, V και VI στα ανατολικά). Εντός της κάθε ομάδας κάποια άλλα βικαριανιστικά γεγονότα (όπως η απομόνωση της Κρήτης από την υπόλοιπη ηπειρωτική Ελλάδα πριν από 5 – 5,5 My και ο διαχωρισμός της Πελοποννήσου από την κεντρική ηπειρωτική Ελλάδα στο Πλειόκαινο, βλ. **εικόνα 2.1**), καθώς και γεγονότα διασποράς, συνέβαλαν στο σημερινό πρότυπο κατανομής των γενεαλογικών γραμμών της *L. trilineata* (λεπτομερής ανάλυση των συμβάντων αυτών γίνεται παρακάτω). Αντίστοιχο βιογεωγραφικό σενάριο έχει προταθεί και για τη σύγχρονη κατανομή άλλων ειδών σαυρών στην περιοχή του Αιγαίου (*Ophiomorus punctatissimus*, Poulakakis και συν. 2008), ενώ αναφέρονται και αρκετά συχνά στη διεθνή επιστημονική βιβλιογραφία (*Rana catesbeiana* στη Βόρεια Αμερική: Austin και συν. 2003, *Gallotia* στα Κανάρια Νησιά: Cox και συν. 2010, *Apathya* στην κεντρική και ανατολική Τουρκία: Kaplı και συν. 2013).



Εικόνα 2.5. Σχηματική απεικόνιση των δύο εναλλακτικών βιογεωγραφικών σεναρίων που προτάθηκαν για την ερμηνεία του προτύπου κατανομής των γενεαλογικών γραμμών του είδους *L. trilineata*. Από τα δύο αυτά σεναρία, το πρώτο φαίνεται να είναι το επικρατέστερο, προκειμένου να ερμηνεύσει τα πρότυπα κατανομής, ενώ συμπίπτει και με την ολοκλήρωση του σχηματισμού του φράγματος του Αιγαίου. Τα στάδια 3 και 4 είναι ταυτόσημα και για τα δύο προτεινόμενα βιογεωγραφικά σεναρία.

Το δεύτερο βιογεωγραφικό σενάριο (σενάριο διασποράς) υποστηρίζει έναν πιο πρόσφατο εποικισμό του τότε ελλαδικού χώρου από την προγονική μορφή της *L. trilineata*, ύστερα, δηλαδή, από το σχηματισμό του φράγματος του Αιγαίου. Με βάση το δεύτερο σενάριο, η προγονική μορφή θα πρέπει να ακολούθησε δύο διαφορετικές

διαδρομές, από την Ανατολία προς την Ελλάδα. Αρχικά, η πρώτη ομάδα του προγονικού αποθέματος, ακολουθώντας μια διαδρομή από τη Μικρά Ασία, έφτασε στη σημερινή περιοχή της Θράκης και από εκεί εποίκισε την υπόλοιπη ηπειρωτική Ελλάδα, δίνοντας γένεση στη δυτική ομάδα της *L. trilineata* (εικόνα 2.5). Λίγο αργότερα, μία δεύτερη ομάδα, από το ίδιο προγονικό απόθεμα, ακολουθώντας μια διαδρομή προς τα παράλια της Τουρκίας εποίκισε τη δυτική Τουρκία και τα σημερινά ανατολικά νησιά του Αιγαίου, που εκείνη την περίοδο ήταν ενωμένα με τα παράλια της Τουρκίας. Τελικά, η δεύτερη ομάδα διαφοροποιήθηκε στις περιοχές ανατολικά του MAT, δημιουργώντας τη σημερινή ανατολική ομάδα γενεαλογικών γραμμών της *L. trilineata* (εικόνα 2.5). Αντίστοιχα αποτελέσματα έχουν βρεθεί και για το είδος *Ablepharus kitaibelii* (Poulakakis και συν. 2005a). Αν και τα δύο σενάρια φαίνονται εξ ίσου πιθανά, η απόσχιση της δυτικής (I, II, III) και της ανατολικής (IV, V, VI) ομάδας γενεαλογικών γραμμών, η οποία συμπίπτει με την ολοκλήρωση του σχηματισμού του φράγματος του Αιγαίου, υποδηλώνει ότι το πρώτο σενάριο ερμηνεύει καλύτερα το σημερινό πρότυπο διαφοροποίησης και κατανομής της *L. trilineata* στο χώρο της Ελλάδας. Επιπλέον, ο ποταμός Νέστος και η οροσειρά της Ροδόπης, που διασχίζουν τη Βουλγαρία και τη δυτική Θράκη, πιθανά δημιούργησαν ένα μεταγενέστερο φυσικό φράγμα, που περιόρισε την κατανομή των ανατολικών απλοτύπων της *L. trilineata* προς τη δυτική Ελλάδα, γεγονός που έχει υποστηριχθεί από τα αποτελέσματα και άλλων φυλογενετικών μελετών για άλλα είδη σπονδυλωτών, ερπετών ή μη, όπως τα *Lepus europaeus* (Kasapidis και συν. 2005b), *Pelophylax* spp. (Lymberakis και συν. 2007) και *A. kitaibelii* (Poulakakis και συν. 2005a).

Εντός της ομάδας των ανατολικών γενεαλογικών γραμμών, ο διαχωρισμός του πληθυσμού του νησιού της Λέσβου εμφανίζει εξαιρετικό ενδιαφέρον. Δυστυχώς, πέραν του γεγονότος ότι τα ανατολικά νησιά του Αιγαίου ήταν ενωμένα με τα παράλια της Τουρκίας (Perissoratis & Conispoliatis 2003) από τα τέλη της Πλειστόκαινου μέχρι τις αρχές της Ολόκαινου (0,012 Mya), δεν υπάρχουν επιπλέον παλαιογεωγραφικά στοιχεία που να μπορούν να ερμηνεύσουν τη σχέση της γραμμής της Λέσβου με τις γενεαλογικές γραμμές IV και V. Ως εκ τούτου, η απόσχιση της γενεαλογικής γραμμής VI, κατά τη διάρκεια της Ανώτερης Πλειοκαίνου (4,67 Mya, κόμβος Λ), φαίνεται να μη μπορεί να εξηγηθεί με βάση τη γνωστή παλαιογεωγραφική ιστορία της περιοχής. Παρ' όλα αυτά, η απουσία δειγμάτων *L. trilineata* από τις βορειοδυτικές περιοχές της Τουρκίας, πιθανότατα να αποκρύπτει την φυλογεωγραφική ιστορία της γραμμής VI. Είναι πιθανόν οι πληθυσμοί της βορειοδυτικής Τουρκίας να αποτελούν μία ξεχωριστή γενεαλογική γραμμή, που να συμπίπτει με εκείνη του πληθυσμού της Λέσβου και ο εποικισμός του νησιού να

πραγματοποιήθηκε σχετικά πρόσφατα από την Τουρκική γενεαλογική γραμμή. Πάντως, το σενάριο αυτό θα παραμείνει μία υπόθεση έως ότου δείγματα από τη βορειοδυτική Τουρκία συμπεριληφθούν σε μελλοντική φυλογεωγραφική μελέτη του είδους.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει, εκτός των άλλων, και η φυλογενετική θέση των τριών δειγμάτων *L. trilineata* που συλλέχθηκαν από τις βορειοανατολικές και κεντρικές Κυκλάδες (Άνδρος, Νάξος). Βάσει της γεωγραφίας της περιοχής, θα αναμέναμε οι πληθυσμοί της Άνδρου και της Νάξου (γενεαλογική γραμμή IV) να εμφανίζονται περισσότερο συγγενικοί με εκείνους των υπολοίπων Κυκλάδων και της ηπειρωτικής Ελλάδας. Παρ' όλα αυτά, κάτι τέτοιο δε φαίνεται να συμβαίνει. Αντίθετα, η γενεαλογική γραμμή IV έχει αδελφή σχέση, αλλά με χαμηλή υποστήριξη, με εκείνες των νησιών του ανατολικού Αιγαίου, της Θράκης και της Τουρκίας (V και VI, **εικόνα 2.3**). Παρόμοιο φυλογενετικό πρότυπο, που υποδηλώνει τη σχέση των Κυκλάδων και της Ανατολίας, έχει αναφερθεί και για άλλα taxa της περιοχής του Αιγαίου (~6 Mya, *Cyrtopodion kotschyi*, Kasapidis και συν. 2005a, ~8 Mya, *Mesobuthus gibbosus*, Parmakelis και συν. 2006). Τούτο το απροσδόκητο φυλογεωγραφικό πρότυπο θα μπορούσε να εξηγηθεί με τρεις τρόπους: Είτε με μεταφορά από τον άνθρωπο (human translocation), είτε με διασπορά μέσω θαλάσσης (overseas dispersal) είτε μέσω γεωδιασποράς (geodispersal) από την περιοχή της Ανατολίας. Η διαφοροποίηση της γενεαλογικής γραμμής IV από τις υπόλοιπες ανατολικές γραμμές, χρονολογείται στα 5,97 Mya (τέλη Μειόκαινου, κόμβος K), υποδηλώνοντας ότι κάθε σενάριο ανθρωπογενούς μεταφοράς ήταν αδύνατο να συμβεί. Αντίθετα, η χρονολογία αυτή συμπίπτει με την κρίση αλατότητας της Μεσσηνίου (Messinian Salinity Crisis, MSC), όπου η στάθμη των νερών της Μεσογείου υποχώρησε σε τέτοια επίπεδα, ώστε φαινόμενα διασποράς μεταξύ νησιών και ηπειρωτικής Ελλάδας ήταν αρκετά πιθανό να συμβούν. Η τελευταία υπόθεση έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα προηγούμενων φυλογεωγραφικών μελετών σε ερπετά, που υποστηρίζουν ότι τα *Podarcis erhardii*, *A. kitaibelii* και *P. bedriagae* πέρασαν το MAT, μέσω διασποράς (θαλάσσης ή γεωδιασποράς), χωρίς την βοήθεια του ανθρώπου (Lymberakis και συν. 2007, Poulakakis και συν. 2003, Poulakakis και συν. 2005a).

Τέλος, όσον αφορά τις δυτικές γενεαλογικές γραμμές (I, II και III, **εικόνα 2.3**), η σύγχρονη κατανομή τους μπορεί να εξηγηθεί με ένα συνδυασμό παλαιογεωγραφικών ιστορικών συμβάντων και φαινομένων διασποράς (ακολουθώντας το μονοπάτι της Κρήτης, των Κυθήρων και της ανατολικής Πελοποννήσου, βλ. **εικόνα 2.5**). Αρχικά, ο αποχωρισμός της Κρήτης από την Πελοπόννησο (πρώτο βικαριανιστικό συμβάν), στο τέλος της κρίσης αλατότητας της Μεσσηνίου (από τα 5,5 μέχρι τα 5 Mya, Schüle 1993),

οδήγησε στη δημιουργία της γενεαλογικής γραμμής III της Κρήτης (βάσει των μοριακών δεδομένων η ηλικία της ανέρχεται στα 5.86 εκατομμύρια χρόνια, βλ. **εικόνα 2.3**). Ο μετέπειτα σχηματισμός ενός δεύτερου φράγματος, που συνετέλεσε στην απομόνωση της Πελοποννήσου από την υπόλοιπη ηπειρωτική Ελλάδα (από τα 5,3 μέχρι τα 3,5 Mya, Dermitzakis 1990), έδωσε γένεση στη σημερινή γενεαλογική γραμμή II (δυτική Πελοπόννησος).

Στην περίπτωση της γραμμής II, τα αποτελέσματα εμφάνισαν περίπλοκες φυλογενετικές σχέσεις, με τους πληθυσμούς της δυτικής Πελοποννήσου να διαφοροποιούνται από εκείνους της ανατολικής και με τους τελευταίους να εμφανίζονται πιο συγγενικοί με τις σαύρες των Κυθήρων, που βρίσκεται στο χώρο μεταξύ Κρήτης και Πελοποννήσου, και τους πληθυσμούς της Κρήτης (γενεαλογική γραμμή της Κρήτης, III). Δεδομένου όμως ότι, πρώτον, η Κρήτη απομονώθηκε από την Πελοπόννησο τουλάχιστον πριν από 5,5 με 5 εκατομμύρια χρόνια και δεύτερον, ολόκληρο το νησί των Κυθήρων υποβυθίστηκε κατά τη διάρκεια της Πλειόκαινου (Meulenkamp 1985) (**εικόνα 2.1**), η χαμηλή γενετική διαφοροποίηση ανάμεσα στους πληθυσμούς της Κρήτης, των Κυθήρων και της ανατολικής Πελοποννήσου παρουσιάζει ενδιαφέρον. Φαίνεται ότι οι φυλογενετικές σχέσεις αυτών των τριών πληθυσμών, αλλά και το πρότυπο γεωγραφικής κάλυψης της γενεαλογικής γραμμής III, είναι αποτέλεσμα είτε ανθρωπογενούς μεταφοράς, είτε πρόσφατης διασποράς μέσω θαλάσσης ή αποτελεί συνδυασμό των δύο. Άλλωστε, όπως είναι γνωστό, οι περιοχές της Πελοποννήσου και της Κρήτης ήταν οι γενέτειρες μεγάλων αρχαίων πολιτισμών (Μυκηναϊκός και Μινωικός αντίστοιχα). Πληθώρα δεδομένων αποδεικνύουν την επίδραση του Μινωικού πολιτισμού στο νησί των Κυθήρων και τη μεταφορά φυτών και αγγείων (Coldstream 1978), όπου οι σαύρες θα μπορούσαν να κρύψουν τα αυγά τους στο χώμα. Παρόμοιο σενάριο, σχετικά με τη σχέση της Κρήτης, των Κυθήρων και της Πελοποννήσου, έχει προταθεί για την ερμηνεία της σημερινής κατανομής και των φυλογενετικών σχέσεων των πληθυσμών του φιδιού *Zamenis situla*, όπου το νησί των Κυθήρων ενέργησε σαν ενδιάμεση γέφυρα ξηράς για τον αποικισμό της Κρήτης από την Πελοπόννησο κατά τη διάρκεια της Πλειστόκαινου (Kyriazi και συν. 2013).

2.5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Εν κατακλείδι, τα αποτελέσματά μας επισημαίνουν τις δυσκολίες που η κλασική ταξινομική αντιμετώπιζει στη προσπάθεια να εξάγει συμπεράσματα για τις σχέσεις σε επίπεδο ειδών και υποειδών, ενώ τονίζουν την ανάγκη επανεξέτασης της ταξινομικής κατάστασης του γένους *Lacerta* στην Ελλάδα. Όσον αφορά τη φυλογεωγραφία του γένους αυτού τα δεδομένα μας υποστηρίζουν ότι το τρέχον πρότυπο οφείλεται σε αρκετά βιακαριανιστικά γεγονότα και φαινόμενα διασποράς. Συγκεκριμένα, στην περίπτωση του κλάδου της *Lacerta viridis*, οι φυλογενετικές αναλύσεις αποκάλυψαν την ύπαρξη δύο κύριων γενεαλογικών γραμμών, που αντιστοιχούν στα είδη *L. viridis* και *L. bilineata*, ενώ, εντός της *L. viridis*, αναγνωρίστηκαν δύο αλλοπάτριες ομάδες που αντιπροσωπεύουν τα υποείδη *L. v. meridionalis* και *L. v. guentherpetersi*. Ωστόσο, απαιτούνται περισσότερα δείγματα και αναλύσεις, προκειμένου να αξιολογηθεί η φυλογεωγραφική ιστορία των δύο τελευταίων taxa. Από την άλλη μεριά, στην περίπτωση της *L. trilineata*, τα ευρήματά μας υποστηρίζουν ένα διαφορετικό βιογεωγραφικό σενάριο, από εκείνο που προτάθηκε από τους Ahmadzadeh και συν. (2013b). Οι τελευταίοι ερευνητές υποστήριζαν ότι το παρόν πρότυπο κατανομής της ομάδας της *Lacerta trilineata* (*L. media*, *L. trilineata* *L.* και *ramphyllica*), είναι αποτέλεσμα πολλαπλών συμβάντων διασποράς, έξω από την περιοχή της Ανατολίας, στο διάστημα της Κατώτερης Πλειόκαινου με Ανώτερης Πλειστόκαινου εποχής. Ωστόσο, τα υψηλά επίπεδα γενετικής απόστασης και οι εκτιμώμενοι χρόνοι απόσχισης, που υπολογίστηκαν στην τρέχουσα μελέτη, παρέχουν ενδείξεις για την επίλυση της εξελικτικής ιστορίας του είδους βάσει της παλαιογεωγραφίας της περιοχής του Αιγαίου. Τέλος, κρίνεται επιτακτική η ανάγκη αναθεώρησης της ταξινομικής της κατάστασης της *L. trilineata*, τόσο σε επίπεδο είδους όσο και υποείδους.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ, ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΙΚΕΣ ΠΡΟΣΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ *LACERTA TRILINEATA*

3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

3.1.1. Θερμική Βιολογία

Ο σημαντικός ρόλος της θερμοκρασίας στην πραγματοποίηση των διαφόρων κυτταρικών αντιδράσεων είχε ως αποτέλεσμα την ενασχόληση πολλών ερευνητών με θέματα της θερμικής βιολογίας. Οι Gans και Pough (1982) βασιζόμενοι στις σύγχρονες αντιλήψεις για τις θερμικές σχέσεις των οργανισμών στο περιβάλλον τους, εισήγαγαν τους όρους εξώθερμος και ενδόθερμος. Σύμφωνα με αυτή, την τελευταία, θεώρηση ο σημαντικότερος παράγοντας κατηγοριοποίησης είναι η πηγή θερμότητας που χρησιμοποιούν οι οργανισμοί για τη θερμορρύθμιση. Έτσι οι ενδόθερμοι οργανισμοί χρησιμοποιούν κυρίως την θερμότητα που παράγεται από εσωτερικούς μεταβολικούς δρόμους. Η μεγαλύτερη πυκνότητα μιτοχονδρίων καθώς και υψηλότερη ενεργότητα των μιτοχονδριακών ενζύμων στους ιστούς των ενδόθερμων ζώων σε σχέση με τα εξώθερμα (Else & Hulbert 1985) αποτελούν ενδείξεις της ικανότητας των πρώτων για αυξημένη παραγωγή μεταβολικής θερμότητας. Αντίθετα οι εξώθερμοι αντλούν την απαιτούμενη θερμότητα κυρίως από εξωτερικές πηγές, συνήθως από τον ήλιο, είτε άμεσα (ηλιοθερμία) είτε από θερμαινόμενα υποστρώματα (θιγμοθερμία) (Heatwole & Taylor 1987).

Η άποψη, ότι τα ερπετά ακολουθούν πάντα παθητικά τις αλλαγές της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος, επικράτησε για πάρα πολλά χρόνια, έως ότου οι Cowles και Bogert (1944) απέδειξαν ότι τα ερπετά μπορούν να διατηρούν τη θερμοκρασία του σώματός τους κοντά στα θερμικά τους βέλτιστα και μάλιστα μέσα σε μάλλον στενά όρια, προσαρμόζοντας κάθε φορά τη συμπεριφορά, την οικολογία και τη φυσιολογία τους (θερμική ομοιόσταση με τη χρήση εξωτερικών πηγών θερμότητας και μέσα από την υιοθέτηση ορισμένων στρατηγικών συμπεριφοράς, εφεξής «θερμορρύθμιση») (Spellerberg 1982). Τα επίπεδα, όμως, όπως και η ακρίβεια της θερμορρύθμισης, αποτελούν χαρακτηριστικά κάθε εξώθερμου είδους και μπορεί να μεταβάλλονται ανά εποχή, φύλο, ηλικία, μέγεθος σώματος, γεωγραφική τοποθεσία, καθώς και από την επίδραση άλλων βιοτικών παραγόντων, όπως ο ανταγωνισμός, η θήρευση και η διαθεσιμότητα τροφής (Brown & Weatherhead 2000, Brown 1996, Hertz και συν. 1983, Hertz και συν. 1993, Hitchcock & McBrayer 2006, Huey 1982, Sagonas και συν. 2013).

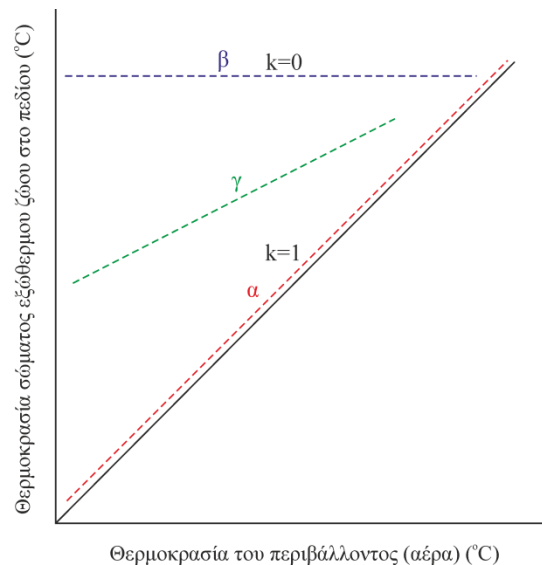
Τα εξώθερμα ζώα έχουν συνδεθεί με ένα μηχανισμό θερμορρύθμισης που διαφοροποιείται από εκείνο των ενδοθέρμων, των οποίων ο έλεγχος της θερμοκρασίας του

σώματος βασίζεται σε φυσιολογικές διεργασίες (Brattstrom 1970). Για το λόγο αυτό, έχει προταθεί η άποψη ότι η ενδοθερμία των πτηνών και των θηλαστικών αποτελεί εξέλιξη της εξωθερμίας (Else & Hulbert 1985). Παρ' όλα αυτά, η εξωθερμία, συγκρινόμενη με την ενδοθερμία, μολονότι θεωρείται πιο «ξεπερασμένη» δεν αποτελεί μια ατελή μορφή θερμορρύθμισης, αλλά ένα διαφορετικό τρόπο ανταλλαγής ενέργειας, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, με επίσης σημαντικά πλεονεκτήματα. Η ενδοθερμία απαιτεί συνεχείς υψηλούς ρυθμούς μεταβολισμού, με κατανάλωση μεγάλων ποσών ενέργειας (Cloudsley-Thompson 1999). Δεδομένου, όμως, ότι τα ερπετά δεν βασίζονται σε εσωτερικές μεταβολικές πηγές ενέργειας για να αυξήσουν τη θερμοκρασία του σώματός τους, όπως οι ενδόθερμοι οργανισμοί (Brattstrom 1970), είναι σε θέση να καταναλώνουν λιγότερη ενέργεια σε σχέση με ένα ενδόθερμο ζώο, ανάλογου μεγέθους, προκειμένου να επιβιώσουν και να αναπαραχθούν (Pough 1980). Έτσι, η εξωθερμία μπορεί να θεωρηθεί μια προσαρμοστική εξειδίκευση, η οποία επιτρέπει τον εποικισμό περιοχών με χαμηλή τροφική διαθεσιμότητα, άνισα κατανομημένη στο χώρο και στον χρόνο (Gans & Pough 1982). Βέβαια η εξωθερμία δεν είναι άμοιρη μειονεκτημάτων, μιας και τα εξώθερμα ζώα δεν μπορούν να πετύχουν την ιδανική θερμοκρασία σώματος κάτω από όλες τις καιρικές συνθήκες, περιορίζοντας τη δραστηριότητά τους στο χρόνο και στο χώρο, σε πολύ μεγαλύτερο ποσοστό από ό,τι συμβαίνει στα θηλαστικά και στα πτηνά (Angilletta Jr 2009).

Η εξάρτηση, επομένως, των ερπετών από τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος, οφείλεται στην αδυναμία τους να διατηρούν τη θερμοκρασία του σώματός τους σε σταθερά υψηλά επίπεδα και να ξεπερνούν τις θερμικές απώλειες προς το περιβάλλον με την αύξηση του μεταβολικού τους ρυθμού (Spellerberg 1982). Για το λόγο αυτό και σύμφωνα με τα παραπάνω, οι εξώθερμοι οργανισμοί, υποχρεωτικά, χρησιμοποιούν το εξωτερικό τους περιβάλλον ως βασική πηγή ενέργειας υιοθετώντας κατάλληλους μηχανισμούς συμπεριφοράς, που τους επιτρέπουν να επιτυγχάνουν θερμική ισορροπία (Avery 1982, Pough και συν. 1998, Stevenson 1985). Σε αυτή τη διαδικασία γίνεται σαφές πως το θερμικό περιβάλλον, όπως επίσης και η επιλογή και η χρήση των μικροενδιαιτημάτων του, μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τη θερμοκρασία του σώματος των ζώων και κατά συνέπεια, κάθε φυσιολογική λειτουργία των εξώθερμων οργανισμών (Cowles & Bogert 1944, Porter & Gates 1969). Ως εκ τούτου, οι σαύρες, ανάλογα με τις ανάγκες τους σε θερμότητα (Huey και συν. 1989, Van Damme και συν. 1989), μπορούν είτε να παραμένουν κρυμμένες (Bartolomew 1982), είτε να αλλάζουν κατάλληλα τη θέση τους, είτε να επιλέγουν διαφορετικό κάθε φορά μικροενδιαίτημα - με διαφορετικά υποστρώματα από άποψη θερμοχωρητικότητας και αντανεκλαστικότητας -

προκειμένου να εξασφαλίζουν το μέγεθος της σωματικής επιφάνειας που θα εκτίθεται στην ηλιακή ακτινοβολία (Bauwens και συν. 1996, Hertz & Huey 1981). Με άλλα λόγια, η ικανότητα των εξώθερμων οργανισμών να θερμορρυθμίζουν αποτελεσματικά, με σκοπό τη διατήρηση της θερμοκρασίας τους, μέσα σε στενά θερμοκρασιακά όρια, είναι μείζονος σημασίας, μια και η πλειονότητα των φυσιολογικών μηχανισμών είναι θερμοεξαρτώμενοι (Angilletta 2001, Bauwens και συν. 1995, Shine 2004).

Είναι πλέον αποδεκτό ότι η θερμοκρασία του περιβάλλοντος είναι ένας καθοριστικός παράγοντας για τη βιολογία των σαυρών και των ερπετών γενικότερα (Cowles & Bogert 1944, Medina και συν. 2009, Meiri και συν. 2013, Ruibal & Philibosian 1970). Ωστόσο, η συμπεριφορά των διαφόρων ειδών ερπετών ενός συγκεκριμένου βιοτόπου δεν ανταποκρίνεται εξίσου στις θερμοκρασιακές αλλαγές μιας περιοχής, επειδή το κάθε εξώθερμο είδος εκμεταλλεύεται με διαφορετικό τρόπο τα θερμικά μικροενδιαιτήματα του περιβάλλοντός του (Adolph 1990, Ruibal 1961, Scheers & Van Damme 2002). Ακόμη, διαφορετικοί πληθυσμοί του ιδίου εξώθερμου είδους, που καταλαμβάνουν διαφορετικά ενδιαιτήματα, μπορούν επίσης να παρουσιάζουν διαφορετικό πρότυπο θερμορρύθμισης και συμπεριφοράς, με τις θερμοκρασίες του σώματός τους να παρουσιάζουν σημαντικές αποκλίσεις κατά μήκος υψομετρικών ή γεωγραφικών κλίσεων (Kiefer και συν. 2005, Qualls & Shine 2000, Van Damme και συν. 1989).



Εικόνα 3.1. Μοντέλο των Huey & Slatkin (1976) για την εκτίμηση του τρόπου με τον οποίο θερμορρυθμίζουν τα εξώθερμα ζώα. Όταν η κλίση της καμπύλης είναι ίση με τη μονάδα (κόκκινη διακεκομμένη γραμμή, α) οι σαύρες θερμορρυθμίζουν παθητικά και χαρακτηρίζονται ως θερμοσυμμορφωτές. Αντίθετα, όταν η κλίση της καμπύλης ισούται με το μηδέν (μπλε διακεκομμένη γραμμή, β) τα ζώα εμφανίζουν τέλεια ενεργητική θερμορρυθμιστική συμπεριφορά και χαρακτηρίζονται ως θερμορρυθμιστές.

Οι Huey & Slatkin (1976), στην «κλασική» τους πλέον εργασία, πρώτοι συσχέτισαν τη θερμοκρασία σώματος των ζώων με εκείνη του περιβάλλοντος και, μέσα από την ευθεία παλινδρόμησης που προέκυψε, προέβησαν σε εκτίμηση του τρόπου με τον οποίο θερμορρυθμίζουν τα εξώθερμα ζώα (βλ. **εικόνα 3.1**). Συγκεκριμένα, υποστήριξαν ότι όταν η κλίση της καμπύλης παλινδρόμησης είναι ίση με τη μονάδα οι σαύρες θερμορρυθμίζουν παθητικά (θερμοσυμμορφωτές), ακολουθώντας απλά τις κλιματικές συνθήκες του περιβάλλοντος διαβίωσης. Σε αντίθετη περίπτωση, όταν δηλαδή η κλίση της καμπύλης ισούται με το μηδέν, τα ζώα εμφανίζουν ενεργητική θερμορρυθμιστική συμπεριφορά και χαρακτηρίζονται ως θερμορρυθμιστές.

Τα τελευταία είκοσι χρόνια, ωστόσο, έχει ασκηθεί μια έντονη αμφισβήτηση για το συγκεκριμένο τρόπο θεώρησης της θερμορρυθμιστικής στρατηγικής ενός εξώθερμου είδους (Bradshaw 1997). Τα αδύνατα σημεία της θεωρίας των Huey και Slatkin (1976) είναι ότι, αφενός, δέχεται ως σταθερή τη θερμοκρασία σώματος, τόσο στις εργαστηριακές μετρήσεις όσο και στο πεδίο (και μάλιστα κατά τη διάρκεια του χρόνου) και, αφετέρου, δεν λαμβάνει υπ' όψιν την αποτελεσματικότητα της θερμορρύθμισης, εάν δηλαδή η θερμορρυθμιστική συμπεριφορά αξίζει τελικά το κόστος της.

Με αφετηρία τους δύο παραπάνω προβληματισμούς, σήμερα για τη σκιαγράφηση του θερμορρυθμιστικού προτύπου των εξώθερμων οργανισμών, έχουν αναπτυχθεί αρκετές προσεγγίσεις (Blouin-Demers & Weatherhead 2001, Hertz και συν. 1993, Kingsbury 1994), με επικρατέστερη εκείνη του Hertz και συν. (1993). Η υπολογιστική αυτή μέθοδος θερμορρύθμισης αποδίδεται από τον ακόλουθο τύπο:

$$E = 1 - \frac{\overline{d_b}}{\overline{d_e}},$$

όπου, $\overline{d_b}$ η μέση απόκλιση μεταξύ των θερμοκρασιών σώματος που τα εξώθερμα ζώα «πραγματικά» επιτυγχάνουν στο πεδίο (body temperatures, T_b) από το εύρος των θερμοκρασιών που θα επιτύγχαναν τα εξώθερμα ζώα στο πεδίο αν δεν υπήρχε κανένας περιορισμός (set-point range temperatures, T_{set}) και $\overline{d_e}$ η μέση απόκλιση μεταξύ των λειτουργικών θερμοκρασιών (θερμοκρασίες που επιτυγχάνονται από ένα άψυχο αντικείμενο στις ίδιες αβιοτικές περιβαλλοντικές συνθήκες με το υπό μελέτη εξώθερμο ζώο, operative temperatures, T_e) από το T_{set} . Για την ακρίβεια, τα d_b και d_e ισούνται με την διαφορά κάθε μέτρησης (είτε T_b είτε T_e) μείον το πλησιέστερο όριο των T_{set} σε απόλυτη τιμή. Προφανώς, όταν όλες οι τιμές των T_b και T_e είναι μέσα στα όρια του T_{set} ,

τότε τα $\overline{d_b}$ και τα $\overline{d_e}$ είναι μηδενικά. Όταν το E (αποτελεσματικότητα της θερμορρύθμισης, effectiveness of thermoregulation) ισούται με το μηδέν, έχουμε τέλεια θερμοσυμμόρφωση, ενώ όταν ισούται με τη μονάδα, η σαύρα χαρακτηρίζεται σαν θερμορρυθμιστής.

Σύμφωνα με τους Hertz και συν. (1993) η τιμή $\overline{d_b}$ είναι δείκτης της ακρίβειας, για το βαθμό που οι εξώθερμοι οργανισμοί επιτυγχάνουν θερμοκρασίες σώματος μέσα στη κλίμακα των θερμοκρασιών, όπου κυμαίνεται η θερμοκρασία σώματος, όσο το εξώθερμο ζώο είναι ενεργό (T_{set}). Δεν είναι, όμως, απαραίτητο ότι μια χαμηλή τιμή $\overline{d_b}$ (άρα υψηλή ακρίβεια) συνεπάγεται ενεργή θερμορρύθμιση και μια υψηλή τιμή $\overline{d_b}$ (χαμηλή ακρίβεια) αντίστοιχα αδύναμη θερμορρύθμιση, μιας και οι τιμές αυτές εξαρτώνται άμεσα από τη θερμοκρασία του ενδιαιτήματος όπου το ζώο διαβιού. Ανάλογα, η τιμή $\overline{d_e}$ φανερώνει πόσο κοντά στην κλίμακα των λειτουργικών θερμοκρασιών του ζώου βρίσκεται η θερμοκρασία του ενδιαιτήματος ή, εναλλακτικά, αποτελεί ένα δείκτη της θερμικής ποιότητας ενός ενδιαιτήματος για ένα συγκεκριμένο εξώθερμο οργανισμό. Κατά συνέπεια, ενδιαιτήματα με τιμή $\overline{d_e}$ ίση με το μηδέν, χαρακτηρίζονται ιδανικά, αφού το εξώθερμο ζώο, δυνητικά, θα μπορούσε να έχει θερμοκρασίες σώματος πάντοτε μέσα στα όρια του εύρους θερμοκρασιών του ενδιαιτήματος. Αντίθετα, υψηλές τιμές του $\overline{d_e}$ περιγράφουν θερμικά αφιλόξενα περιβάλλοντα, όπου το εξώθερμο ζώο είναι αναγκασμένο να καταβάλει συνεχώς θερμορρυθμιστική προσπάθεια, προκειμένου η θερμοκρασία του σώματός του να πλησιάσει τα όρια του T_{set} .

Η πλειονότητα των μέχρι τώρα συγκριτικών μελετών (δια- και ένδο- ειδικών), όσον αφορά τη θερμική βιολογία των εξώθερμων οργανισμών, έχει περιοριστεί αποκλειστικά είτε μεταξύ ηπειρωτικών σαυρών (π.χ. Díaz & Cabezas-Díaz 2004, Gvozdik & Castilla 2001, Ibargüengoytia και συν. 2008, Μαραγκού 1997, Παφίλης 2003), είτε μεταξύ νησιωτικών ειδών (Adamopoulou & Valakos 2005, Bauwens και συν. 1990, Sagonas και συν. 2013, Vasconcelos και συν. 2012). Ωστόσο, η ενδοειδική διαφοροποίηση της θερμορρυθμιστικής στρατηγικής, μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών, παραμένει ακόμη, σε μεγάλο βαθμό, όχι καλά μελετημένη.

3.1.2. Οικολογία της διατροφής

Η οικολογία της διατροφής είναι ένα σημαντικό πεδίο για τη μελέτη της βιολογίας των ερπετών, παρέχοντας πολύτιμες πληροφορίες, που μπορούν να βελτιώσουν τη γνώση

μας για τον τρόπο με τον οποίο τα ερπετά εκμεταλλεύονται το φυσικό τους περιβάλλον (Pincheira-Donoso 2008, Pitt & Ritchie 2002). Τα ερπετά, σε αντίθεση με τα θηλαστικά, δεν τεμαχίζουν την τροφή τους σε μικρότερα κομμάτια (τουλάχιστον όχι όλα και όχι στον βαθμό που το επιτυγχάνουν τα θηλαστικά), με αποτέλεσμα η διαδικασία της πέψης να πραγματοποιείται κυρίως στον πεπτικό σωλήνα. Ως εκ τούτου, οι διαιτητικές συνήθειες των ερπετών είναι άρρηκτα συνδεδεμένες με πληθώρα βιολογικών διεργασιών, όπως η ροή ενέργειας, η φυσιολογία της πέψης, η μορφολογία και λειτουργία των εξαρτημάτων σύλληψης τροφής, η φυλετική επιλογή, κ.α. (Andersson 1994, Herrel και συν. 2008, Kaliontzopoulou και συν. 2012, Pafilis και συν. 2007). Επομένως, όχι άδικα θεωρείται ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες, που μπορούν να οδηγήσουν σε σημαντικές διαειδικές και ενδοειδικές διαφοροποιήσεις, ενώ ταυτόχρονα αποτελεί και μια από τις βασικότερες αιτίες ειδογένεσης (Grant & Grant 2011, Huyghe και συν. 2007, Losos 2009, Mahler και συν. 2010). Επιπλέον, συμπεριφορές όπως ο κανιβαλισμός και η αύξηση του μεγέθους σώματος (γιγαντισμός), που παρατηρούνται συχνά σε νησιωτικούς πληθυσμούς, μπορούν να αποδοθούν, εκτός των άλλων, και στη διαθεσιμότητα τροφής ή στις διατροφικές συνήθειες των οργανισμών (Meiri 2007, Raia & Meiri 2006). Για τους λόγους αυτούς, όχι τυχαία, η τροφική οικολογία παραμένει ένα σημαντικό πεδίο έρευνας σε ερπετολογικές μελέτες (e.g. Brock και συν. 2014, Laverty & Dobson 2013, Rebouças και συν. 2013), ενώ η μελέτη της θεωρείται απαραίτητη, ιδίως για λιγότερο μελετημένα είδη (Pérez-Mellado και συν. 2011).

Οι σαύρες και γενικότερα τα ερπετά, σε αντίθεση με όσα πιθανόν πιστεύουν πολλοί, παρουσιάζουν μια εξαιρετική ποικιλότητα στις διατροφικές τους προτιμήσεις. Συγκρίνοντας τα πρότυπα διατροφής των διαφόρων ειδών σαυρών, μπορούμε να διακρίνουμε δύο ομάδες: είδη με περιορισμένη δίαιτα (εξειδικευμένοι θηρευτές, specialist predators) και είδη με γενική δίαιτα (γενικοί θηρευτές, generalist predators) (Schoener 1971). Το ερώτημα που τίθεται σε αυτή την περίπτωση, και που μένει να απαντηθεί, είναι εάν η εμφανιζόμενη εξειδίκευση είναι αποτέλεσμα της τροφικής διαθεσιμότητας ή της θηρευτικής συμπεριφοράς του κάθε είδους (Vanhooydonck και συν. 2007). Στις σαύρες έχουν αναγνωριστεί δύο ακραίες στρατηγικές που αφορούν τη συμπεριφορά θήρευσης (Regal 1978). Η πρώτη στρατηγική αναφέρεται στους ενεργούς θηρευτές (widely foraging predators) και περιλαμβάνει είδη που περιπλανώνται μέσα στην περιοχή τους καταδιώκοντας τη λεία τους. Η δεύτερη αφορά σαύρες που ελέγχουν μια περιοχή περιμένοντας ακίνητες, ενώ επιτίθενται αιφνιδιαστικά μόλις κάτι τους κινήσει το ενδιαφέρον και για αυτό το λόγο χαρακτηρίζονται ως ενεδρευτές (sit-and-wait predators).

Οι τελευταίες μάλιστα έχει διαπιστωθεί ότι επιστρέφουν στην ίδια θέση ενέδρας ή κοντά σε αυτήν μετά την επίθεση (Schoener 1971).

Οι περισσότερες σαύρες έχουν υιοθετήσει ένα γενικό διαιτητικό πρότυπο (Díaz 1995, Pianka 1986). Στην οικογένεια Lacertidae, που αποτελεί την μεγαλύτερη οικογένεια σαυρών στην Ευρώπη, τα χερσαία ασπόνδυλα και συγκεκριμένα τα έντομα καταλαμβάνουν το σημαντικότερο μέρος της δίαιτας των ατόμων (Arnold 1987, Carretero 2004, Valakos 1986, Valakos και συν. 1997). Η τροφική οικολογία της οικογένειας αυτής, ωστόσο, εμφανίζει εξαιρετική πλαστικότητα, με πληθώρα περιβαλλοντικών παραγόντων να επηρεάζουν την επιλογή λείας. Μερικά είδη μπορεί να είναι αποκλειστικά φυτοφάγα, άλλα αποκλειστικά σαρκοφάγα (εξειδικευμένα ή μη), ενώ ορισμένα είναι παμφάγα (κατανάλωση φυτικού υλικού και εντόμων) (Adamopoulou και συν. 1999, Angelici και συν. 1997, Maragou και συν. 1997, Pérez-Mellado και συν. 1991, Pérez-Mellado & Corti 1993, Pérez-Mellado και συν. 2011). Αρκετοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι το εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου μπορεί να αλλάζει με την πάροδο του χρόνου, ανάλογα με την αφθονία της τροφής στο περιβάλλον (Díaz & Carrascal 1993, Pérez-Mellado και συν. 1991), αλλά και από περιοχή σε περιοχή, ως αποτέλεσμα της διαφορετικής ετερογένειας και σύστασης των κοινοτήτων των αρthropόδων, φαινόμενο ιδιαίτερα συχνό σε είδη ευρείας εξάπλωσης (Carretero 2004). Σε συμφωνία με τα προηγούμενα είναι η απόκλιση των διαιτητικών προτιμήσεων, που έχει αναφερθεί, μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών ενός taxon, ως αποτέλεσμα της μικρότερης τροφικής διαθεσιμότητας, που επικρατεί στα νησιά (Castilla & Van Damme 1996, Pafilis και συν. 2009, Pérez-Mellado & Corti 1993, Van Damme 1999, Vervust και συν. 2010).

Πέρα των όσων αναφέρθηκαν, είναι σημαντικό να σημειωθεί πως η επιλογή της λείας/τροφής επηρεάζεται και από πληθώρα άλλων παραγόντων. Οι δύο, ίσως, πιο σημαντικοί είναι η δυνατότητα σύλληψης και χειρισμού της, που διαφοροποιείται με το μέγεθος, την ηλικία και το φύλο του ζώου (Durtsche 2000, Fialho και συν. 2000, Herrel και συν. 1999) και ο μέσος ρυθμός ενεργειακής απόδοσης της, σε συνδυασμό με την ενέργεια που δαπανάται για την απόκτησή της, δηλαδή η μεγιστοποίηση του καθαρού ενεργειακού κέρδους του ζώου από την κατανάλωσή της (Stephens & Krebs 1986).

3.1.3. Μορφολογία κεφαλής και δύναμη δήγματος

Η φαινοτυπική ποικιλομορφία, η οποία παρατηρείται συχνά μεταξύ διακριτών γενεαλογικών γραμμών, είναι το αποτέλεσμα των εξελικτικών δυνάμεων της φυσικής και φυλετικής επιλογής, που δρουν στους μορφολογικούς χαρακτήρες των ζώων. Αυτές οι εξελικτικές πιέσεις, που ενυπήρχαν στο περιβάλλον όπου ο πληθυσμός διαφοροποιήθηκε, αντικατοπτρίζονται συνήθως στις μορφολογικές διαφοροποιήσεις των πληθυσμών (Lamb & Bauer 2006, Losos και συν. 1997, Pianka 1973). Επομένως, η επιλογή ενός συγκεκριμένου ενδαιτηήματος, με βάση τα οικολογικά του χαρακτηριστικά, όπως είναι το κλίμα, η διαθεσιμότητα τροφής και ο τύπος βλάστησης, συμβάλει άμεσα στη διαμόρφωση των μορφολογικών και φυσιολογικών χαρακτήρων του ζώου (Huey 1991, Pianka 1973, Vitt και συν. 2003). Βέβαια, είναι αποδεκτό, ότι οι λειτουργικές ιδιότητες παρά οι μορφολογικές χαρακτήρες ενός οργάνου είναι αυτές που, συνήθως, υπόκεινται σε πιέσεις φυσικής επιλογής, λόγω του μικρότερου κόστους που απαιτεί τέτοιους είδους μεταβολές (βλ. Irschick και συν. 2007, Wainwright 2007).

Ένα τέτοιο παράδειγμα, πολύπλοκου λειτουργικού συστήματος, που υπόκειται συχνά σε πιέσεις επιλογής, αποτελεί η κεφαλή με τα εξαρτήματα σύλληψης τροφής. Η κεφαλή στις σαύρες διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο, επηρεάζοντας πληθώρα λειτουργιών και διαδικασιών, όπως η αμυντική και φυλετική συμπεριφορά, το ζευγάρωμα, η κίνηση, η σύλληψη, κατάποση και χειρισμός του θηράματος, κ.α. (Herrel & Holanovna 2008, Herrel και συν. 2001b, Huyghe και συν. 2007, Kohlsdorf και συν. 2008, Lappin & Husak 2005). Ωστόσο, λόγω της ευρύτερης λειτουργίας του, η μορφολογία του κρανίου παρουσιάζει ταυτόχρονα έντονες φυλετικές και οντογενετικές διαφορές, οι οποίες σε μεγάλο βαθμό οφείλονται στη διαφορετική αξιοποίηση των φυσικών πόρων, σε συμπεριφορές χωροκρατικότητας και στην επιτυχία του ζευγαρώματος (Herrel και συν. 2006, Herrel και συν. 1999, Lappin και συν. 2006, Lappin & Husak 2005, Preest 1994). Κύρια συνιστώσα αυτών των διαφορών, αποτελεί η αύξηση της δύναμης δήγματος (δάγκωμα, bite force). Ωστόσο, η απόδοση των λειτουργικών χαρακτήρων (functional traits), όπως είθισται να λέγονται (όπως είναι η δύναμη δήγματος), επηρεάζει εκτός των άλλων και τις ιδιότητες των οργάνων, με τα οποία αυτοί αλληλεπιδρούν και οι οποίες συνήθως αφορούν το μέγεθος, το σχήμα και το πρότυπο κατασκευής τους (Kaliontzopoulou και συν. 2012). Έτσι, στην περίπτωση της δύναμης δήγματος, έχει αποδειχθεί ότι αύξηση της ισχύος της συνεπάγεται και αύξηση του μεγέθους του κρανίου. Άτομα με μεγαλύτερη και πιο

εύρωστη κεφαλή ασκούν μεγαλύτερη δύναμη δήγματος, επειδή προσφέρεται μεγαλύτερη επιφάνεια προκειμένου να αναπτυχθούν μεγαλύτεροι και ισχυρότεροι στοματογναθικοί μύες (Anderson και συν. 2008, Herrel και συν. 2001a, Herrel και συν. 2010, Kaliontzopoulou και συν. 2012, McBrayer & Anderson 2007).

Στις σαύρες, η εξέταση της μορφολογίας της κεφαλής και της δύναμης δήγματος, έχουν αποτελέσει, ίσως, το σημαντικότερο πρότυπο σύστημα μελέτης, προκειμένου να κατανοηθεί η διαφοροποίηση που παρατηρείται στο εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου (διατροφή) μεταξύ συγγενικών ταξινομικών ομάδων, αλλά και μεταξύ διαφορετικών σταδίων ανάπτυξης ενός ζώου (Herrel και συν. 2006, Jones 2008, Kaliontzopoulou και συν. 2012, Natusch & Lyons 2012, Verwaijen και συν. 2002). Ο λόγος έγκειται στην άμεση σχέση των δύο αυτών χαρακτήρων με τη διατροφή (Herrel και συν. 2001b). Άλλωστε, ο διαφορετικός τρόπος, με τον οποίον οι ανήλικες σαύρες και/ή τα συμπάρτια είδη εκμεταλλεύονται το φυσικό τους περιβάλλον και τους φυσικούς τους πόρους, έχει αποδειχθεί ότι οδηγεί σε μειωμένο ενδο- και δια- ειδικό ανταγωνισμό (Arnold 1987, Verwaijen και συν. 2002).

Είναι γνωστό ότι το μέγεθος και το σχήμα της κεφαλής καθώς και η δύναμη δήγματος στις σαύρες, υπόκεινται επιπλέον σε πιέσεις φυλετικής επιλογής, που αυξάνουν την ανταγωνιστικότητα (μάχες μεταξύ ενήλικων αρσενικών σαυρών), τη χωροκρατικότητα και τελικά την αναπαραγωγική επιτυχία των ενηλίκων αρσενικών ατόμων (Huyghe και συν. 2009, Lappin και συν. 2006, Scharf & Meiri 2013). Το γεγονός αυτό αντανακλάται άμεσα και από τον έντονο φυλετικό διμορφισμό του/της κρανίου/κεφαλής σε πολλά είδη σαυρών (Herrel και συν. 1999, Kaliontzopoulou και συν. 2008, Vincent & Herrel 2007, Zuffi και συν. 2011). Βέβαια, ο φυλετικός διμορφισμός των στοματογναθικών χαρακτήρων και των λειτουργιών τους (μέγεθος γνάθου, δύναμη δήγματος, φυσιολογικές διαφοροποιήσεις των γναθικών μυών, κ.α.), μπορεί να οδηγήσει, έμμεσα, και σε σημαντική διαφοροποίηση της διαίτας μεταξύ των δύο φύλων (Herrel και συν. 2001b, Kaliontzopoulou και συν. 2012). Η διαφοροποίηση αυτή μπορεί να αφορά αποκλίσεις στην ταξινομική σύσταση, το μέγεθος, το σχήμα, αλλά και σε άλλες λειτουργικές ιδιότητες της λείας (σκληρότητα, ικανότητα πτήσης, κ.α.). Τέλος, η ισχύς δήγματος μπορεί να επηρεάσει και την αποτελεσματικότητα του χειρισμού της λείας (prey-handling efficiency), ενώ μεγαλύτερη δύναμη συνεπάγεται, ταυτόχρονα, μικρότερο χρόνο και αριθμό δηγμάτων, που απαιτούνται για τον έλεγχο, το σπάσιμο, την επεξεργασία και την κατάποση της λείας (Herrel και συν. 1999, Herrel και συν. 2001b).

Έχει αποδειχθεί, ότι η φυλετική και η φυσική επιλογή μπορούν να δρουν ταυτόχρονα ή να αλληλεπιδρούν με πολύπλοκους και ποικίλους τρόπους, ανάλογα πάντα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν, καθώς και το taxon που υπόκειται σε πίεση από τις δύο αυτές εξελικτικές δυνάμεις. Ως αποτέλεσμα, ο φυλετικός διμορφισμός των μορφολογικών χαρακτήρων, μπορεί να παρουσιάζει κλίμακα μεγάλου εύρους (Butler & Losos 2002, Butler και συν. 2007, Kaliontzopoulou και συν. 2010a, Losos και συν. 2003). Ωστόσο, το αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης των δύο αυτών εξελικτικών πιέσεων (δηλαδή της φυλετικής και φυσικής επιλογής) σε λειτουργικούς χαρακτήρες, όπως είναι η δύναμη δήγματος, δεν έχει μελετηθεί εκτενώς μέχρι σήμερα. Ο λόγος έγκειται στις διαφορετικές λειτουργικές απαιτήσεις που επιλέγονται από τις δύο αυτές πιέσεις. Με άλλα λόγια, η πίεση που ασκείται από την κάθε μια επιλογή (φυσική ή φυλετική) δεν μπορεί πάντα να επιλέγει, ταυτόχρονα, την βέλτιστη λειτουργική απόδοση ενός χαρακτήρα (Perrin & Travis 1992, Walker 2007). Έτσι, οδηγούμαστε σε ποικίλες εκβάσεις της λειτουργίας τέτοιων χαρακτήρων, οι οποίες σχετίζονται με τη «δύναμη» που ασκεί ο καθένας μηχανισμός εξέλιξης πάνω στο συγκεκριμένο χαρακτήρα στόχο.

3.1.4. Πέψη

Μεταξύ των ειδών, αλλά και των πληθυσμών, της οικογένειας Lacertidae, το διαιτητικό πρότυπο εμφανίζει εξαιρετική πλαστικότητα. Ωστόσο, για κάθε σαύρα - και για κάθε οργανισμό γενικότερα -, ασχέτως του διατροφικού της προτύπου, βασική προϋπόθεση στην επιλογή μιας λείας είναι η εξασφάλιση σημαντικού καθαρού ενεργειακού κέρδους από την πέψη της (Pough & Andrews 1985, Stephens & Krebs 1986). Με άλλα λόγια, πρέπει η ενέργεια, η οποία κερδίζεται από την πέψη της τροφής, να υπερτερεί κάθε στιγμή εκείνης που απαιτείται για την κάλυψη των τρεχουσών αναγκών της (θετικό ενεργειακό ισοζύγιο) (Cambell & Norman 1998). Προκειμένου να συμβεί κάτι τέτοιο, το ζώο πρέπει να εξασφαλίσει ότι αποσπά τη μέγιστη ενέργεια από την τροφή του, γεγονός που εξαρτάται άμεσα από την πεπτική του αποδοτικότητα και το ρυθμό πέψης (Andrews 1982, Karasov & Martinez Del Rio 2007). Τελικά, ο βαθμός αποτελεσματικότητας της διαδικασίας της πέψης θα καθορίσει και τον επιτυχή εποικισμό μιας σειράς διαφορετικών ενδιαιτημάτων από το ίδιο το ζώο. Δηλαδή, σε μια νέα εγκαθίδρυση, η λειτουργία και η μορφολογία του πεπτικού σωλήνα θα αποτελούν ίσως

τους πρώτους χαρακτήρες του ζώου που θα υπόκεινται σε πιέσεις φυσικής επιλογής (Hailey 1998).

Με τον όρο αποτελεσματικότητα της πέψης, εκτός από την αποτελεσματικότητα της διάσπασης της προσλαμβανόμενης τροφής και της απορρόφησης των θρεπτικών συστατικών, αναφερόμαστε και στην προσαρμοστικότητα του ζώου, δηλαδή στην ικανότητά του να προσαρμόζει/μεταβάλλει τη διεργασία της πέψης (Bennett & Dawson 1976). Τέτοιου είδους τροποποιήσεις είναι, ως επί το πλείστον, εμφανείς, σε προσαρμογές, που έχουν υιοθετήσει τα φυτοφάγα ερπετά (Cooper Jr & Vitt 2002, Iverson 1982, McBee 1971), μια και τα φυτά, αποτελούν μια φτωχή σε ενέργεια τροφή για τα ζώα, εξαιτίας της δυσκολίας στην πέψη τους. Στην περίπτωση των τελευταίων, έχει αποδειχθεί, πρώτον, ότι η πεπτική αποδοτικότητα είναι ανάλογη με εκείνη των θηλαστικών (Bjorndal 1985, Nagy & Milton 1979, Nagy και συν. 1999, Van Soest 1982), δεύτερον, ότι η συνοδός βακτηριοχλωρίδα διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην πέψη, ακριβώς όπως στα εξειδικευμένα φυτοφάγα θηλαστικά (Troyer 1984) και, τρίτον, ότι ο χρόνος που απαιτείται για την ολοκλήρωση των πεπτικών διαδικασιών είναι σημαντικά αυξημένος (Karason και συν. 1986). Επιγραμματικά οι προσαρμογές, που έχουν υιοθετήσει τα φυτοφάγα ερπετά, αφορούν την αύξηση του μήκους του γαστρεντερικού σωλήνα και του κλάσματος: μήκος γαστρεντερικού σωλήνα προς μήκος σώματος, διαφοροποιήσεις στη φυσιολογία και λειτουργία του πεπτικού συστήματος, μεταβολή της σύστασης της εντερικής μικροχλωρίδας, όπως και τροποποιήσεις του στοματογναθικού συστήματος (σχήμα κεφαλής, δόντια, γναθικό μυϊκό σύστημα) (Herrel και συν. 1998, Herrel και συν. 2008, Iverson 1982, Karason & Martinez Del Rio 2007, King 1996, Mateo & Lopez-Jurado 1992, McBee 1971, Skoczylas 1978, Vervust και συν. 2010). Πέραν των διαφοροποιήσεων που έχουν αναπτύξει τα φυτοφάγα ερπετά, οι παμφάγες σαύρες, παρά το γεγονός της μη εξειδίκευσής τους σε μια διατροφή αποκλειστικά φυτικής ύλης, έχουν επίσης υιοθετήσει μια σειρά μηχανισμών και προσαρμογών, που παρομοιάζουν με εκείνες των φυτοφάγων taxa και σχετίζονται με τις διαδικασίες διάσπασης και πέψης της κυτταρίνης και λιγνίνης των φυτών (Zimmerman & Tracy 1989).

Τα τμήματα του γαστρεντερικού σωλήνα, όπου λαμβάνει χώρα η διάσπαση, πέψη και απορρόφηση των προσλαμβανόμενων μορίων, είναι το στομάχι, το δωδεκαδάκτυλο και το έντερο (Skoczylas 1978). Από τα τρία αυτά τμήματα, το πλέον σημαντικό για τη διεργασία της πέψης είναι το δωδεκαδάκτυλο, μια και η πέψη στο στομάχι είναι, εν πολλοίς, περιορισμένη. Στο τμήμα αυτό της πεπτικής οδού πραγματοποιείται η διάσπαση της τροφής και ο σχηματισμός του χυλού, που στη συνέχεια προωθείται στο

δωδεκαδάκτυλο (ανώτερο τμήμα του εντέρου) - διαδικασία εξίσου σημαντική για την αποτελεσματική πέψη της τροφής.

Η πεπτική αποδοτικότητα εξαρτάται από τη συνδυασμένη δράση της κινητικότητας του γαστρεντερικού σωλήνα, του χρόνου διέλευσης της τροφής μέσα από τον γαστρεντερικό σωλήνα (gut passage time, GPT), της δραστηριότητας των πεπτικών ενζύμων, καθώς και της ποιότητας της τροφής (σύσταση και θρεπτική αξία της τροφής) (Harlow και συν. 1976). Με τον όρο πεπτική αποδοτικότητα αναφερόμαστε στην αποτελεσματικότητα του πεπτικού σωλήνα να απορροφά τα θρεπτικά συστατικά από την τροφή και ορίζεται ως το ποσό της ενέργειας που προσλαμβάνεται από τα τοιχώματα του γαστρεντερικού σωλήνα, ενώ υπολογίζεται λαμβάνοντας υπ' όψιν το ενεργειακό περιεχόμενο της τροφής και των περιττωμάτων του ζώου (Harlow και συν. 1976, Johnson & Lillywhite 1979, McConnachie & Alexander 2004). Βέβαια, ο ορισμός αυτός παρουσιάζεται προβληματικός, αν αναλογιστούμε ότι στα περιττώματα εκτός από τεμάχια τροφής που δεν χωνεύθηκαν και γαστρεντερικές εκκρίσεις που δεν απορροφήθηκαν, εντοπίζονται και σημαντικές ποσότητες κυττάρων (εντερικών και μη) που απεκκρίνονται, βακτήρια, αζωτούχα τελικά προϊόντα, κ.α. (Avery 1971, Harlow και συν. 1976, Mueller 1970, Troyer 1984), με αποτέλεσμα να υπάρχει υπερεκτίμηση του ενεργειακού περιεχομένου των περιττωμάτων. Για το λόγο αυτό, προτιμάται ο όρος φαινομενική πεπτική αποδοτικότητα (apparent digestive efficiency, ADE), που λαμβάνει υπ' όψιν τους παραπάνω περιορισμούς και χρησιμοποιείται ως συνώνυμος της πεπτικής αποδοτικότητας (McDonald και συν. 1966, Throckmorton 1973).

Ο δεύτερος παράγοντας, που αναφέρθηκε παραπάνω και ο οποίος επηρεάζει την πεπτική διαδικασία, χωρίς ωστόσο να δίνει πληροφορίες για την αποτελεσματικότητα της πέψης (Van Damme και συν. 1991), είναι ο χρόνος διέλευσης της τροφής μέσα από τον γαστρεντερικό σωλήνα. Πρόκειται για το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από την στιγμή της κατάποσης της τροφής, μέχρι την πρώτη αφόδευση του οργανισμού. Οι μετρήσεις του δίνουν μια εκτίμηση του χρόνου που η τροφή παραμένει στην πεπτική οδό, αποτελώντας σημαντική παράμετρο για την πεπτική αποδοτικότητα, καθώς μεγαλύτερος χρόνος διέλευσης επιτρέπει μια πιο παρατεταμένη δράση των πεπτικών ενζύμων πάνω στα τροφικά τεμάχια (Alexander και συν. 2001).

Σε σύγκριση με τους ενδόθερμους οργανισμούς η διαδικασία της πέψης παρουσιάζεται σαφώς πιο χρονοβόρα στα εξώθερμα ζώα (Parra 1978). Βέβαια, ακόμα και εντός της ομάδας των σαυρών, ο GPT μπορεί να αποκλίνει αισθητά μεταξύ διαφορετικών ειδών. Συγκεκριμένα, ο χρόνος, που η τροφή παραμένει μέσα στον γαστρεντερικό σωλήνα,

μπορεί να ποικίλει από μερικές ώρες μέχρι αρκετές ημέρες (Karason και συν. 1986, Pafilis και συν. 2007, Vervust και συν. 2010). Αντίστοιχα, οι τιμές ADE μπορούν να διαφέρουν ανάλογα με το διαιτητικό πρότυπο από 30% μέχρι και 95% (Harwood 1979, Johnson & Lillywhite 1979, Lillywhite 1987, McConnachie & Alexander 2004, van Marken Lichtenbelt 1992), ενώ ειδικά για τα σαρκοφάγα-εντομοφάγα είδη των Lacertidae οι τιμές ADE κυμαίνονται γύρω στο 70-90% (Pafilis και συν. 2007, Vervust και συν. 2010, Xiang και συν. 1996, Xiang και συν. 1993).

Όταν πληθυσμοί ενός είδους εποίκίζουν νέα διαφορετικού τύπου ενδιαιτήματα, η διαθεσιμότητα και ταξινομική σύνθεση των κοινοτήτων αρthropόδων τείνει να διαφέρει (Vitt και συν. 1997), γεγονός που, συχνά, οδηγεί σε αλλαγές στην ποιότητα της τροφής του ζώου και, συνεπακόλουθα, στη διαδικασία της πέψης. Επιπλέον, είναι καλά τεκμηριωμένο ότι και η θερμοκρασία μπορεί να επηρεάσει τη διεργασία της πέψης, μεταβάλλοντας την δραστηριότητα των πεπτικών ενζύμων (Berg και συν. 2002), την κινητικότητα του γαστρεντερικού σωλήνα, τον χρόνο διέλευσης (da C. Diefenbach 1975, Pafilis και συν. 2007, Παφίλης 2003) και, τελικά, την πεπτική αποδοτικότητα. Ιδιαίτερα όσον αφορά την περίπτωση των εξώθερμων οργανισμών, όπως είναι οι σαύρες, η δραστηριότητα των πεπτικών ενζύμων προσεγγίζει τους βέλτιστους ρυθμούς της μέσα στο πλαίσιο θερμορρύθμισης των ζώων (Peterson και συν. 1993), ενώ έχει αποδειχθεί ότι σαύρες με υψηλότερες T_{set} εμφανίζουν μεγαλύτερη πεπτική αποδοτικότητα (Harwood 1979, Παφίλης 2003).

3.1.5. Υποθέσεις και ερωτήματα κεφαλαίου

3.1.5.1. Περί θερμικής βιολογίας

Πλέον, είναι γνωστό ότι η βιολογία των νησιωτικών taxa, αποκλίνει με ποικίλους τρόπους από αυτή των ηπειρωτικών. Στις σαύρες έχει παρατηρηθεί ότι οι νησιωτικοί πληθυσμοί μπορούν να διαφέρουν σε πληθώρα χαρακτήρων όπως είναι το μέγεθος σώματος (Meiri 2007, Meiri και συν. 2011), οι χαρακτήρες ιστορίας ζωής (life-history) (αναπαραγωγή, ενηλικίωση, αριθμός των απογόνων, κ.α.) (Novosolon και συν. 2013, Pafilis και συν. 2011), οι αντι-θηρευτικοί μηχανισμοί (Pafilis και συν. 2008, Pérez-Mellado και συν. 1997), η πεπτική αποδοτικότητα (Jones 2008, Pafilis και συν. 2007, Vervust και συν. 2010) και η διαίτα (Van Damme 1999). Αιτία όλων αυτών, είναι οι ιδιαίτερες περιβαλλοντικές συνθήκες, που επικρατούν στα νησιά, οι οποίες διαφέρουν σημαντικά

από εκείνες των ηπειρωτικών περιοχών (MacArthur & Wilson 1967, Whittaker & Fernández-Palacios 2007). Αποτέλεσμα όλων των παραπάνω, είναι η πεποίθηση, ότι οι ιδιαιτερότητες των νησιωτικών βιοτόπων μπορούν να επιφέρουν, εκτός των άλλων και σημαντικές αλλαγές στη θερμική φυσιολογία των νησιωτικών πληθυσμών σε σύγκριση με αυτή των ηπειρωτικών.

Προκειμένου να προσεγγίσουμε τον στόχο μας, δηλαδή τη διερεύνηση του αν και πώς οι περιβαλλοντικές συνθήκες, που επικρατούν στα νησιά, μπορούν να επηρεάσουν το θερμορρυθμιστικό πρότυπο, επιλέχθηκαν δύο ηπειρωτικοί και δύο νησιωτικοί πληθυσμοί της *L. trilineata* και συγκρίθηκε το θερμορρυθμιστικό τους πρότυπο κατά τη διάρκεια της καλοκαιρινής περιόδου (βραχυπρόθεσμη χρονική κλίμακα). Μέχρι τώρα, μελέτες έχουν δείξει ότι, εξαιτίας της ρυθμιστικής επίδρασης (buffering effect), που έχει η θάλασσα στις κλιματικές συνθήκες, τα νησιά, σε γενικές γραμμές, παρουσιάζουν ένα πιο ήπιο θερμικό περιβάλλον με μικρότερες θερμοκρασιακές διακυμάνσεις και λιγότερο ακραίες τιμές, σε σύγκριση με το κλίμα των γειτονικών ηπειρωτικών περιοχών (Schwaner 1989). Με το δεδομένο αυτό, η πρώτη υπόθεση εργασίας που κάναμε, ήταν ότι οι συνθήκες, που θα επικρατούν στους δύο υπό μελέτη νησιωτικούς βιοτόπους, θα είναι περισσότερο ευνοϊκές (χαμηλές τιμές $\overline{d_e}$) για τις σαύρες και, επομένως, οι τιμές των λειτουργικών θερμοκρασιών (T_e 's) θα είναι χαμηλότερες, με αποτέλεσμα να αποτρέπεται η υπερθέρμανση των σαυρών. Επιπλέον, είναι ευρέως αποδεκτό ότι οι εξώθερμοι οργανισμοί, όπως οι σαύρες, που διαβιούν σε θερμικά αμετάβλητα ενδιαιτήματα, τείνουν να αφιερώνουν λιγότερη ενέργεια και χρόνο σε ενεργητική θερμορρύθμιση, ενώ αντίθετα έχουν την τάση να στρέφονται, σε ορισμένο βαθμό, σε στρατηγική θερμοσυμμόρφωσης (Hertz και συν. 1993, Shine & Madsen 1996). Για τους λόγους αυτούς, όσον αφορά τη δεύτερη υπόθεση εργασίας, που αναφέρεται στη θερμορρυθμιστική στρατηγική του είδους, αναμένουμε ότι οι νησιωτικές σαύρες, λόγω του λιγότερου αφιλόξενου νησιωτικού περιβάλλοντος, θα είναι λιγότερο αποτελεσματικοί θερμορρυθμιστές (που ισοδυναμεί με χαμηλές τιμές E), σε σχέση με τους πληθυσμούς της ηπειρωτικής χώρας.

Ωστόσο, διαφορετικοί πληθυσμοί ενός είδους, που εκτίθενται σε διαφορετικές αβιοτικές συνθήκες, μπορούν να ακολουθούν είτε παρόμοιες είτε διαφορετικές στρατηγικές θερμικής φυσιολογίας (Hertz και συν. 1993). Σύμφωνα με την πρώτη «στατική» άποψη («static» view), η θερμική φυσιολογία είναι εξελικτικά συντηρητική,

δηλαδή αποκρίνεται με αργό ρυθμό στην κατευθυνόμενη επιλογή¹ και, επομένως, διαφορετικοί πληθυσμοί τείνουν να επιλέγουν παρόμοιες θερμοκρασίες σώματος (preferred body temperatures, T_{pref}) και T_{set} παρ' όλες τις διαφορές στο αβιοτικό τους περιβάλλον (Van Damme και συν. 1990b). Κάτι τέτοιο, βέβαια, συνεπάγεται πως τα επίπεδα θερμορρύθμισης και ο χρόνος που ο κάθε πληθυσμός θα αφιερώνει για αποτελεσματική θερμορρύθμιση θα διαφέρουν, με ό,τι αυτό μπορεί να σημαίνει για την οικολογία και βιολογία του πληθυσμού αυτού (αναζήτηση τροφής, αναπαραγωγή, θήρευση, κ.α.). Αντίθετα, η άλλη άποψη («μεταβαλλόμενη»), που επικρατεί, υποστηρίζει ότι η θερμική φυσιολογία μπορεί να αποκρίνεται άμεσα στην κατευθύνουσα επιλογή, τουλάχιστον σε ορισμένα taxa, και ως εκ τούτου οι πληθυσμοί ενός taxon μπορούν να προσαρμόζονται σε αυτές τις αλλαγές του περιβάλλοντος, μεταβάλλοντας τις επιλεγόμενες θερμοκρασίες (T_{pref}) σώματος («labile» view) (Hertz & Huey 1981). Με βάση τις δύο αυτές απόψεις και λαμβάνοντας υπ' όψιν την ιδιαιτερότητα των νησιωτικών βιοτόπων, τέθηκε το ερώτημα: Κατά πόσον και σε ποιο βαθμό, οι πληθυσμοί του είδους *L. trilineata* έχουν προσαρμοστεί στα εκάστοτε περιβάλλοντα και τι συμβαίνει με τις T_{pref} και T_{set} ; Αν ο οργανισμός ακολουθεί τη «στατική» άποψη, τότε αναμένεται ότι οι ηπειρωτικοί και νησιωτικοί πληθυσμοί θα επιλέγουν παρόμοιες θερμοκρασίες στο εργαστήριο (Bogert 1949). Σε αντίθετη περίπτωση («μεταβαλλόμενη» άποψη), οι πληθυσμοί θα πρέπει να διαφέρουν, με τις νησιωτικές σαύρες να εμφανίζουν χαμηλότερες τιμές T_{set} λόγω του θερμικά σταθερότερου περιβάλλοντος (Huey 1982).

3.1.5.2. Περί οικολογίας της διατροφής

Η πράσινη σαύρα *L. trilineata* (Bedriaga, 1886), όντας ευδιάκριτη, χάρις στο μέγεθος και τον έντονο πράσινο χρωματισμό της, είναι από τις πιο συχνά παρατηρούμενες σαύρες των Βαλκανίων (Valakos και συν. 2008). Παρ' όλα αυτά, τα διαθέσιμα στοιχεία για τη διαίτα του είδους είναι εντυπωσιακά λίγα. Σε αντίθεση με τις άλλες πράσινες σαύρες του γένους - η τροφική οικολογία των οποίων έχει μελετηθεί επαρκώς (π.χ. Angelici και συν. 1997, Gvoždík & Boukal 1998, Molloy και συν. 2012, Nemes 2002) - οι μόνες διαθέσιμες πληροφορίες για το υπό μελέτη είδος προέρχονται μόνο από μερικές, αρκετά παλιές, παρατηρήσεις ενός ελληνικού και δύο βουλγαρικών πληθυσμών (Angelon και συν. 1966, Peters 1963, Werner 1903). Μόλις πρόσφατα, μια νέα έρευνα παρέσχε επιπρόσθετα

¹ Κατευθυνόμενη επιλογή: Στην πληθυσμιακή γενετική, η κατευθυνόμενη (κατευθύνουσα) επιλογή είναι μια μορφή φυσικής επιλογής η οποία τείνει να ευνοεί φαινοτύπους του ενός άκρου της σειράς ποικιλότητας έναντι των υπολοίπων. Ως αποτέλεσμα, με την πάροδο του χρόνου η συχνότητα των αλληλομόρφων που ευνοούν τον συγκεκριμένο χαρακτήρα αυξάνεται.

στοιχεία της διαίτας του είδους, η οποία όμως βασίστηκε σε έναν πολύ μικρό αριθμό δειγμάτων (πέντε δείγματα, Molloy & Petrova 2013).

Εξαιτίας της ευρείας κατανομής της, τον έντονο φυλετικό διμορφισμό που παρουσιάζει και τις οικολογικές διαφορές μεταξύ ανηλίκων και ενηλίκων ατόμων, η *L. trilineata* αποτελεί ένα εξαιρετικό είδος, προκειμένου να εξετάσουμε πιθανές φυλετικές, αναπτυξιακές, εποχιακές και γεωγραφικές διαφοροποιήσεις στη διαίτα. Η παρούσα μελέτη επικεντρώθηκε τόσο σε ηπειρωτικούς όσο και νησιωτικούς πληθυσμούς του είδους. Συνολικά, διατυπώθηκαν τέσσερις υποθέσεις που βασίστηκαν στην υπάρχουσα βιβλιογραφία της τροφικής οικολογίας άλλων Lacertidae. Αρχικά, θεωρήθηκε ότι οι αρσενικές σαύρες θα πρέπει να έχουν διαφορετικό τροφικό θώκο από τις θηλυκές, λόγω του μεγαλύτερου μεγέθους σώματος και του πιο ενεργού τρόπου αναζήτησης τροφής (Herrel και συν. 1996, Scharf & Meiri 2013). Ακόμη, υποθέσαμε ότι οι ανήλικες σαύρες τρέφονται με διαφορετική λεία, λόγω των αναπτυξιακών μορφολογικών αλλαγών στην κεφαλή που υφίστανται (Urošević και συν. 2013) και πως η εποχικότητα θα έχει σημαντικό αντίκτυπο στις διαιτητικές προτιμήσεις του είδους. Τέλος, οι νησιωτικοί πληθυσμοί θεωρήθηκε ότι θα εμφανίζουν μια περισσότερο γενική διαίτα λόγω της περιορισμένης διαθεσιμότητας τροφής που εντοπίζεται στα Μεσογειακά νησιά (Carretero 2004, Pérez-Mellado & Corti 1993).

3.1.5.3. Περί μορφολογίας της κεφαλής και δύναμης δήγματος

Δεδομένης της επίδρασης της οικολογίας της διατροφής στη μορφολογία του κρανίου και στη λειτουργία των εξαρτημάτων σύλληψης τροφής (Herrel και συν. 1999, Herrel και συν. 2001b), στόχος της παρούσας έρευνας ήταν η αποσαφήνιση του τρόπου με τον οποίον το σχήμα και το μέγεθος της κεφαλής, καθώς και η ισχύς δήγματος, διαμορφώνονται στις διάφορες ομάδες μελέτης (θηλυκές/αρσενικές σαύρες από τα νησιά και τη χέρσο). Έτσι, εάν το εύρος διάστασης του οικολογικού θώκου διαφέρει μεταξύ των τεσσάρων ομάδων μελέτη, θεωρούμε ότι αντίστοιχες αποκλίσεις θα πρέπει να παρουσιάζονται και στη μορφολογία της κεφαλής και στη δύναμη δήγματος, ως αποτέλεσμα της φυσικής επιλογής. Επιπροσθέτως, λαμβάνοντας υπ' όψιν τον έντονο διμορφισμό που παρουσιάζουν οι σαύρες της οικογένειας Lacertidae, υποθέσαμε ότι και η *L. trilineata* θα ακολουθεί το τυπικό πρότυπο φυλετικού διμορφισμού, με τα ενήλικα αρσενικά άτομα να έχουν μεγαλύτερα σε μέγεθος και πιο εύρωστες κεφαλές από ό,τι τα ενήλικα θηλυκά (Braña 1996, Herrel και συν. 1996, Scharf & Meiri 2013), συνεισφέροντας

έμμεσα στην διαφοροποίηση της διαίτας. Ωστόσο, το ερώτημα που τέθηκε ήταν: Πώς διαφοροποιείται η δύναμη δήγματος, δεδομένου ότι τόσο η φυλετική όσο και η φυσική επιλογή, δρουν στον λειτουργικό αυτό χαρακτήρα;

3.1.5.4. Περί πέψης

Βασικός σκοπός της παρούσας έρευνας ήταν η σύγκριση της απόδοσης της πέψης, για τα τρία οργανικά συστατικά της τροφής (λιπίδια, πρωτεΐνες και σάκχαρα), μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών της *L. trilineata*. Για το λόγο αυτό, εξετάσθηκαν ενήλικα αρσενικά άτομα από τις περιοχές της Άνδρου, Σκύρου, Καρδίτσας και Στυμφαλίας. Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε σε βραχυπρόθεσμη χρονική κλίμακα, κατά τη διάρκεια της άνοιξης με αρχές καλοκαιριού όπου, η διαθεσιμότητα τροφής στα Μεσογειακά οικοσυστήματα είναι αυξημένη (Καλτσάς 2010, Τριχάς 1996) και η δραστηριότητα των σαυρών είναι υψηλή, μια και έχει αποδειχθεί ότι, τόσο η μορφολογία του πεπτικού σωλήνα όσο και η λειτουργία της πέψης μπορούν να διαφέρουν ανά εποχή, ηλικία, φύλο και διαθεσιμότητα τροφής (Bouchard & Bjorndal 2006, Durtsche 2000, Fialho και συν. 2000, Iglesias και συν. 2009, Karasov 1996, Naya και συν. 2009, Tracy & Diamond 2005).

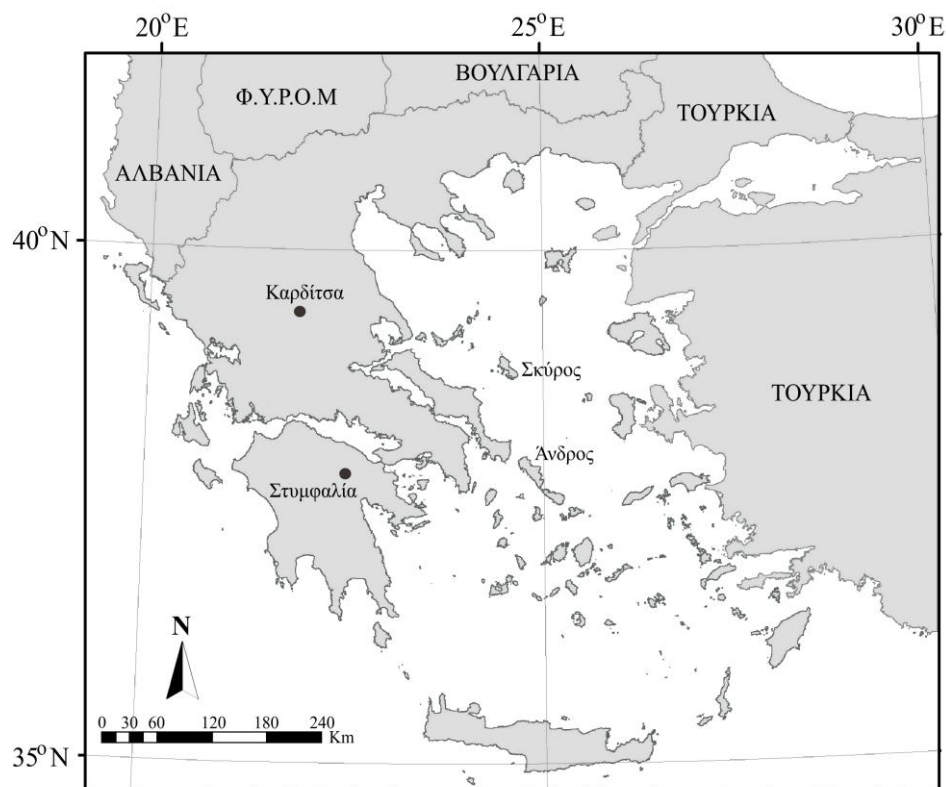
Λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι η λειτουργία και μορφολογία του γαστρεντερικού σωλήνα επηρεάζονται από το θερμορρυθμιστικό πρότυπο και την οικολογία της διατροφής και δεδομένων των υποθέσεων που έγιναν παραπάνω, στην παρούσα έρευνα διατυπώθηκε ακόμη μια υπόθεση. Συγκεκριμένα, αναμένουμε ότι εάν το πρότυπο διατροφής και η θερμική βιολογία των νησιωτικών πληθυσμών διαφοροποιούνται, αυτά θα έχουν σημαντικό αντίκτυπο στη μορφολογία και λειτουργία του πεπτικού σωλήνα (Herrel και συν. 2008, Vervust και συν. 2010). Πιο αναλυτικά, υποθέσαμε ότι εάν στα νησιά η τροφική διαθεσιμότητα είναι περιορισμένη και η θερμοκρασία του περιβάλλοντος χαμηλότερη, τότε τα μεγέθη: (α) πεπτική αποδοτικότητα και (β) χρόνος διέλευσης της τροφής, θα εμφανίζονται σημαντικά αυξημένα στις νησιωτικές σαύρες.

3.2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.2.1. Συλλογή δειγμάτων και περιγραφή των περιοχών δειγματοληψίας

3.2.1.1. Επιλογή των βιοτόπων

Η θερμική συμπεριφορά και η διεργασία της πέψης του είδους *L. trilineata*, μελετήθηκαν για τέσσερις πληθυσμούς στην Ελλάδα. Δύο από αυτούς βρίσκονται στα νησιωτικά οικοσυστήματα της Άνδρου και της Σκύρου, ενώ οι άλλοι δύο πληθυσμοί εντοπίζονται στις ηπειρωτικές περιοχές της Καρδίτσας και της Στυμφαλίας (χάρτης 3.1). Συνολικά, χρησιμοποιήθηκαν 74 ενήλικες αρσενικές σαύρες για τις δύο αυτές μελέτες (14 από κάθε νησί, 22 από την Καρδίτσα και 24 από τη Στυμφαλία), ενώ για κάθε σαύρα μετρήθηκε το μήκος και βάρος σώματος.

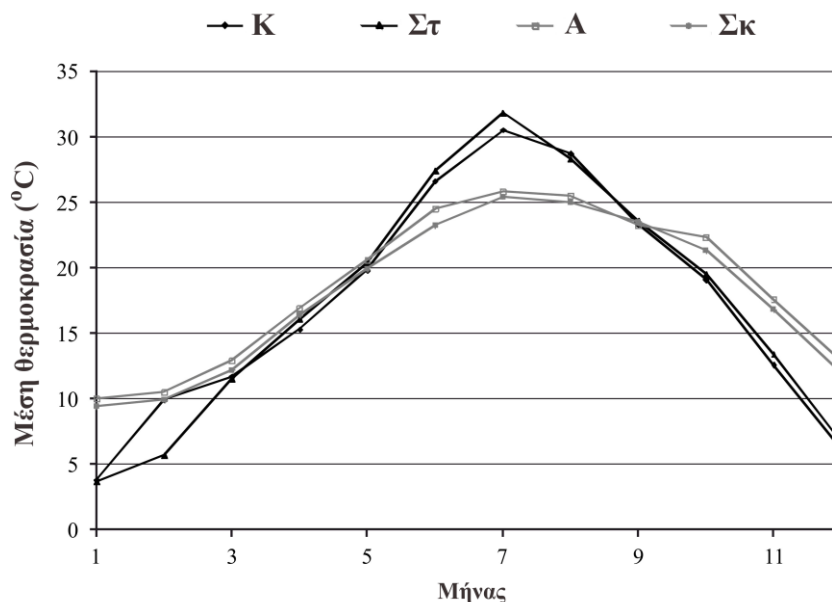


Χάρτης 3.1. Χάρτης της Ελλάδας που απεικονίζει τις τέσσερις περιοχές δειγματοληψίας για τη μελέτη της θερμικής φυσιολογίας της *Lacerta trilineata*.

Οι βιότοποι, όπου πραγματοποιήθηκαν οι δειγματοληψίες στα νησιά Άνδρος και Σκύρος, βρίσκονται στις τοποθεσίες Παλαιόπολη-Κατάκοιλο (και γύρω περιοχές) και Νύφι, αντίστοιχα. Πρόκειται για οικοσυστήματα που φέρουν Μεσογειακού τύπου

βλάστηση, με μακκία και φρύγανα να συνιστούν τον κυρίαρχο τύπο κάλυψης. Το θερμικό μωσαϊκό στις περιοχές αυτές, παρουσιάζεται πολύ πιο ομαλό, με μικρότερη ετήσια διακύμανση της θερμοκρασίας, συγκρινόμενο με εκείνο των ηπειρωτικών βιοτόπων, καθώς επηρεάζεται άμεσα από τη θαλάσσια αύρα (Kotini-Zabaka 1983). Πιο συγκεκριμένα, στην Άνδρο, η μέση μηνιαία θερμοκρασία του αέρα κυμαίνεται από 10,0°C, κατά την περίοδο του χειμώνα, έως 25,5°C την καλοκαιρινή περίοδο, ενώ στην Σκύρο οι τιμές αυτές διαμορφώνονται από 9,9°C έως 25,3°C.

Αντίθετα, οι περιοχές της Στυμφαλίας και Καρδίτσας βρίσκονται σε οροπέδια που περιβάλλονται από ορεινούς όγκους όπου πολύ συχνά παρατηρούνται χιονοπτώσεις. Ως αποτέλεσμα, το θερμικό τους περιβάλλον χαρακτηρίζεται από πιο έντονες διακυμάνσεις της θερμοκρασίας, με περισσότερες ακραίες τιμές, σε ετήσια βάση. Έτσι, το χειμώνα η μέση θερμοκρασία στην Καρδίτσα προσεγγίζει τους 3,5°C, ενώ την περίοδο του καλοκαιριού φτάνει τους 30,1°C και στην περιοχή της Στυμφαλίας οι αντίστοιχες τιμές κυμαίνονται από 7,0°C έως 32,8°C. Οι μέσες μηνιαίες θερμοκρασίες των τελευταίων 30 ετών για κάθε μια τοποθεσία ανακτήθηκαν από τη σελίδα της Εθνικής Μετεωρολογικής Υπηρεσίας (EMY) της Ελλάδας (http://www.hnms.gr/hnms/greek/index_html) (εικόνα 3.2).



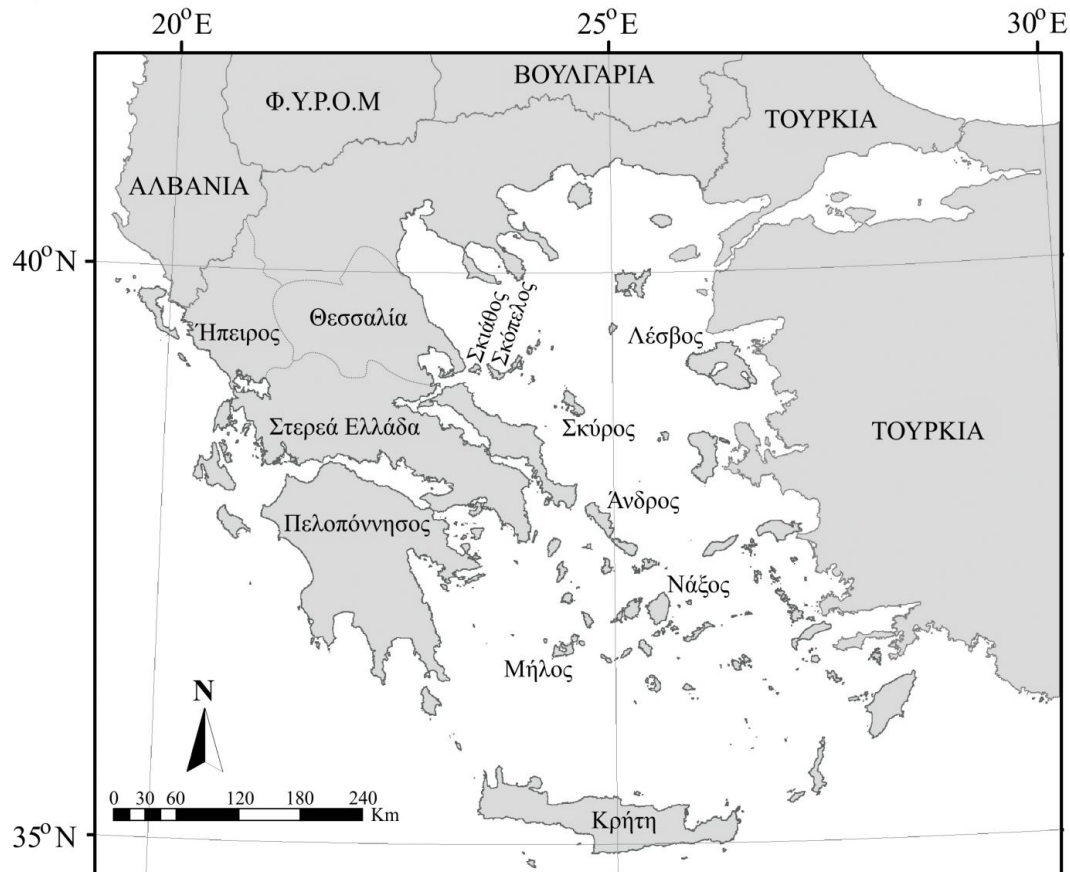
Εικόνα 3.2. Σχηματική απεικόνιση της μέσης μηνιαίας θερμοκρασίας των τελευταίων 30 ετών για τις τέσσερις περιοχές δειγματοληψίας. Κ: Καρδίτσα, Στ: Στυμφαλία, Α: Άνδρος, Σκ: Σκύρος.

3.2.1.2. Συλλογή δειγμάτων για τη μελέτη της οικολογίας της διατροφής και της μορφολογίας της κεφαλής

Προκειμένου να εξετασθεί τη σύνθεση της δίαιτας, χρησιμοποιήθηκαν, τόσο διατηρημένα δείγματα που έχουν κατατεθεί στην Ερπετολογική Συλλογή του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας της Κρήτης ($N = 159$) και στην Ερπετολογική Συλλογή του Ζωολογικού Κέντρου Ερευνών Α. Koenig του Μουσείου της Βόννης ($N = 129$) όσο και ενήλικες σαύρες που συνελέγησαν στο πεδίο (49 δείγματα εκ των οποίων 25 αρσενικές και 24 θηλυκές σαύρες) και μεταφέρθηκαν στις εγκαταστάσεις του τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Από το σύνολο των 288 μουσειακών δειγμάτων που εξετάσθηκαν, τα 145 δείγματα προέρχονταν από νησιά (12 από τη Λέσβο, 13 από τη Μήλο, 10 από τη Νάξο, 10 από την Άνδρο, 10 από τη Σκιάθο, 7 από τη Σκόπελο, 18 από τη Σκύρο και 65 από την Κρήτη), ενώ τα υπόλοιπα 143 από την ηπειρωτική Ελλάδα (47 από τη Θεσσαλία, 26 από την Ήπειρο, 23 από την Πελοπόννησο και 47 από τη Στερεά Ελλάδα). Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκαν 14 ζωντανές σαύρες από την Άνδρο (7 αρσενικές και 7 θηλυκές), 11 από την Σκύρο (6 αρσενικές και 5 θηλυκές), 10 από την Καρδίτσα (6 αρσενικές και 4 θηλυκές), καθώς και 15 από τη Στυμφαλία (7 αρσενικές και 8 θηλυκές) (χάρτης 3.2).

Για, τα δείγματα που έχουν κατατεθεί στην Ερπετολογική Συλλογή του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας της Κρήτης πραγματοποιήθηκε επιπλέον εξέταση της μορφολογίας της κεφαλής. Συνολικά, αναλύθηκαν 154 δείγματα της νησιωτικής και ηπειρωτικής Ελλάδας, βασιζόμενοι στο μέγεθος δείγματος του κάθε πληθυσμού. Πιο αναλυτικά, εξετάσθηκαν 20 θηλυκές και 48 αρσενικές σαύρες, από τα νησιά Κρήτη (9 θηλυκά και 20 αρσενικά), Άνδρος (5 θηλυκά και 14 αρσενικά) και Σκύρος (6 θηλυκά και 14 αρσενικά), καθώς και 30 θηλυκές και 56 αρσενικές σαύρες από τις περιοχές της Ηπείρου (10 θηλυκά και 10 αρσενικά), Θεσσαλίας (8 θηλυκά και 22 αρσενικά) και Πελοποννήσου (12 θηλυκά και 24 αρσενικά).



Χάρτης 3.2. Χάρτης της Ελλάδας με τις περιοχές προέλευσης των δειγμάτων. Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα έρευνα βρίσκονται κατατεθειμένα στην Ερπετολογική Συλλογή του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας της Κρήτης και του Ζωολογικού Κέντρου Ερευνών A. Koenig του Μουσείου της Βόννης.

3.2.2. Θερμοκρασίες σώματος πεδίου (μετρήσεις στο πεδίο)

Κατά τη διάρκεια των δειγματοληψιών, πραγματοποιήθηκε λήψη των θερμοκρασιών σώματος (T_b) από συνολικά 74 ενήλικες αρσενικές σαύρες, στις τέσσερις περιοχές μελέτης (28 από τα νησιά και 46 από τις ηπειρωτικές περιοχές). Αμέσως μετά τη σύλληψη του κάθε ζώου, καταγράφηκε η θερμοκρασία του με τη χρήση ειδικού υδραργυρικού θερμομέτρου ακρίβειας $0,1^{\circ}\text{C}$ (Weber quick-reading cloacal thermometer T-4000, Miller & Weber, Inc., Queens, NY), καθώς και το μήκος του σώματος (SVL), με τη χρήση ηλεκτρονικού βερνιέρου ακρίβειας $0,01\text{ mm}$ (digital caliper, Silverline 380244). Άτομα με SVL μεγαλύτερο από 80 mm θεωρήθηκαν ως ενήλικα (Pafilis & Valakos 2008).

3.2.3. Λειτουργικές θερμοκρασίες (μετρήσεις στο πεδίο)

Ως λειτουργικές θερμοκρασίες (operative temperatures, T_e), ορίζονται οι θερμοκρασίες που επιτυγχάνονται από ένα άψυχο αντικείμενο του ίδιου μεγέθους, χρώματος, σχήματος και αντανakλαστικότητας στις ίδιες αβιοτικές περιβαλλοντικές συνθήκες με το υπό μελέτη εξώθερμο ζώο (Pough και συν. 1998). Επομένως, μέσα από τις T_e σκιαγραφείται πρώτον, το θερμικό περίγραμμα μιας περιοχής, με εκτίμηση του μικροκλίματος των μικροενδιαιτημάτων, που απαντούν σ' αυτήν, και δεύτερον, η φέρουσα ικανότητα του συγκεκριμένου βιοτόπου να υποστηρίξει την παρουσία ενός πληθυσμού εξώθερμων ζώων (Hertz 1992a). Το ποσοστό ηλιοφάνειας κατά τη διάρκεια της ημέρας, η κλίση των ηλιακών ακτίνων, η αντανakλαστικότητα και η θερμοχωρητικότητα του υποστρώματος, είναι οι κυριότεροι παράγοντες, που μπορούν να επηρεάσουν το μικροκλίμα μιας θέσης σε τέτοιο βαθμό, ώστε η θερμοκρασία δύο πολύ κοντινών σημείων να ενδέχεται να διαφέρει αισθητά (Heatwole & Taylor 1987).

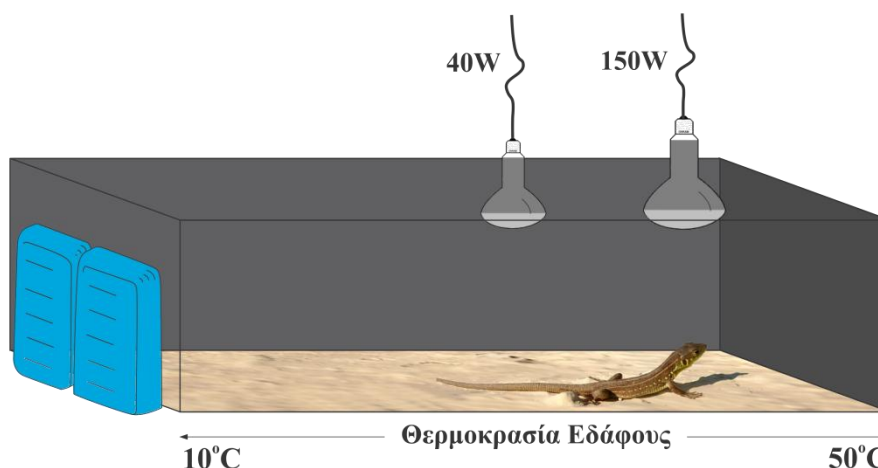
Για την εκτίμηση των λειτουργικών θερμοκρασιών, χρησιμοποιήθηκαν 16 χάλκινοι σωλήνες σε κάθε μια από τις περιοχές μελέτης. Η τοποθέτησή τους στον εκάστοτε βιότοπο, έγινε με γνώμονα την κάλυψη όσο το δυνατόν περισσότερων μικροκλιματικών συνθηκών, όπως αυτές διαμορφώνονται σε ένα οικοσύστημα (Dzialowski 2005, Huey 1991). Το πρωτόκολλο, που ακολουθήθηκε στην τοποθέτηση των μοντέλων περιελάμβανε το συνδυασμό δύο παραμέτρων, του φωτισμού και του τύπου υποστρώματος. Για την έκθεση στον ήλιο ορίστηκαν τρεις διαφορετικές καταστάσεις: Πλήρης έκθεση (full light, FL), μέτρια έκθεση (semi-light, SL) και σκοτάδι (darkness, D), ενώ για το υπόστρωμα χαρακτηρίστηκαν δύο τύποι: Χωμάτινο (ground, G) και βραχώδες (rock, R). Αποτέλεσμα αυτού, ήταν η δημιουργία έξι διαφορετικών ζευγών συνδυασμών φωτισμού-υποστρώματος, που ήταν διαθέσιμοι σε κάθε βιότοπο: FL-G (3 μοντέλα), FL-R (3 μοντέλα), SL-G (3 μοντέλα), SL-R (3 μοντέλα), D-G (2 μοντέλα), D-R (2 μοντέλα). Ο αριθμός των μοντέλων που τοποθετήθηκαν σε κάθε τύπο μικροενδιαιτήματος, προσδιορίστηκε με βάση το ποσοστό κάλυψης αυτών στην περιοχή μελέτης. Η επιλογή των ενδιαιτημάτων και η τοποθέτηση των μοντέλων έγινε εμπειρικά, με επιλογή των θέσεων, όπου, συνήθως, απαντώνται οι σαύρες. Παρ' όλα αυτά, δεν παραλείψαμε να τοποθετήσουμε μοντέλα και σε μέρη όπου σπάνια εντοπίζονται σαύρες, όπως στο σκοτάδι, προκειμένου να υπάρχει ένας αρνητικός μάρτυρας στην πειραματική διαδικασία.

Οι σωλήνες, τους οποίους χρησιμοποιήσαμε, είχαν μήκος 9 cm και διάμετρο 1,5 cm, μέγεθος που ταιριάζει στα ενήλικα άτομα του είδους *L. trilineata*. Προκειμένου να έχουν παρόμοιες ανατανακλαστικές και θερμοφυσικές ιδιότητες με το εξεταζόμενο ζώο, οι σωλήνες χρωματίστηκαν πράσινοι, ενώ 3 ml νερού προστέθηκαν στο εσωτερικό τους (Bakken 1992, Grbac & Bauwens 2001, Lutterschmidt & Reinert 2012). Η λήψη των θερμοκρασιών έγινε με την χρήση συστήματος ηλεκτρονικών θερμοκρασιακών καταγραφών (HOBO U12 4-Channel External Data Logger-U12-008), οι οποίοι παρέμεναν συνδεδεμένοι με τα μοντέλα καθ' όλη την διάρκεια της δειγματοληπτικής περιόδου (Díaz 1997). Οι τιμές των T_e λαμβάνονταν κάθε μισή ώρα, από τις 8:00 μέχρι τις 19:00 (διάστημα που οι σαύρες δραστηριοποιούνται το καλοκαίρι), για δύο διαδοχικές ημέρες. Η περίοδος δειγματοληψίας ορίστηκε μεταξύ Μαΐου και Ιουνίου όταν η θερμοκρασίες και οι κλιματικές συνθήκες είναι ευνοϊκές για τα εξώθερμα ζώα (Castilla & Bauwens 1991, Pafilis & Valakos 2008)

Προκειμένου να αποσαφηνιστεί η ακρίβεια με την οποία τα μοντέλα προσομοιώνουν τις θερμοφυσικές ιδιότητες του υπό μελέτη ζώου (Hertz 1992b), πραγματοποιήθηκαν τρία ανεξάρτητα εργαστηριακά πειράματα (επαναλήψεις) και εκτιμήθηκε ο ρυθμός ψύξης και θέρμανσης, τόσο του ζώου όσο και του ομοιώματος, βασιζόμενοι στη μεθοδολογία των Lutterschmidt και Reinert (2012). Η διαδικασία που εφαρμόστηκε είναι η ακόλουθη: Αρχικά το ομοίωμα (που περιείχε 3 ml νερό στο εσωτερικό του) και η σαύρα (ζωντανή και δεμένη πάνω σε ειδική ξύλινη βάση, έτσι ώστε να μην μπορεί να κινείται) αφέθηκαν να επιτύχουν μια αρχική θερμοκρασία 15°C. Ύστερα, μια πηγή θέρμανσης (ηλεκτρικός λαμπτήρας 150W) τοποθετήθηκε σε σταθερή απόσταση 60 cm πάνω από τα σώματά τους (ζώου και ομοιώματος) παρέχοντας θερμότητα για 45 λεπτά. Μετά το πέρας της περιόδου αυτής, η λάμπα θερμότητας έσβησε και άρχισε μια περίοδος ψύξης του ζώου και του σωλήνα, που διήρκησε 90 λεπτά. Κατά τη διάρκεια της τελευταίας διαδικασίας (140 λεπτά στο σύνολο) και κάθε 5 λεπτά, λαμβάνονταν αφενός η θερμοκρασία σώματος της σαύρας και αφετέρου η θερμοκρασία του εσωτερικού του σωλήνα. Από τον συσχετισμό των θερμοκρασιών αυτών (τιμές των T_e και T_b), κατασκευάστηκε η ευθεία παλινδρόμησης, τα χαρακτηριστικά της οποίας περιγράφουν την ακριβή σχέση της θερμικής προσομοίωσης. Τα αποτελέσματά αυτά έδειξαν μια ισχυρή συσχέτιση των T_e και T_b ($r = 0,985$, $N = 168$, $P < 0,001$).

3.2.4. Επιλεγόμενες θερμοκρασίες (μετρήσεις στο εργαστήριο)

Ως επιλεγόμενες θερμοκρασίες (T_{pref}), ορίζονται οι θερμοκρασίες σώματος, τις οποίες θα επέτυγχαναν τα ζώα, εάν στο πεδίο δεν υπήρχε κανένας φυσικός ή βιοτικός περιορισμός (Licht και συν. 1966) και οι οποίες θεωρούνται οι ιδεατές θερμοκρασίες για την πραγματοποίηση, στο βέλτιστο, των φυσιολογικών λειτουργιών (Bartholomew 1982). Συνεπώς, οι επιλεγόμενες θερμοκρασίες είναι απίθανο να καταγραφούν στο φυσικό περιβάλλον, εφόσον δεχόμαστε ότι απαιτείται ένα ελεγχόμενο περιβάλλον, όπου είναι εφικτή μια ομαλή κλίση θερμοκρασιών. Από τις πιο συνηθισμένες πειραματικές διατάξεις που χρησιμοποιούνται για τη μέτρησή τους είναι οι διάδρομοι θερμοκρασιακής κλίσης (Licht και συν. 1966, Van Damme και συν. 1991), μια μέθοδος που έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στα ελληνικά Lacertidae (Adamopoulou & Valakos 2005, Pafilis & Valakos 2004, Sagonas και συν. 2013) (εικόνα 3.3).



Εικόνα 3.3. Διάταξη διαδρόμου θερμοκρασιακής κλίσης για τον υπολογισμό των επιλεγόμενων θερμοκρασιών (T_{pref}). Η πειραματική διάταξη βασίστηκε στις εργασίες των Licht και συν. (1966) και Van Damme και συν. (1991).

Περισσότερες πληροφορίες για τις θερμικές απαιτήσεις του ζώου, μας παρέχει το λεγόμενο εύρος θερμοκρασιών (set-point, T_{set}), υποστηρίζοντας την άποψη ότι τα περισσότερα εξώθερμα επιτυγχάνουν θερμοκρασίες σώματος που κυμαίνονται μέσα σε κάποια στενά όρια (2 - 4°C) και όχι γύρω από μια σταθερή θερμοκρασία (Berk & Heath 1975). Για τον υπολογισμό του εύρους αυτού, έχουν προταθεί διαφορετικοί τρόποι, ανάλογα με την αποδοχή των ερευνητών για το εύρος των επιλεγόμενων θερμοκρασιών (50% – 80%) (DeWitt & Friedman 1979, Hertz και συν. 1993, Huey 1982, Van Damme

και συν. 1991). Στην παρούσα διατριβή υιοθετήθηκε η αποδοχή των κεντρικών 50% επιλεγόμενων θερμοκρασιών (Hertz και συν. 1993, Huey 1982).

Για τον υπολογισμό των T_{pref} , χρησιμοποιήθηκε ειδικά διαμορφωμένος διάδρομος θερμοκρασιακής κλίσης, διαστάσεων $150\text{ cm} \times 45\text{ cm} \times 45\text{ cm}$. Το δάπεδό του διαδρόμου ήταν καλυμμένο με χώμα, ενώ τα πλευρικά τοιχώματα είχαν προηγουμένως καλυφθεί με αδιαφανές πλαστικό χρώμα, προκειμένου να εξασφαλιστεί η παρεμπόδιση οπτικής επαφής μεταξύ ημών και του ζώου. Στην μια άκρη του διαδρόμου τοποθετήθηκαν συγκεντρωτικοί ηλεκτρικοί λαμπτήρες, ισχύος 40 W και 150 W, σε ύψος 35 εκατοστών από το δάπεδο, ενώ στην άλλη άκρη προσαρτήθηκαν στο εξωτερικό τοίχωμα της πλευράς του διαδρόμου παγοκύστες (Van Damme και συν. 1986) (βλ. **εικόνα 3.3**). Οι θερμοκρασίες αέρα και εδάφους κατά μήκος του διαδρόμου κυμαίνονταν από 50°C έως 10°C . Για τη λήψη των επιλεγόμενων θερμοκρασιών, χρησιμοποιήθηκε το ίδιο θερμόμετρο με τις μετρήσεις πεδίου (Castilla & Bauwens 1991). Η λήψη των θερμοκρασιών γινόταν κάθε 30 λεπτά επί 5 ώρες, σε ημερήσια βάση, και μόνο την καλοκαιρινή περίοδο, καθότι το εύρος θερμοκρασιών δεν είναι πάντα σταθερό, ενώ μπορεί να μεταβάλλεται ανά εποχή (Patterson & Davies 1978, Van Damme και συν. 1986).

3.2.5. Αποτελεσματικότητα θερμορρύθμισης

Η ικανότητα των εξώθερμων ζώων, να διατηρούν τη θερμοκρασία του σώματός τους σε σταθερά επίπεδα και κοντά σ' αυτά των επιλεγόμενων θερμοκρασιών, καλείται αποτελεσματικότητα της θερμορρύθμισης (effectiveness of thermoregulation, E) και υπολογίστηκε με δύο διαφορετικές μεθόδους. Αρχικά, χρησιμοποιήθηκε η υπολογιστική μέθοδος του Hertz και συν. (1993), όπως δόθηκε παραπάνω (βλ. Εισαγωγή, παράγραφος 3.1.1). Ωστόσο, στη μέθοδο αυτή υπεισέρχονται σφάλματα, λόγω της εγγενούς τάσης πληθώρας διαφορετικών συνδυασμών $\overline{d_b}$ και $\overline{d_e}$ να καταλήγουν σε παραπλήσιες τιμές E (επίπεδα θερμορρύθμισης). Αυτό συμβαίνει διότι η συγκεκριμένη μέθοδος λαμβάνει υπ' όψιν τον λόγο $\overline{d_b}/\overline{d_e}$, υποεκτιμώντας με τον τρόπο αυτό τυχόν διαφορές του θερμικού περιβάλλοντος, που ενδέχεται να αντιμετωπίζουν τα εξώθερμα ζώα των διαφορετικών γεωγραφικών περιοχών. Προκειμένου να ισορροπήσουμε την παραπάνω τάση και για να ελέγξουμε αν και σε ποιο βαθμό εκείνη υπεισέρχεται και στα δικά μας δεδομένα, εφαρμόστηκε ως συμπληρωματική προσέγγιση, η υπολογιστική μέθοδος που προτάθηκε

πρόσφατα από τους Blouin-Demers και Weatherhead (2001) και η οποία δίνεται από τον δίνεται από τον τύπο:

$$\overline{d_b} - \overline{d_e},$$

όπου η διαφορά προσδιορίζει ποσοτικά την έκταση, όπου ένα εξώθερμο ζώο αποκλίνει από την τέλεια θερμοσυμμόρφωση.

Στην πρώτη προσέγγιση (Hertz και συν. 1993), όταν η τιμή E τείνει στο μηδέν (δηλαδή οι τιμές $\overline{d_b}$ και $\overline{d_e}$ είναι παραπλήσιες), το εξώθερμο ζώο χαρακτηρίζεται ως θερμοσυμμορφωτής που επιλέγει τα μικροενδιαιτήματα του περιβάλλοντός του τυχαία. Σε αντίθετη περίπτωση, όταν η τιμή E προσεγγίζει τη μονάδα, τότε τα ζώα χαρακτηρίζονται ως θερμορρυθμιστές, που αναζητούν ενεργά κατάλληλα μικροενδιαιτήματα, ενώ η τιμή $\overline{d_e}$ είναι υψηλότερη της $\overline{d_b}$. Στη δεύτερη υπολογιστική μέθοδο (Blouin-Demers & Weatherhead 2001), θετικές τιμές $\overline{d_b} - \overline{d_e}$ περιγράφουν εξώθερμα ζώα με ικανότητα θερμορρύθμισης. Η τιμή μηδέν αναφέρεται σε τέλειους θερμοσυμμορφωτές, ενώ αρνητικές τιμές σε εξώθερμα ζώα που αποφεύγουν θερμικά ευνοϊκά μικροενδιαιτήματα. Τελικά, το μέγεθος της διαφοράς ($\overline{d_b} - \overline{d_e}$) αποτελεί δείκτη της αποτελεσματικότητας της θερμορρύθμισης.

3.2.6. Σύσταση τροφής και χαρακτηριστικά της λείας

Προκειμένου να εξετάσουμε την σύσταση της δίαιτας της *L. trilineata*, χρησιμοποιήθηκαν δύο μέθοδοι, ανάλογα με την προέλευση των δειγμάτων. Πρώτον, για την ανάλυση της σύστασης της δίαιτας των μουσειακών δειγμάτων, απομακρύνθηκε και χρησιμοποιήθηκε το περιεχόμενο ολόκληρου του πεπτικού σωλήνα και όχι αποκλειστικά το στομαχικό περιεχόμενο. Παρόλο που η μέθοδος αυτή εμπεριέχει τον κίνδυνο υπερεκτίμησης των πιο σκληρών, και επομένως δύσπεπτων ατόμων λείας, επιλέχθηκε η συγκεκριμένη προσέγγιση προκειμένου να αποφευχθεί η απώλεια πληροφορίας, καθότι έχει δειχθεί ότι σε περιπτώσεις που τα εξεταζόμενα άτομα είχαν συλληφθεί σε εποχή ή ώρα χαμηλής τροφικής δραστηριότητας, έφεραν άδειους στομάχους και υπολείμματα τροφής βρίσκονταν μόνο στο έντερο (Angelici και συν. 1997). Δεύτερον, για τα ζώα που συλλέχθηκαν από το πεδίο αναλύθηκαν τα περιττώματά τους με τη χρήση στερεοσκοπίου. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι οι δύο μέθοδοι ανάλυσης (στομαχικού περιεχομένου και περιττωμάτων) παρέχουν παρόμοια αποτελέσματα (Angelici και συν.

1997, Capula & Luiselli 1994, Pérez-Mellado και συν. 2011, αλλά βλ. Pincheira-Donoso 2008).

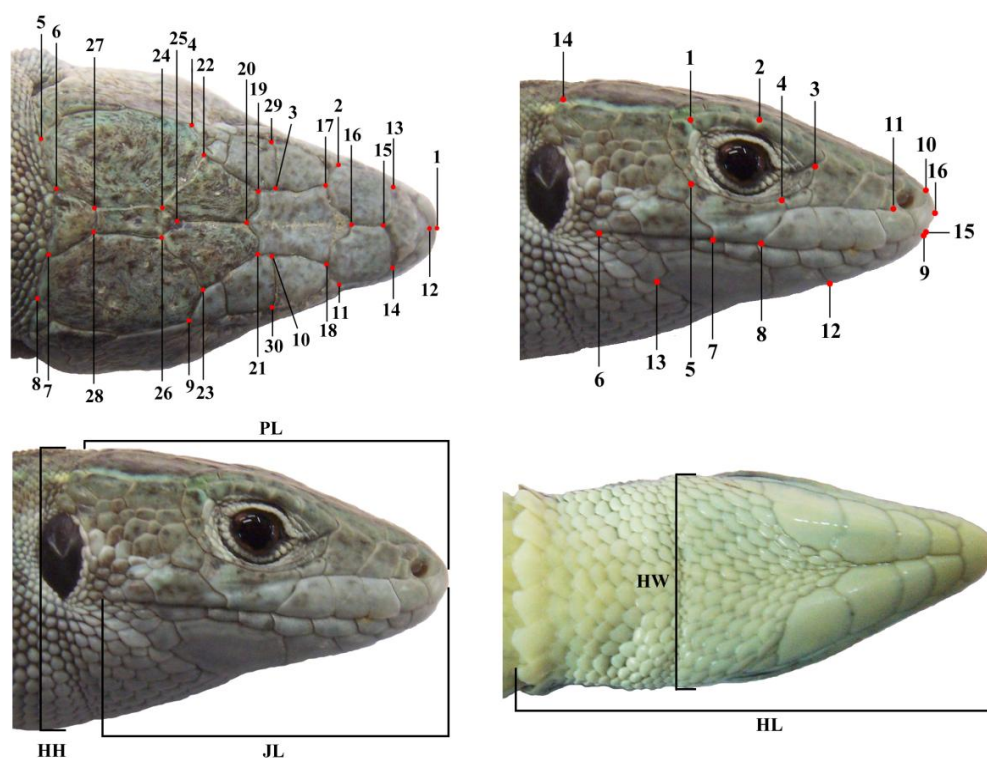
Πριν την ανάλυση, καταγράφηκε το φύλο και η ηλικία (ανήλικα και ενήλικα) κάθε σαύρας, ενώ μετρήθηκε και το μήκος σώματος, με τη χρήση ηλεκτρονικού βερνιέρου (Silverline 380244, ακρίβειας 0,01 mm). Άτομα, με μήκος σώματος μικρότερο των 80 mm και με ανοικτού χρώματος γραμμές στην πλάτη τους, θεωρήθηκαν ανήλικα (Pafilis & Valakos 2008, Valakos και συν. 2008). Τα άπεπτα άτομα της λείας ζωικής προέλευσης, καθώς και εκείνα που είχαν υποστεί μερική πέψη, εξετάστηκαν σε διοπτρικό μικροσκόπιο διατομής, αναγνωρίστηκαν και ταξινομήθηκαν σε επίπεδο τάξης, με τη βοήθεια κλειδών και οδηγών και καταγράφηκε ο αριθμός τους (για κάθε σαύρα ξεχωριστά). Επιπλέον, μετρήθηκε το μήκος και το πλάτος του κάθε τεμαχίου λείας, με ακρίβεια 0,5 mm, με τη χρήση ειδικού προσοφθάλμιου φακού. Επίσης, σημειώθηκαν όλα τα αναγνωρίσιμα τεμάχια λείας φυτικής και ανόργανης (πέτρες) προέλευσης (Castilla και συν. 1991) και καταγράφηκε η συχνότητα παρουσίας τους και όχι το επί τοις εκατό όγκου στο στομάχι.

Εκτός από την ταξινομική κατηγοριοποίηση της λείας, τα ασπόνδυλα που εντοπίστηκαν κατηγοριοποιήθηκαν, επίσης, και βάσει των λειτουργικών τους χαρακτήρων, όπως η σκληρότητα και η ικανότητα πτήσης, ακολουθώντας την κατηγοριοποίηση των Vanhooydonck και συν. (2007). Η σκληρότητα των αρθροπόδων έχει καθοριστεί σε προηγούμενες εμπειρικές μελέτες άλλων ερευνητών (Herrel και συν. 2001b, Verwaijen και συν. 2002). Πιο συγκεκριμένα, ως σκληρή λεία θεωρήθηκαν τα Κολεόπτερα, Γαστερόποδα, Ισόποδα, Υμενόπτερα και Μυρμήγκια, ως ενδιάμεσης σκληρότητας χαρακτηρίστηκαν τα Ορθόπτερα, Δακτυλιοσκόληκες, Ομόπτερα, Ημίπτερα, Διπλόποδα και Κεφαλόποδα, ενώ τα Αραχνίδια, Οπλιονίδια, Δερμάπτερα, Δίπτερα, Λεπιδόπτερα, Τριχόπτερα και οι προνύμφες εντόμων χαρακτηρίστηκαν ως μαλακή λεία. Επιπλέον, με βάση τον τρόπο διαφυγής, η λεία ζωικής προέλευσης κατηγοριοποιήθηκε σε ιπτάμενη (Δίπτερα, Λεπιδόπτερα, Υμενόπτερα και Ορθόπτερα) και εδαφόβια (υπόλοιπα taxa). Τα Μυρμήγκια, τέλος, διαχωρίστηκαν από την υπόλοιπη ομάδα των Υμενόπτερων για τις μεταγενέστερες αναλύσεις, λόγω της αδυναμίας πτήσης.

Τα αποτελέσματά μας αξιολογήθηκαν ως προς την επίδραση της εποχικότητας για την άνοιξη, το καλοκαίρι και το φθινόπωρο, αλλά όχι για τον χειμώνα όποτε και το είδος *L. trilineata* πέφτει σε χειμερινή νάρκη (Nettmann & Rykena 1984, Pafilis & Valakos 2008), του φύλου, της ηλικιακής κλάσης και του περιβάλλοντος διαβίωσης.

3.2.7. Μέγεθος και σχήμα κεφαλής

Για τη μελέτη του μεγέθους της κεφαλής, επιλέχθηκαν πέντε γραμμικοί χαρακτήρες: μήκος κεφαλής (head length, HL), πλάτος κεφαλής (head width, HW), ύψος κεφαλής (head height, HH), μήκος καλύμματος κεφαλής (pileus length, PL) και μήκος γνάθου (jaw length JL) (εικόνα 3.4), ενώ μετρήθηκε και το μήκος σώματος (SVL). Όλοι οι χαρακτήρες μετρήθηκαν τρεις φορές, με τη χρήση ηλεκτρονικού βερνιέρου (Silverline 380244, ακρίβειας 0,01mm) και υπολογίστηκε η μέση τιμή τους.



Εικόνα 3.4. Οι πέντε γραμμικοί κεφαλικοί χαρακτήρες που χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση της απλής μορφομετρίας (κάτω σχήματα) και τα σημεία της ραχιαίας και πλευρικής όψης της κεφαλής που χρησιμοποιήθηκαν για τις αναλύσεις της γεωμετρικής μορφολογίας (πάνω σχήματα), με βάση τη μελέτη της Kaliontzopoulou και συν. (2012). Μήκος κεφαλής (head length, HL), ύψος κεφαλής (head height, HH), πλάτος κεφαλής (head width, HW), μήκος γνάθου (jaw length, JL) και μήκος καλύμματος κεφαλής (pileus length, PL).

Η πλευρική και η ραχιαία όψη της κεφαλής απεικονίστηκαν και αναλύθηκαν με τη χρήση της μεθόδου της γεωμετρικής μορφομετρίας (Klingenberg 2010, Rohlf & Marcus 1993), με χρήση του λογισμικού MorphoJ (Klingenberg 2011). Η μέθοδος αυτή είναι ικανή να εντοπίζει διαφορές στο σχήμα, ακόμα και μικρής κλίμακας, οι οποίες δε θα μπορούσαν να εντοπιστούν με τη μέθοδο της απλής μορφομετρίας και ενδείκνυται για

συγκριτικές μελέτες που πραγματοποιούνται σε επίπεδο πληθυσμών (Kaliontzopoulou και συν. 2007). Στην παρούσα μελέτη, επιλέχθηκαν 30 σημεία στη ραχιαία πλευρά της κεφαλής και 16 στην πλευρική, με βάση την εργασία της Kaliontzopoulou και συν. (2007) (εικόνα 3.4). Τα σημεία αυτά θεωρούνται καλοί περιγραφικοί δείκτες της μορφολογίας της κεφαλής, καθότι έχουν χρησιμοποιηθεί και σε προηγούμενες μελέτες, σε σαύρες της οικογένειας Lacertidae (Bruner & Costantini 2009, Huyghe και συν. 2009, Kaliontzopoulou και συν. 2007). Οι κεφαλές φωτογραφήθηκαν από σταθερή απόσταση (15 cm) με ψηφιακή κάμερα (Panasonic DMC-FS41, ανάλυση 14MP), τοποθετημένη σε τρίποδα, ενώ ως κλίμακα χρησιμοποιήθηκε τετραγωνισμένο χαρτί. Οι εικόνες ψηφιοποιήθηκαν και επεξεργάστηκαν με τη χρήση του προγράμματος TpsDig (Rohlf 2008a). Τέλος, η απεικόνιση των διαφορών της γεωμετρίας της κεφαλής, μεταξύ των τεσσάρων ομάδων, πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του προγράμματος Morphueus (Slice 1999).

3.2.8. Μέγεθος ισχύος δήγματος

Για την εξέταση της ισχύος δήγματος, χρησιμοποιήθηκαν αποκλειστικά τα άτομα που συλλέχθηκαν στο πεδίο. Η μέτρησή της πραγματοποιήθηκε με την χρήση ενός μετατροπέα δύναμης, συνδεδεμένου με έναν ενισχυτή Kistler (τύπος 5995A, Kistler Inc., Winterthur, Ελβετία). Για την ποσοτικοποίηση της δύναμης δήγματος, οι σαύρες υποχρεώθηκαν να δαγκώσουν ένα ζευγάρι μεταλλικές πλάκες, που ήταν συνδεδεμένες με αισθητήρα καταγραφής πίεσης (για περισσότερες λεπτομέρειες βλ. Herrel και συν. 1999). Πριν το ζώο εκτελέσει το πείραμα, αφηνόταν να θερμορρυθμίσει για μια ώρα, προκειμένου να αποκτήσει την επιλεγόμενη θερμοκρασία σώματος (~33°C, αποτέλεσμα της μελέτης της θερμικής βιολογίας). Η δύναμη δήγματος κάθε σαύρας εξετάστηκε τρεις φορές (Herrel και συν. 2010). Η μεγαλύτερη τιμή των τριών επαναλήψεων, θεωρήθηκε ως η μέγιστη ισχύς δήγματος, που το ζώο μπορούσε να επιτύχει, και χρησιμοποιήθηκε στις μετέπειτα αναλύσεις.

3.2.9. Φαινομενική πεπτική αποδοτικότητα

Ο υπολογισμός της πεπτικής αποδοτικότητας πραγματοποιήθηκε, για τα τρία βασικά επιμέρους θρεπτικά συστατικά της τροφής, ξεχωριστά (πρωτεΐνες, σάκχαρα και λιπίδια).

Αν και η πλειοψηφία των μέχρι τώρα μελετών, που έχουν διεξαχθεί για την εκτίμηση της πεπτικής αποδοτικότητας, έχει πραγματοποιηθεί με βάση την τεχνική της θερμιδομετρίας, παρ' όλα αυτά, η τεχνική αυτή μπορεί να παρέχει μόνο μια ποσοτική καταγραφή της πεπτικής αποδοτικότητας (Witz & Lawrence 1993). Ωστόσο, όλα τα είδη των τροφών δεν έχουν την ίδια σύσταση ούτε χαρακτηρίζονται από την ίδια θρεπτική αξία, καθιστώντας επιτακτική την ανάγκη της επί μέρους ανάλυσης της πεπτικής αποδοτικότητας για καθένα από τα τρία οργανικά συστατικά.

Για την πραγματοποίηση της μελέτης αυτής, ακολουθήθηκε μια δίαιτα που στηρίζονταν αποκλειστικά σε προνύμφες του κολεόπτερου *Tenebrio*, καθώς η ποιότητα της διατροφής έχει μεγάλη επίδραση στην πεπτική αποδοτικότητα των σαυρών (Karason και συν. 1986, Troyer 1984). Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε είναι η εξής: Κάθε πειραματόζωο τρεφόταν καθημερινά με πέντε προνύμφες *Tenebrionidae* οι οποίες ζυγίζονταν σε αναλυτικό ζυγό (Ohaus analytica AS-60, με ακρίβεια 0,01 g). Επιπλέον, πέντε προνύμφες, αντίστοιχου βάρους, εμβαπτιζόνταν σε υγρό άζωτο, ακολουθούσε κονιορτοποίησή τους και καταψύχονταν μέχρι την βιοχημική ανάλυση. Ανά τακτά χρονικά διαστήματα μιας ώρας, καθ' όλη τη διάρκεια της μέρας, ελεγχόταν η παραγωγή περιττωμάτων. Σε περίπτωση που υπήρχαν περιττώματα, εκείνα συλλέγονταν, αφού πρώτα απομακρύνονταν οι αποθέσεις ουρικών αλάτων (Throckmorton 1973), εμβαπτιζόνταν σε υγρό άζωτο, κονιορτοποιούνταν και αποθηκεύονταν στον υπερκαταψύκτη για τις μετέπειτα βιοχημικές αναλύσεις.

Το ποσοστό της πεπτικής αποδοτικότητας, για τα επιμέρους οργανικά συστατικά (λιπίδια, πρωτεΐνες και σάκχαρα) υπολογίστηκε από τον ακόλουθο τύπο:

$$ADE_x = \frac{(I_x - E_x)}{I_x} \times 100 ,$$

όπου, I_x είναι η συγκέντρωση των επιμέρους θρεπτικών συστατικών (x = λιπίδια, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες) στις προνύμφες και E η συγκέντρωση των επιμέρους θρεπτικών συστατικών (x) που απέμεινε στα περιττώματα (Johnson & Lillywhite 1979, McConnachie & Alexander 2004).

3.2.9.1. Υπολογισμός των ολικών λιπιδίων

Για τον υπολογισμό των ολικών λιπιδίων ακολουθήθηκε η μέθοδος των Alexis και συν. (1985). Συγκεκριμένα, 0,035 gr ιστού ομογενοποιούνται με 1,5 ml διαλύματος χλωροφορμίου-μεθανόλης (CH_3Cl-CH_3OH), σε αναλογία 2:1 (v/v). Ακολουθεί

φυγοκέντριση για 12 min στις 3000 rpm στους 4°C. 200 µl από το υπερκείμενο, τοποθετούνται σε γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα των 10 ml, όπου προστίθενται 5 ml H₂SO₄ (94%-96% v/v) και ακολουθεί βρασμός για 10 min. Έπειτα, οι σωλήνες ψυχραίνονται σε πάγο και 200 µl από το διάλυμα μεταφέρονται σε νέα σειρά σωλήνων, στους οποίους προστίθενται επιπλέον 5 ml διαλύματος φωσφοβανιλίνης. Ακολουθεί επώαση για 10 min στους 37°C και φωτομέτρηση στα 530 nm. Ως μάρτυρας της όλης αντίδρασης, χρησιμοποιείται διάλυμα που περιέχει φωσφοβανιλίνη και νερό, ενώ για πρότυπο χρησιμοποιείται μίγμα ελαιόλαδου-αραβοσιτέλαιου σε αναλογία 2:1 (v/v). Τελικά, η ποσότητα των ολικών λιπιδίων υπολογίζεται από τον ακόλουθο τύπο:

$$\frac{OD_{\text{δειγματος}}}{OD_{\text{προτυπου}}} \times \frac{W_{\text{προτυπου}}}{W_{\text{ιστου}}} \times 1000 = mgr \text{ λιπιδίων} / gr \text{ ιστού}$$

3.2.9.2. Προσδιορισμός των πρωτεϊνών

Για τον προσδιορισμό των πρωτεϊνών, εφαρμόστηκε η μέθοδος της διουρίας (Layne 1957). Για τη μελέτη αυτή, ομογενοποιούνται 0,15 g ιστού με τριπλάσιο όγκο υπερχλωρικού οξέος (perchloric acid, PCA), συγκέντρωσης 10% (w/v). Το ομογενοποίημα φυγοκεντρείται για 10 min στις 5000 rpm στους -4°C. Το ίζημα διαλυτοποιείται με διάλυμα NaOH 0,1 N (για κάθε 1 g ιστού προσθέτουμε 5 ml διαλύματος NaOH) και επωάζεται για 30 min σε υδατόλουτρο στους 37°C. Στη συνέχεια, 50 µl από το δείγμα τοποθετούνται σε γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα των 10 ml όπου προστίθενται 950 µl δις αποσταγμένου νερού (ddH₂O) και 4 ml διουρίας. Το μίγμα αντιδραστηρίων αναδεύεται και επωάζεται σε θερμοκρασία δωματίου για 30 min. Η φωτομέτρηση πραγματοποιείται στα 550 nm, ενώ προηγουμένως το φωτόμετρο έχει μηδενισθεί με σωλήνα μάρτυρα που περιέχει διουρία και νερό. Η ποσότητα των πρωτεϊνών ανά gr ιστού προκύπτει από τη σύγκριση των τιμών απορρόφησης με πρότυπη καμπύλης αλβουμίνης (0,5 - 10 mg/ml).

3.2.9.3. Προσδιορισμός των σακχάρων

Για τον προσδιορισμό των σακχάρων εφαρμόστηκε η μέθοδος Dubois (1956). 0,15 g ιστού ομογενοποιούνται με δις απεσταγμένο νερό σε αναλογία 1:10 (v/v). Έπειτα, το ομογενοποίημα αφήνεται να βράσει για 30 min. Το μίγμα αντιδρώντων, που περιέχει 1 ml του ομογενοποιήματος (αραιωμένο σε αναλογία 1:500), 1 ml φαινόλη 5% (w/v) και 5 ml H₂SO₄ (94%-96% v/v), επωάζεται σε υδατόλουτρο στους 30°C για 10 min. Η φωτομέτρηση πραγματοποιείται στα 490 nm. Η ποσότητα των σακχάρων ανά gr ιστού

προκύπτει από την σύγκριση των τιμών απορρόφησης του δείγματος, με πρότυπη καμπύλη γλυκόζης (συγκεντρώσεων 0, 25, 50, 75 και 100 mg/ml) σε συνάρτηση με την οπτική απορρόφηση.

3.2.10. Χρόνος διέλευσης της τροφής

Ο χρόνος διέλευσης της τροφής (GPT) υπολογίστηκε με τον εξαναγκασμό των σαυρών να φάνε προνύμφες *Tenebrionidae*, που είχαν σημαδευτεί με μικρό ($3 \times 2 \times 0,1 \text{ mm}^3$) κόκκινο κομμάτι πλαστικού (δείκτης), το οποίο εμφυτεύτηκε στην κοιλιακή τους περιοχή (Pafilis και συν. 2007, Van Damme και συν. 1991). Στη συνέχεια, οι σαύρες τοποθετήθηκαν σε ατομικά terraria, όπου είχαν πρόσβαση σε νερό *ad libitum* και σε θαλάμους σταθερής θερμοκρασίας, που προσέγγιζαν τη θερμοκρασία που τα ζώα επιτυγχάνουν στη φύση ($T_b = \sim 32^\circ\text{C}$, αποτέλεσμα θερμικής βιολογίας, παράγραφος 3.3.2). Εδώ θα πρέπει να τονιστεί ότι για λόγους απλούστευσης της όλης διαδικασίας και λαμβάνοντας υπ' όψιν την επίδραση της θερμοκρασίας στο χρόνο διέλευσης της τροφής (Pafilis και συν. 2007, Van Damme και συν. 1991, Xiang και συν. 1996), για τη μελέτη του GPT των τεσσάρων πληθυσμών, χρησιμοποιήθηκε - για τα ζώα όλων των πληθυσμών -, η ίδια σταθερή θερμοκρασία ($\sim 32^\circ\text{C}$, θερμοκρασία που τα ζώα επιτυγχάνουν στη φύση - βλ. παράγραφο 3.3.2), παρόλο που η θερμοκρασία του περιβάλλοντος μεταξύ των τεσσάρων πληθυσμών μελέτης διαφέρει (βλ. παράγραφο 3.3.2). Ανά δύο ώρες ελεγχόταν η παρουσία ή όχι του δείκτη στα περιττώματα, ενώ παράλληλα καταγραφόταν και ο χρόνος από την ώρα του ταΐσματος.

3.2.11. Δραστικότητα των πεπτικών ενζύμων

Η δραστικότητα των υδρολυτικών ενζύμων (πεπτιδασών και γλυκοσιδασών) πραγματοποιήθηκε ξεχωριστά για τα τρία βασικά τμήματα της πεπτικής οδού: στομάχι, δωδεκαδάκτυλο (πρώτο τμήμα του λεπτού εντέρου) και το υπόλοιπο έντερο (ενιαίο λεπτό και παχύ). Για την εκτίμηση της δραστικότητας των τελευταίων χρησιμοποιήθηκε, όπως και προηγουμένως, η θερμοκρασία που επιτυγχάνουν τα ζώα στο πεδίο, κατά τους καλοκαιρινούς μήνες, καθότι εκείνη προσεγγίζει το εύρος των T_{pref} (T_{set}) (βλ. παράγραφο 3.3.2), αλλά και επειδή η δραστικότητα των πεπτικών ενζύμων λαμβάνει την υψηλότερη της τιμή κοντά στο εύρος των επιλεγόμενων θερμοκρασιών (T_{set}) (Hofer και συν. 1975,

Παφίλης 2003). Η τελευταία υπολογίστηκε σε σχέση με τον χρόνο και αποδίδεται σε μpoles ενζύμου προς γραμμάριο υποστρώματος που διασπάται ανά λεπτό.

Για τον υπολογισμό της ενζυμικής δραστηρότητας απομακρύνθηκε ολόκληρος ο γαστρεντερικός σωλήνας ζωντανών σαυρών (συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 28 σαύρες, επτά από κάθε πληθυσμό, αναλυτικά το μέγεθος δείγματος δίνεται στον **πίνακα 3.9**) σε θερμοκρασία δωματίου και χωρίστηκε στα επιμέρους τμήματα: στομάχι, δωδεκαδάκτυλο (πρώτο τμήμα του λεπτού εντέρου) και υπόλοιπο έντερο (εφεξής έντερο) (Παφίλης 2003). Αμέσως, τα κομμάτια του πεπτικού σωλήνα εμβαπτίστηκαν σε υγρό άζωτο και στη συνέχεια κονιορτοποιήθηκαν σε γουδί λειοτρίβησης. Τέλος, αποθηκεύτηκαν στον υπερκαταψύκτη σε ξεχωριστά falcons μέχρι τη βιοχημική ανάλυση.

3.2.11.1. Υδρόλυση των πρωτεϊνών

Η δραστηρότητα των πεπτιδασών υπολογίστηκε με τη μέθοδο Lowry (1951) και με τη χρήση μετουσιωμένης καζεΐνης σε συγκέντρωση 4% (w/v), ως υπόστρωμα. Ο κονιορτοποιημένος ιστός ομογενοποιείται με 0,1 M φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα pH 7 σε αραιώση 1:20 w/v και επωάζεται σε υδατόλουτρο στους 32°C (T_b) για 30 min. Η αντίδραση τερματίζεται με 10% (v/v) TCA, το οποίο προκαλεί κατακρήμνιση των μη υδρολυμένων πρωτεϊνών. Ακολουθεί φυγοκέντρωση στις 6000 rpm για 10 min, το ίζημα απορρίπτεται, ενώ το υπερκείμενο χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης της υδρολυμένης πρωτεΐνης, με τη μέθοδο Lowry.

Η μέθοδος Lowry συνίσταται στην προσθήκη δύο ειδικών αντιδραστηρίων, που συμβάλλουν στο σχηματισμό έγχρωμου συμπλόκου. Το πρώτο αντιδραστήριο, της διουρίας, αποτελείται από τρία επιμέρους διαλύματα: διάλυμα Na_2CO_3 2% (w/v) σε NaOH 0,1 N, διάλυμα $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1% (w/v) και διάλυμα τρυγικού καλιονάτριου 2% (w/v), σε αναλογία 100:1:1 - τα ιόντα χαλκού, που περιέχονται σε αυτό το ειδικό αντιδραστήριο, αλληλεπιδρούν με τους πεπτιδικούς δεσμούς σε αλκαλικό περιβάλλον και δίνουν το χαρακτηριστικό έγχρωμο σύμπλοκο της διουρίας. Σε κάθε δείγμα προστίθενται 2 ml αντιδραστηρίου διουρίας και επωάζονται για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά το τέλος της επώασης προστίθενται επιπλέον σε κάθε δείγμα 200 μl φωσφομολυβδαινικού-φωσφοβολφραμικού αντιδραστηρίου (Folin-Ciocalteu) [αραιωμένο 5:12 (v/v) με ddH_2O]. Το μίγμα αφήνεται για επώαση για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου ώστε να σχηματισθεί έγχρωμο σύμπλοκο. Το τελευταίο δημιουργείται λόγω της αναγωγής του αντιδραστηρίου Folin-Ciocalteu από τα αμινοξέα τυροσίνη και τρυπτοφάνη. Τέλος,

μετρίεται η οπτική πυκνότητα των δειγμάτων στα 750 nm, ενώ το φωτόμετρο μηδενίζεται με κυψελίδα που δεν περιέχει ιστό. Τα αποτελέσματα απορρόφησης, που λαμβάνονται, αξιολογούνται σε σύγκριση με πρότυπη καμπύλη αλβουμίνης, ενώ η δραστικότητα των πεπτιδασών υπολογίζεται από τον ακόλουθο τύπο:

$$\frac{(\Delta OD - \beta)}{\alpha} \times \frac{0,1(ml)}{V_{\text{κυψελίδας}(ml)}} \times \frac{0,8}{0,1} \times \frac{\text{αραίωση}}{V_{\text{εκχυλίσματος}(ml)}} \times \frac{1}{t_{\text{(min)}}}$$

όπου, ΔOD είναι η διαφορά μεταξύ της οπτικής πυκνότητας του δείγματος και του βρασμένου εκχυλίσματος. Τα α και β είναι οι συντελεστές της εξίσωσης της ευθείας παλινδρόμησης από την πρότυπη καμπύλη αλβουμίνης. Οι μονάδες της εξίσωσης είναι ποσότητα υποστρώματος που διασπάστηκε στη μονάδα του χρόνου (U) ανά γραμμάριο ιστού ($\mu\text{moles} \times \text{min}^{-1} \times \text{gr}^{-1}$).

3.2.11.2. Υδρόλυση των υδατανθράκων

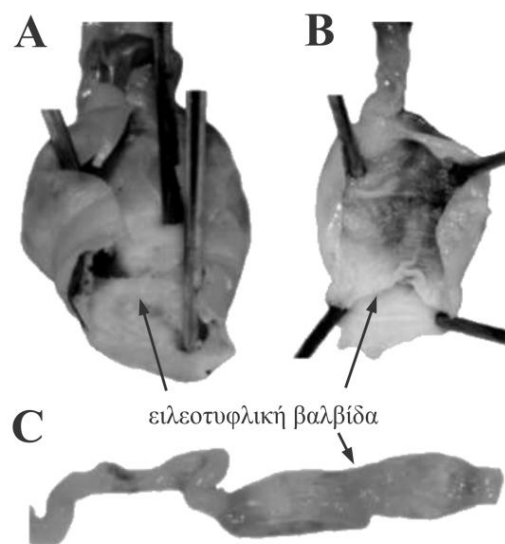
Η δραστικότητα των γλυκοσιδασών υπολογίστηκε με τη μέθοδο οξειδάσης της γλυκόζης, χρησιμοποιώντας το kit της Glucinet (Glucifix, Menarini diagnostics). Αρχικά, όπως και προηγουμένως, ο κονιορτοποιημένος ιστός ομογενοποιείται με 0,1 M φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα pH 7, σε αραίωση 1:20 (w/v). Ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκαν οι γνωστοί δισακχαρίτες μαλτόζη (υδρόλυσή της δίνει δύο μόρια γλυκόζης) και σουκρόζη (υδρόλυσή της δίνει ένα μόριο γλυκόζης και ένα φρουκτόζη) σε συγκέντρωση 4% w/v. Τα δείγματα επωάζονται στην επιθυμητή θερμοκρασία ($T_b = 32^\circ\text{C}$, όπως και προηγουμένως) για 30 min. Η αντίδραση τερματίζεται με 10% TCA. Ακολουθεί φυγοκέντριση στις 3000 rpm για 5 min και το σχηματιζόμενο ίζημα απομακρύνεται. Για τον προσδιορισμό της παραγόμενης γλυκόζης προστίθεται δείκτης (Merc universalindikator, pH 4-10) και στη συνέχεια πραγματοποιείται εξουδετέρωση με NaOH 2 N. Τα δείγματα επαναφυγοκεντρούνται στις ίδιες συνθήκες και πραγματοποιείται ανάλυση της γλυκόζης με τη μέθοδο της οξειδάσης της γλυκόζης. Τέλος, γίνεται επώαση των δειγμάτων στους 37°C για 10 min και μέτρηση της απορρόφησης στα 510 nm. Ως μάρτυρας της βιολογικής διαδικασίας χρησιμοποιείται εκχύλισμα ιστού που έχει επωαστεί στους 96°C για 10 min. Για τον υπολογισμό της δραστικότητας των γλυκοσιδασών χρησιμοποιήθηκε ο ακόλουθος τύπος:

$$\frac{OD_{\text{δείγματος}}}{OD_{\text{πρωτύπου}}} \times C_{\text{std}} \times V_{\text{κυψελίδας}(ml)} \times \frac{500(\lambda) + 20(\lambda) + V_{\text{εξ}}(\lambda)}{100(\lambda)} \times \frac{1,5}{0,5} \times \frac{\text{αραίωση}}{V_{\text{εκχυλίσματος}(ml)}} \times \frac{1}{t_{\text{(min)}}}$$

όπου, C_{std} η συγκέντρωση του προτύπου, $V_{εξ}$ ο όγκος NaOH, που χρησιμοποιείται κατά την εξουδετέρωση και $V_{εκχ}$ ο όγκος του εκχυλίσματος. Θα πρέπει να αναφερθεί σε αυτό το σημείο, ότι, στην περίπτωση της μαλτόζης, το αποτέλεσμα του τύπου διαιρείται με το δύο, καθώς ο δισακχαρίτης αυτός διασπώμενος δίνει δύο μόρια γλυκόζης. Οι μονάδες της εξίσωσης είναι ποσότητα υποστρώματος που διασπάστηκε στη μονάδα του χρόνου (U) ανά γραμμάριο ιστού ($\mu\text{moles} \times \text{min}^{-1} \times \text{gr}^{-1}$).

3.2.12. Μορφολογία του γαστρεντερικού σωλήνα

Η μορφολογία του γαστρεντερικού σωλήνα εξετάστηκε στα 28 επιμέρους δείγματα (αναλυτικά το μέγεθος δείγματος δίνεται στον **πίνακα 3.8**) που χρησιμοποιήθηκαν και για τον υπολογισμό της ενζυμικής δραστηρότητας. Αμέσως μετά την αφαίρεση του πεπτικού σωλήνα και πριν την εμβάπτισή του σε υγρό άζωτο, μετρήθηκε, με τη χρήση ηλεκτρονικού βερνιέρου (Silverline 380244, ακρίβειας 0,01 mm), το μήκος του στομάχου, του λεπτού εντέρου (συμπεριλαμβανομένου και του δωδεκαδάκτυλου) και του τελικού τμήματος του παχέος εντέρου (hindgut) - λόγω απλούστευσης θα αναφέρεται ως παχύ έντερο - ακολουθώντας τη μεθοδολογία των Vervust και συν. (2010).



Εικόνα 3.5. Σχηματική απεικόνιση των ειλεοτυφλικών βαλβίδες στο έντερο στη *Lacerta trilineata*. Η εικόνα είναι από την εργασία του Herrel και συν. (2008).

Στην περίπτωση του παχέος εντέρου ελέγχθηκε και η παρουσία ή μη παρουσία τυφλικών ή ειλεοκολικών βαλβίδων (**εικόνα 3.5**) (Herrel και συν. 2008, Vervust και συν.

2010). Πρόκειται για ένα μυϊκό σφιγκτηριακό σχηματισμό μεταξύ του λεπτού και παχέος εντέρου και ο ρόλος του έγκειται στην αποτροπή της παλινδρόμησης του περιεχομένου του παχέος εντέρου (βακτηριακό περιεχόμενο, τροφή κ.α.) στο λεπτό (Barret 2006). Πέραν του ρόλου αυτού, στις πτυχές των ειλεοκολικών βαλβίδων αναπτύσσονται κατάλληλες συνθήκες και κατάλληλα μικροενδιαίτηματα για τη συνύπαρξη συμβιωτικών μικροοργανισμών, που συνεισφέρουν στην πέψη, ενώ οι ίδιες συμμετέχουν και στην καθυστέρηση της διέλευσης της τροφής από τον πεπτικό σωλήνα (McBee 1971, Troyer 1984).

3.2.13. Στατιστικές αναλύσεις

3.2.13.1. Συμβατικές στατιστικές αναλύσεις

3.2.13.1.1. Περί θερμικής βιολογίας

Για κάθε μια από τις μεταβλητές που υπολογίστηκαν (T_b , T_e , T_{pref} και E), πραγματοποιήθηκε έλεγχος κανονικότητας και ετερογένειας, με την ανάλυση Kolmogorov-Smirnov και Lilliefors. Εφόσον όλες οι μεταβλητές ακολουθούσαν κανονική κατανομή, πραγματοποιήθηκαν παραμετρικές στατιστικές δοκιμασίες. Αρχικά, χρησιμοποιήθηκε έλεγχος ανάλυσης διακύμανσης (one-way analysis of variance, ANOVA), σε συνδυασμό με δοκιμασία post-hoc Tukey HSD (Zar 2010), προκειμένου να εξετάσουμε την ύπαρξη ή μη διαφορών μεταξύ των τεσσάρων πληθυσμών μελέτης, για κάθε μια από τις τέσσερις μεταβλητές, που αναφέρθηκαν. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε ανάλυση συνδιακύμανσης (analysis of covariance, ANCOVA), για να αξιολογηθεί η επίδραση του μήκους σώματος (SVL) στις μεταβλητές T_b και T_{set} . Τέλος, για κάθε πληθυσμό ξεχωριστά, χρησιμοποιήθηκε δοκιμασία student-t ανά ζεύγη, για την εκτίμηση των διαφορών μεταξύ των θερμοκρασιών σώματος πεδίου (T_b) και εργαστηρίου (T_{pref}).

Για να παραχθεί το 95% διάστημα εμπιστοσύνης της μεταβλητής E (αποτελεσματικότητας της θερμορρύθμισης) από τη σύγκριση μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών, χρησιμοποιήσαμε την τεχνική επαναδιατάξεων bootstrap με 1000 επαναλήψεις, όπως αυτή προτάθηκε από τους Hertz και συν. (1993). Συγκεκριμένα, οι τιμές $\overline{d_b}$, $\overline{d_e}$ και E υπολογίστηκαν με τυχαία δειγματοληψία (με αντικατάσταση) από το εύρος των τιμών T_e 's, T_b 's and T_{set} για καθένα πληθυσμό. Η τεχνική αυτή πραγματοποιήθηκε στο στατιστικό πακέτο R (v. 2.12.2) (R Development Core Team

2011), ενώ όλες οι υπόλοιπες στατιστικές αναλύσεις διεξήχθησαν με τη χρήση του στατιστικού πακέτου PASW-18.0 (SPSS Inc. Released 2008).

3.2.13.1.2. Περί οικολογίας της διατροφής

Η δίαιτα των εξετασθέντων ατόμων προσδιορίστηκε με βάση την ηλικία, το φύλο, το περιβάλλον (νησιωτικό ή ηπειρωτικό) και την εποχή. Η συμμετοχή της κάθε ομάδας λείας, στη συνολική διατροφή του κάθε πληθυσμού, κατηγοριοποιήθηκε με δύο τρόπους. Πρώτον, ως ποσοστό του συνολικού αριθμού ατόμων λείας στα στομάχια (%n) και δεύτερον, ως το ποσοστό των σαυρών ενός πληθυσμού που έχουν καταναλώσει ένα συγκεκριμένο taxon λείας (f). Η ανάλυση, με βάση τον αριθμό των ατόμων λείας, οδηγεί σε υπερεκτίμηση των μικρών κοινωνικών εντόμων, με σχετικά χαμηλή ενεργειακή αξία, τα οποία καταναλώνονται σε μεγάλους αριθμούς (όπως Μυρμήγκια και Ημίπτερα). Από την άλλη μεριά, η συχνότητα παρουσίας μιας ομάδας λείας στα στομάχια υποδηλώνει το ποσοστό του πληθυσμού που καταναλώνει τη συγκεκριμένη τροφή, βοηθώντας στο να ισορροπηθεί η παραπάνω τάση (James 1991). Η ανάλυση συσχέτισης Spearman, πραγματοποιήθηκε με σκοπό να εξετάσουμε κατά πόσον η τιμή f σχετίζεται με το %n.

Για τον υπολογισμό του εύρους της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου (niche breadth, H'), χρησιμοποιήθηκε ο δείκτης ποικιλότητας Shannon - Wiener (Krebs 1998):

$$H' = - \sum p_i \ln p_i ,$$

όπου, p_i είναι η πιθανότητα ενός ατόμου λείας να βρεθεί στο στομάχι. Η τροφική ποικιλότητα είναι ελάχιστη, όταν όλα τα τεμάχια τροφής ανήκουν στην ίδια ομάδα, και μέγιστη όταν κάθε τεμάχιο τροφής ανήκει σε διαφορετική. Ο δείκτης Shannon - Wiener προτιμήθηκε από το δείκτη Simpson ($D = 1/\sum p_i^2$), που χρησιμοποιείται συχνά σε τέτοιους είδους ερπετολογικές μελέτες, επειδή σε αντίθεση με τον D, ο H' είναι λιγότερο ευαίσθητος ως προς τη συχνότητα των κυρίαρχων taxa της λείας, ενώ η τυχαία πρόσληψη ενός τεμαχίου λείας από έναν ευκαιριακό θηρευτή δεν τον επηρεάζει (Gadsen & Palacios-Orope 1997). Προκειμένου να εξετασθεί αν οι πληθυσμοί διαφέρουν μεταξύ τους, όσον αφορά την τροφική διάσταση του οικολογικού θώκου, πραγματοποιήθηκε έλεγχος student-t, χρησιμοποιώντας τις ηλικιακές κλάσεις, το φύλο, το περιβάλλον και τις εποχές ως εξαρτημένες μεταβλητές (Zar 2010).

Για συγκριτικούς λόγους προκειμένου να ποσοτικοποιηθούν τα επίπεδα τροφικής εξειδίκευσης μεταξύ ηπειρωτικών και νησιωτικών πληθυσμών σαυρών (συνδυασμένες

επιδράσεις φύλου $\times$ περιβάλλοντος), χρησιμοποιήθηκε ο δείκτης Berger-Parker (D) ο οποίος υπολογίστηκε με την χρήση της ακόλουθης εξίσωσης (Magurran 1988):

$$D = \frac{n_i \max}{N},$$

όπου, N είναι το σύνολο των ατόμων της κάθε τάξης που συμμετέχει στην λεία και έχει καταναλωθεί από το σύνολο των ατόμων ενός πληθυσμού, ενώ n_i είναι ο αριθμός των ατόμων του κυρίαρχου taxon στη δίαιτα. Τιμή κοντά στη μονάδα, αντιπροσωπεύει μια εντελώς εξειδικευμένη δίαιτα σε κάποιο τύπο λείας. Τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης μεταξύ των ομάδων μελέτης (αλληλεπίδραση περιβάλλοντος $\times$ φύλου), υπολογίστηκαν με τη χρήση της μεθόδου των επαναδιατάξεων bootstrap, όπως αυτή εφαρμόζεται στο λογισμικό PAST (Hammer και συν. 2001).

Δεδομένου ότι ο δείκτης Shannon επηρεάζεται και αυτός, αν και σε μικρότερο βαθμό, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, από τα περισσότερα κυρίαρχα σε παρουσία taxa, ως επιπλέον προσέγγιση χρησιμοποιήθηκε και ο συντελεστής ομοιότητας Jaccard (Jaccard 1908). Ο Jaccard αποτελεί ένα μετρικής απόστασης δείκτη και υπολογίστηκε προκειμένου να αποτιμήσουμε την ομοιότητα στη σύνθεση της δίαιτας μεταξύ των πληθυσμών (συνδυασμένη αλληλεπίδραση ηλικίας $\times$ φύλου $\times$ περιβάλλοντος $\times$ εποχής):

$$J_{(A,B)} = \frac{|X \cap Y|}{|X \cup Y|},$$

όπου, X και Y αντιστοιχούν στα είδη των πληθυσμών A και B αντίστοιχα - τιμές του δείκτη Jaccard μικρότερες του 0,6 συνήθως υποδηλώνουν μεγάλη διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών. Επιπλέον, για τον υπολογισμό της επικάλυψης του τροφικού θώκου (overlap index, Q_{jk}), ανάμεσα σε δύο πληθυσμούς (j και k) του είδους, χρησιμοποιήθηκε ο συμμετρικός δείκτης του Pianka που δείχνει την πραγματική ομοιότητα στη χρήση του τροφικού θώκου της συγκεκριμένης διάστασης (Pianka 1975):

$$Q_{jk} = \frac{\sum p_{ij} p_{ik}}{\sqrt{\sum p_{ij}^2 \sum p_{ik}^2}},$$

όπου, p_{ij} και p_{ik} είναι τα ποσοστά του είδους λείας i στη τροφή των πληθυσμών j και k , αντίστοιχα. Ο δείκτης αυτός παίρνει τιμές από το μηδέν (μηδενική επικάλυψη) έως τη μονάδα (πλήρης επικάλυψη). Αποτελεί απλώς ένδειξη της ομοιότητας της λείας, ανάμεσα σε δύο είδη ή πληθυσμούς ή ανάμεσα σε οποιεσδήποτε ταξινομικές ομάδες μελετώνται και δεν λαμβάνει υπ' όψιν του τη συνολική τροφική διαθεσιμότητα σε έναν βιότοπο, αν και

θεωρεί ότι όλες οι ομάδες λείας είναι ισοδύναμα διαθέσιμες. Για τον υπολογισμό του δείκτη επικάλυψης του τροφικού θώκου χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα EcoSim 7.0 (Gotelli & Entsminger 2001).

Επιπλέον, για να εξακριβωθεί αν οι εξεταζόμενοι πληθυσμοί ακολουθούν το ίδιο τροφικό πρότυπο, καθ' όλους τους μήνες δραστηριότητάς τους και καθ' όλη τη διάρκεια ανάπτυξής τους ή αν αυτός διαφοροποιείται ανάλογα με την ηλικία, το φύλο, το περιβάλλον ή την εποχή, έγινε στατιστική σύγκριση του ποσοστού του συνολικού αριθμού ατόμων λείας στα στομάχια (%n) με τη βοήθεια του ελέγχου χ^2 . Προτιμήθηκε ο έλεγχος χ^2 έναντι του ελέγχου G λόγω της απλούστερης εφαρμογής του και μια και δεν υπάρχει ουσιαστική διαφορά στα αποτελέσματα (Zar 2010). Ακόμη, πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης (ANOVA), χρησιμοποιώντας τις μεταβλητές ηλικία, φύλο και περιβάλλον καθώς και τη συνδυασμένη αλληλεπίδραση αυτών, ως εξαρτημένων μεταβλητών, και το μέσο αριθμό ατόμων λείας ανά στομάχι ως ανεξάρτητη μεταβλητή. Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του υπολογιστικού προγράμματος PAST (Hammer και συν. 2001).

3.2.13.1.3. Περί μορφολογίας της κεφαλής και δύναμης δήγματος

Όπως και προηγουμένως, για κάθε μια μεταβλητή εξετάστηκε η κανονικότητα και η ετερογένεια των δεδομένων. Στις περιπτώσεις εκείνες, όπου οι παραμετρικές υποθέσεις παραβιάστηκαν, διεξήχθησαν μη παραμετρικοί έλεγχοι υποθέσεων. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε έλεγχος πολυμεταβλητής ανάλυσης διακύμανσης (two-way multivariate analysis of variance, MANOVA), προκειμένου να εξετασθεί η ύπαρξη διαφορών μεταξύ των μορφολογικών χαρακτήρων των σαυρών, τόσο από τα διαφορετικά περιβάλλοντα όσο και ανάμεσα στα φύλα. Για την κατά ζεύγη σύγκριση, η τελευταία ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε συνδυασμό με δοκιμασία post-hoc Tukey HSD (Zar 2010). Ως συμπληρωματική, προσέγγιση και προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί το εντός-ομάδας σφάλμα, που μπορεί να οφείλεται στην επίδραση του SVL, πραγματοποιήθηκε πολυμεταβλητή ανάλυση συνδιακύμανσης (MANCOVA) για τις γραμμικές μεταβλητές (HL, HW, HH, PL, JL). Επιπλέον, προκειμένου να διερευνηθεί η σχέση των διαστάσεων της κεφαλής με το μήκος σώματος και το μέγεθος της κεφαλής (head size, HS), πραγματοποιήθηκε ανάλυση παλινδρόμησης. Το γεωμετρικό μέγεθος της κεφαλής υπολογίστηκε από την τρίτη ρίζα του γινομένου του μήκους, πλάτους και ύψους κεφαλής ($HL \times HW \times HH$) (Kaliontzopoulou και συν. 2012, Mosimann 1970). Τέλος, προκειμένου

να αξιολογηθούν τα επίπεδα διαφοροποίησης των γραμμικών και γεωμετρικών χαρακτήρων (SVL, HS, HL, HW, HH, PL, JL) σε σχέση με τη δύναμη δήγματος (bite force, BF) πραγματοποιήθηκε έλεγχος MANOVA χρησιμοποιώντας τον τύπο περιβάλλοντος, το φύλο και την αλληλεπίδραση αυτών ως σταθερές μεταβλητές.

Για την ανάλυση της γεωμετρικής μορφομετρίας, τα δεδομένα τροποποιήθηκαν με τη χρήση της ανάλυσης Procrustes στο πρόγραμμα MorphoJ 1.05b (Klingenberg 2011). Με τον τρόπο αυτό, εξαλείφθηκαν οι επιδράσεις του μεγέθους και της θέσης (θέση της σαύρας κατά τη λήψη της φωτογραφίας) του ζώου, με αποτέλεσμα όλες οι διαφορές που εντοπίστηκαν να οφείλονται καθαρά και μόνο στο γεωμετρικό σχήμα της κεφαλής (Dryden & Mardia 1998). Εν συνεχεία, διεξήχθη διαχωριστική (discriminant) ανάλυση με τη μέθοδο της ανάλυσης κανονικών μεταβλητών (Canonical Variate Analysis, CVA), χρησιμοποιώντας τη νέα μήτρα δεδομένων που παράχθηκε από την ανάλυση Procrustes. Η CVA πραγματοποιήθηκε τόσο για τη ραχιαία, όσο και πλευρική όψη της κεφαλής. Το περιβάλλον προέλευσης, το φύλο και οι αλληλεπιδράσεις τους, χρησιμοποιήθηκαν ως ανεξάρτητες μεταβλητές. Τέλος, προκειμένου να ποσοτικοποιηθεί η διαφορά του σχήματος της κεφαλής, για την πλευρική και ραχιαία όψη, μεταξύ των τεσσάρων ομάδων (αρσενικές και θηλυκές σαύρες από τα νησιά και την ηπειρωτική χώρα), χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος Procrustes ANOVA (Klingenberg και συν. 2002, Klingenberg & McIntyre 1998). Ωστόσο, λόγω των περιορισμών του ελέγχου αυτού στο λογισμικό MorphoJ, για τις μετέπειτα στατιστικές αναλύσεις χρησιμοποιήθηκαν οι κεντροειδείς τιμές μεγέθους της κεφαλής, όπως αυτές υπολογίστηκαν από το λογισμικό tpsRelw (Rohlf 2008b), καθώς αποτελούν καλό δείκτη του σχήματος της κεφαλής (Klingenberg και συν. 2002).

Για τη συσχέτιση της διατροφής στη μορφολογία του κεφαλιού, διερευνήθηκαν οι λειτουργικές ιδιότητες της λείας (σκληρότητα και ικανότητα πτήσης) και πραγματοποιήθηκε έλεγχος χ^2 μεταξύ των διαφορετικών ομάδων, με το ποσοστό της σκληρής και ιπτάμενης λείας ως ανεξάρτητη μεταβλητή. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε έλεγχος ANOVA, προκειμένου να ελεγχθεί αν το μέγεθος της λείας διαφέρει σημαντικά μεταξύ των ομάδων, λαμβάνοντας υπ' όψιν την αλληλεπίδραση του φύλου και του περιβάλλοντος. Προκειμένου να αποσαφηνισθεί, αν η διαφοροποίηση των μορφολογικών και λειτουργικών χαρακτήρων, που παρουσιάζεται στις τέσσερις ομάδες, συσχετίζεται με την διαίτά τους, πραγματοποιήθηκε αμφίδρομος έλεγχος συσχέτισης Mantel με 10.000 επαναλήψεις. Για τη διεξαγωγή του ελέγχου αυτού, χρησιμοποιήθηκαν, από τη μια μεριά η διαφοροποίηση των μορφολογικών χαρακτήρων, που παρήχθη από τη μήτρα αποστάσεων Mahalanobis, με τη χρήση του λογισμικού MorphoJ, και από την άλλη οι τιμές της μήτρας

αποστάσεων του τροφικού θώκου (1 – niche overlap), οι οποίες αντιπροσωπεύουν την απόκλιση της δίαιτας μεταξύ των ομάδων και οι οποίες υπολογίστηκαν από την εξίσωση Pianka. Τέλος, χρησιμοποιήθηκε ανάλυση συσχέτισης, σε επίπεδο ατόμου, μεταξύ της δύναμης δήγματος, του μεγέθους σώματος και του μέσου μεγέθους λείας.

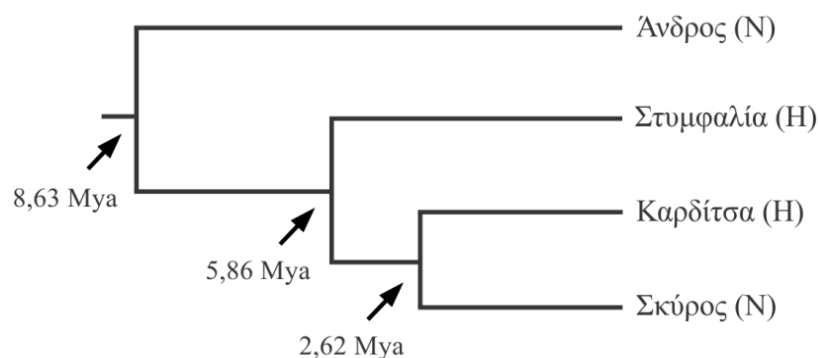
3.2.13.1.4. Περί πέψης

Όλες οι μεταβλητές λογαριθμήθηκαν πριν από τις στατιστικές αναλύσεις και πραγματοποιήθηκε έλεγχος κανονικότητας και ετερογένειας. Εφόσον όλες οι μεταβλητές ακολουθούσαν κανονική κατανομή, πραγματοποιήθηκαν παραμετρικά τεστ. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε έλεγχος ανάλυσης διακύμανσης (ANOVA), προκειμένου να εξετάσουμε την ύπαρξη διαφορών μεταξύ των τεσσάρων πληθυσμών μελέτης, για τα μεγέθη ADE, GPT, για την δραστικότητα πεπτικών ενζύμων και το μήκος γαστρεντερικού σωλήνα. Εν συνεχεία, χρησιμοποιήθηκε η πολυμεταβλητή ανάλυση συνδιακύμανσης (MANCOVA), ώστε να αξιολογηθεί η επίδραση του μήκους και του χρόνου διέλευσης της τροφής στη φαινομενική πεπτική αποδοτικότητα των επιμέρους θρεπτικών συστατικών. Επιπλέον, διεξήχθη πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης (MANOVA), χρησιμοποιώντας τις διαστάσεις του πεπτικού σωλήνα και τις τιμές ADE ως εξαρτημένες μεταβλητές και την περιοχή προέλευσης των ατόμων ως ανεξάρτητη μεταβλητή. Ο έλεγχος post-hoc Tukey HSD χρησιμοποιήθηκε για την κατά ζεύγη σύγκριση των τεσσάρων πληθυσμών. Προκειμένου να ανιχνεύσουμε τη δομή στη σχέση μεταξύ των μεταβλητών ADE (και για τα τρία οργανικά συστατικά) και GPT πραγματοποιήθηκε η πολυπαραγοντική ανάλυση κυρίων συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA). Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε ανάλυση παλινδρόμησης, για τη μελέτη της σχέσης του μήκους σώματος με το μήκος του πεπτικού σωλήνα, ενώ τέλος, διεξήχθη έλεγχος χ^2 ώστε να διερευνήσουμε αν η συχνότητα παρουσίας τυφλικών βαλβίδων διαφέρει ανάμεσα στους νησιωτικούς και ηπειρωτικούς πληθυσμούς της *L. trilineata*.

3.2.13.2. Στατιστικές αναλύσεις με βάση τη φυλογένεση

Επειδή οι κλασσικές στατιστικές αναλύσεις τείνουν να αυξάνουν την επίδραση των σφαλμάτων τύπου I, εφόσον θεωρούν ότι όλοι οι πληθυσμοί είναι το ίδιο συγγενικοί μεταξύ τους (Garland και συν. 1993) (βλ. παράγραφο 1.4 στο κεφάλαιο 1), επαναλάβαμε όλες τις προαναφερθείσες στατιστικές αναλύσεις, για τις μεταβλητές στις οποίες

παρατηρήθηκε σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών, λαμβάνοντας υπ' όψιν τις φυλογενετικές σχέσεις τους. Για να το επιτύχουμε αυτό, κατασκευάστηκε το φυλογενετικό δέντρο των τεσσάρων πληθυσμών μελέτης (**εικόνα 3.6**), στηριζόμενοι στα αποτελέσματα του κεφαλαίου 2. Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του προγράμματος R (v. 2.15.3) (R Development Core Team 2011). Οι φυλογενετικές σχέσεις των πληθυσμών δημιουργήθηκαν με τη χρήση του πακέτου APE (Paradis και συν. 2004), ενώ η ανάλυση της φυλογενετικής ANOVA (Garland και συν. 1993) πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του πακέτου GEIGER (Harmon και συν. 2008) σε συνδυασμό με έλεγχο Bonferroni για τη σύγκριση κατά ζεύγη.



Εικόνα 3.6. Φυλογενετικές σχέσεις των τεσσάρων πληθυσμών μελέτης της *Lacerta trilineata* στους οποίους εξετάστηκε η φυσιολογία της πέψης και η θερμική βιολογία. Η τοπολογία του δέντρου βασίστηκε στα μοριακά δεδομένα του δευτέρου κεφαλαίου. Οι αριθμοί στους κλάδους αναφέρονται στους χρόνους απόσχισης των γενεαλογικών γραμμών και δίνονται σε εκατομμύρια χρόνια πριν από σήμερα (Mya). N: νησιωτικοί και H: ηπειρωτικοί πληθυσμοί.

3.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.3.1. Μήκος σώματος (SVL)

Εφόσον το μέγεθος σώματος επηρεάζει σημαντικά την αποτελεσματικότητα της θερμορρύθμισης (Sagonas και συν. 2013) και την πεπτική αποδοτικότητα, πραγματοποιήθηκε έλεγχος ANOVA, προκειμένου να εντοπίσουμε εάν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στο SVL, τόσο εντός όσο και μεταξύ των πληθυσμών από τα διαφορετικά περιβάλλοντα (νησιωτικό και ηπειρωτικό). Σύμφωνα με την ανάλυση αυτή, δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση του μεγέθους σώματος ανάμεσα στους τέσσερις πληθυσμούς μελέτης (ANOVA, $F_{3,70} = 2,44$, $P > 0,05$). Όσον

αφορά το βάρος σώματος, βρήκαμε ότι οι σαύρες από το νησί της Σκύρου είχαν σημαντικά μεγαλύτερο βάρος, σε σύγκριση με εκείνων από την περιοχή της Στυμφαλίας (ANOVA, $F_{3,70} = 4,14$, $P < 0,05$), δεν παρατηρήθηκε καμιά άλλη σημαντική διαφοροποίηση (πίνακας 3.1).

Πίνακας 3.1. Περιγραφική στατιστική των θερμικών παραμέτρων που καθορίζουν τη θερμορρύθμιση. Λειτουργικές (T_e), σώματος πεδίου (T_b) και επιλεγόμενες (T_{pref}) θερμοκρασίες, απόκλιση των T_e από το T_{set} (d_e) και απόκλιση των T_b από το T_{set} (d_b) για τους τέσσερις εξεταζόμενους πληθυσμούς της *L. trilineata*. Επιπλέον δίνονται οι τιμές του μήκους σώματος (snout-vent length, SVL) σε χιλιοστά (mm). Μέση τιμή $\pm$ τυπική απόκλιση, εύρος, μέγεθος δείγματος (N). Αποτελέσματα της στατιστικής δοκιμασίας one-way ANOVA σε συνδυασμό με τη χρήση του ελέγχου Tukey HSD για όλες τις προαναφερόμενες παραμέτρους. Α: Άνδρος, Σκ: Σκύρος, Στ: Στυμφαλία, Κ: Καρδίτσα, Ν: νησί και Η: χέρσος.

Τοποθεσία	Πληθυσμός	SVL (mm)	Βάρος (mg)	T_b (°C)	T_e (°C)	T_{pref} (°C)	d_e (°C)	d_b (°C)
Νησιά (N)	Άνδρος (A)	12,73 $\pm$ 1,54 (10,4-16,1) N=14	61,09 $\pm$ 23,12 (34,8-116,8) N=14	31,32 $\pm$ 1,63 (28,5-33,6) N=14	36,33 $\pm$ 4,68 (30,6-49,5) N=16	33,11 $\pm$ 1,03 (31,1-34,7) N=14	3,21 $\pm$ 3,66 (0,0-15,89) N=32	1,17 $\pm$ 1,06 (0,0-4,13) N=28
	Σκύρος (Σκ)	13,75 $\pm$ 2,13 (8,7-15,3) N=14	77,93 $\pm$ 17,04 (38,5-105,3) N=14	31,92 $\pm$ 1,09 (29,9-33,8) N=14	36,22 $\pm$ 4,17 (32,0-46,9) N=16	32,91 $\pm$ 0,86 (31,2-34,6) N=14		
Ηπειρωτικές περιοχές (H)	Στυμφαλία (Στ)	12,15 $\pm$ 1,88 (9,2-17,4) N=24	56,02 $\pm$ 18,95 (30,7-115,0) N=24	31,94 $\pm$ 1,65 (28,7-35,0) N=24	39,65 $\pm$ 7,20 (31,1-54,4) N=16	34,12 $\pm$ 1,13 (31,5-36,3) N=24	5,58 $\pm$ 5,51 (0,0-19,25) N=32	1,54 $\pm$ 1,19 (0,0-4,8) N=46
	Καρδίτσα (K)	12,73 $\pm$ 1,51 (10,7-16,2) N=22	63,09 $\pm$ 28,90 (29,0-137,9) N=22	32,30 $\pm$ 1,54 (29,5-34,5) N=22	38,76 $\pm$ 6,17 (30,2-51,1) N=16	34,23 $\pm$ 1,26 (32,4-36,4) N=22		
ANOVA		$F_{3,70} = 2,44$ $P = 0,07$	$F_{3,70} = 4,14$ $P = 0,009$	$F_{3,70} = 1,18$ $P = 0,32$	$F_{3,60} = 6,63$ $P = 0,0042$	$F_{3,70} = 6,34$ $P = 0,0007$	$F_{1,62} = 4,07$ $P = 0,048$	$F_{1,72} = 1,30$ $P = 0,25$
ΟΜΑΔΕΣ		{A, Σκ, Στ, K}	{A, Στ, K} {Σκ}	{A, Σκ, Στ, K}	{A, Σκ} {Στ, K}	{A, Σκ} {Στ, K}	{N} {H}	{N, H}

3.3.2. Μετρήσεις πεδίου (T_b και T_e)

Ο στατιστικός έλεγχος ANOVA, έδειξε ότι μεταξύ των πληθυσμών του νησιωτικού περιβάλλοντος και μεταξύ των πληθυσμών του ηπειρωτικού περιβάλλοντος δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές αποκλίσεις στις θερμοκρασίες σώματος που τα ζώα επιτυγχάνουν στο πεδίο (ANOVA, νησιωτικοί πληθυσμοί: $F_{1,26} = 1,34$, $P > 0,05$, ηπειρωτικοί πληθυσμοί: $F_{1,44} = 0,60$, $P > 0,05$). Ως εκ τούτου, για τις επόμενες στατιστικές δοκιμασίες, οι θερμοκρασίες σώματος ομαδοποιήθηκαν σε δύο μεγάλες ομάδες, μια για τους νησιωτικούς και μια για τους ηπειρωτικούς πληθυσμούς. Αν και η μέση θερμοκρασία σώματος των νησιωτικών σαυρών ήταν χαμηλότερη από ό,τι αυτή των ηπειρωτικών σαυρών (εύρος T_b : νησιωτικές σαύρες = 28,5 - 33,8°C, ηπειρωτικές σαύρες = 28,7 -

35,0°C, ANOVA, $F_{3,70} = 1,18$, $P > 0,05$, **πίνακας 3.1**), δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ τους (έλεγχος t , $t = -1,33$, $df = 72$, $P > 0,05$).

Πίνακας 3.2. Περιγραφική στατιστική των λειτουργικών θερμοκρασιών (T_e) στα τρία διαφορετικά μικροκλίματα όσον αφορά την έκθεσή τους στο ήλιο για τις τέσσερις περιοχές μελέτης. Μέση τιμή $\pm$ τυπική απόκλιση, εύρος, μέγεθος δείγματος (N). Αποτελέσματα της στατιστικής δοκιμασίας one-way ANOVA σε συνδυασμό με τη χρήση του ελέγχου Tukey HSD. Α: Άνδρος, Σκ: Σκύρος, Στ: Στυμφαλία και Κ: Καρδίτσα.

Τοποθεσία	Πληθυσμός	Σκοτάδι (°C)	Μέτρια Έκθεση (°C)	Πλήρης Έκθεση (°C)
Νησιά	Άνδρος (Α)	28,33 $\pm$ 3,93 (18,96 - 33,92) $N=108$	34,43 $\pm$ 4,92 (24,47 - 45,91) $N=162$	40,57 $\pm$ 8,99 (25,06 - 68,08) $N=162$
	Σκύρος (Σκ)	29,55 $\pm$ 6,11 (21,50 - 35,30) $N=108$	33,52 $\pm$ 8,32 (22,10 - 56,60) $N=162$	40,18 $\pm$ 12,19 (22,40 - 69,80) $N=162$
Ηπειρωτικές περιοχές	Στυμφαλία (Στ)	29,27 $\pm$ 3,32 (21,55 - 35,84) $N=108$	35,88 $\pm$ 5,10 (25,56 - 47,43) $N=162$	47,36 $\pm$ 13,75 (23,63 - 75,80) $N=162$
	Καρδίτσα (Κ)	30,55 $\pm$ 5,05 (19,16 - 36,17) $N=108$	36,45 $\pm$ 5,98 (25,07 - 48,60) $N=162$	44,88 $\pm$ 11,63 (23,63 - 71,80) $N=162$
ANOVA		$F_{3,428} = 1,62$ $P = 0,18$	$F_{3,644} = 7,45$ $P < 0,001$	$F_{3,644} = 14,12$ $P < 0,001$
ΟΜΑΔΕΣ		{Α,Σκ,Στ,Κ}	{Α,Σκ} {Στ,Κ}	{Α,Σκ} {Στ,Κ}

Αντίστοιχα και οι λειτουργικές θερμοκρασίες από τους νησιωτικούς και ηπειρωτικούς πληθυσμούς ομαδοποιήθηκαν σε δύο μεγάλες ομάδες δεδομένου ότι δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους νησιωτικούς και ανάμεσα στους ηπειρωτικούς πληθυσμούς (ANOVA, Νησιά: $F_{1,30} = 0,01$, $P > 0,05$, Ηπειρωτικές περιοχές: $F_{1,30} = 0,14$, $P > 0,05$, **εικόνα 3.7**). Η σύγκριση μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών εμφάνισε σημαντικές διαφορές για την μέση T_e , με τις ηπειρωτικές περιοχές να εμφανίζουν σημαντικά υψηλότερες τιμές σε σύγκριση με τις θερμοκρασίες που επιτυγχάνονται στις νησιωτικές περιοχές (εύρος T_e : Νησιά = 30,6 - 49,5 °C, Ηπειρωτικές περιοχές = 30,2 - 54,4°C, ANOVA, $F_{3,60} = 6,63$, $P < 0,05$; post-hoc Tukey HSD test, **πίνακας 3.1**). Εν τούτοις, λόγω της μεγάλης θερμικής ετερογένειας των ενδιαιτημάτων, αναλύσαμε επιπλέον τις καταγραφές των λειτουργικών θερμοκρασιών, λαμβάνοντας υπ' όψιν τα έξι διαφορετικά ζεύγη συνδυασμών φωτισμού-υποστρώματος, στα οποία τοποθετήθηκαν τα μοντέλα. Η σύγκριση κατά ζεύγη, αποκάλυψε πως, από τις δύο αυτές παραμέτρους, μόνο ο φωτισμός, και όχι ο τύπος υποστρώματος, μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τις λειτουργικές θερμοκρασίες (two-way ANOVA, όλα τα $P < 0,05$). Ως εκ τούτου, για τη συνέχεια των αναλύσεων, οι έξι αυτοί διακριτοί συνδυασμοί

ομαδοποιήθηκαν σε τρεις ξεχωριστές ομάδες (F, SL, D), η σύγκριση των οποίων φανέρωσε σημαντικές διαφορές μεταξύ των τεσσάρων περιοχών μελέτης (ANOVA, όλα τα $P < 0,05$, Tukey HSD test, $P < 0,05$, **πίνακας 3.2**).

3.3.3. Επιλεγόμενες θερμοκρασίες (T_{pref} και T_{set})

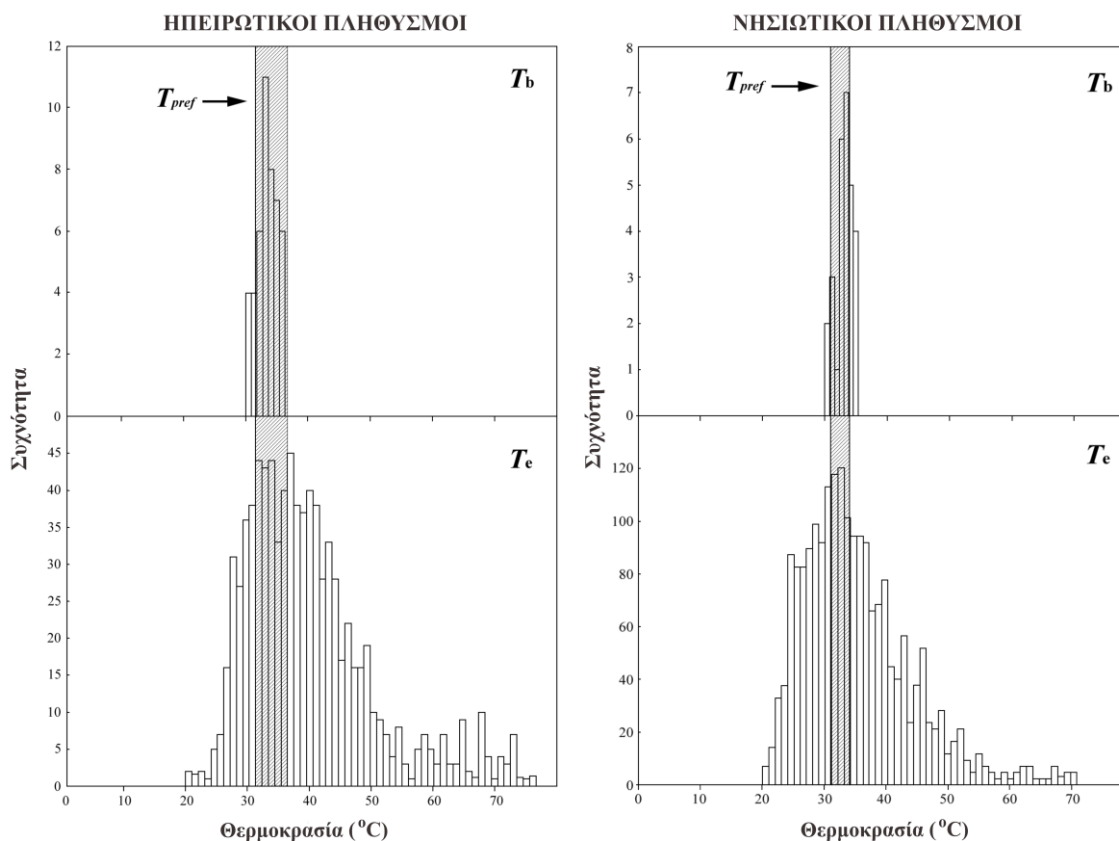
Οι επιλεγόμενες θερμοκρασίες φάνηκε να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών (ANOVA, $F_{3,70} = 6,34$, $P < 0,05$, **πίνακας 3.1**), με τις νησιωτικές σαύρες να επιτυγχάνουν μικρότερες T_{pref} από ό,τι οι ηπειρωτικές. Οι τιμές T_{set} των νησιωτικών σαυρών κυμαίνονταν από $32,63^{\circ}\text{C}$ μέχρι $33,63^{\circ}\text{C}$ ($N = 28$), ενώ για τις ηπειρωτικές οι αντίστοιχες τιμές ήταν $33,50^{\circ}\text{C}$ και $35,13^{\circ}\text{C}$ ($N = 46$). Η δοκιμασία post-hoc Tukey HSD έδειξε την ύπαρξη δύο διακριτών ομάδων. Η πρώτη περιλαμβάνει τους νησιωτικούς και η δεύτερη τους ηπειρωτικούς πληθυσμούς (**πίνακας 3.1**). Ομοίως με προηγούμενως, όταν στις αναλύσεις συμπεριελήφθησαν οι φυλογενετικές σχέσεις των πληθυσμών, οι διαφορές στις T_{pref} μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών σαυρών παρέμειναν (ANCOVA, $F = 71,22$, $P < 0,05$, Bonferroni post-hoc). Αποτέλεσμα των παραπάνω ήταν η ανά ζεύγη ομαδοποίηση των νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών για τις μετέπειτα αναλύσεις (**εικόνα 3.7**).

Η μέση επιλεγόμενη θερμοκρασία (T_{pref}) που καταγράφηκε στο εργαστήριο ήταν υψηλότερη από τη μέση θερμοκρασία σώματος (T_b) που τα ζώα επιτύγχαναν στο πεδίο, τόσο για τους δύο νησιωτικούς (paired t -test, Άνδρος: $df = 13$, $t = 2,98$, $P < 0,05$, Σκύρος: $df = 13$, $t = 2,69$, $P < 0,05$), όσο και για τους δύο ηπειρωτικούς πληθυσμούς (paired t -test, Στυμφαλία: $df = 23$, $t = 6,29$, $P < 0,05$, Καρδίτσα: $df = 21$, $t = 3,90$, $P < 0,05$).

3.3.4. Αποτελεσματικότητα της θερμορρύθμισης (E)

Ο έλεγχος της αποτελεσματικότητας της θερμορρύθμισης πραγματοποιήθηκε ακολουθώντας τις υπολογιστικές προσεγγίσεις των Hertz και συν. (1993) και των Blouin-Demers και Weatherhead (2001). Αρχικά, υπολογίστηκαν οι τιμές $\overline{d_e}$ και $\overline{d_b}$. Τα αποτελέσματά έδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά της μέσης απόκλισης του T_e από το T_{set} ($\overline{d_e}$) μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών ($5,58^{\circ}\text{C}$ έναντι $3,21^{\circ}\text{C}$, $F_{1,62} = 4,07$, $P < 0,05$, **πίνακας 3.1**). Αντίθετα, αν και η μέση απόκλιση του T_b από το T_{set} ($\overline{d_b}$) που καταγράφηκε ήταν υψηλότερη στους ηπειρωτικούς από ό,τι στους νησιωτικούς

πληθυσμούς ($1,54^{\circ}\text{C}$ έναντι $1,17^{\circ}\text{C}$, $F_{1,72} = 1,30$, $P > 0,05$, **πίνακας 3.1**), η διαφορά αυτή δε φάνηκε να είναι στατιστικά σημαντική. Η πλειονότητα των τιμών T_b στα νησιά, ήταν χαμηλότερη από το ελάχιστο όριο των T_{set} (68%, $N = 19$), ενώ μόλις το 10% ($N = 3$) των τιμών ήταν υψηλότερο από το μέγιστο όριο των T_{set} (**εικόνα 3.7**). Παρομοίως, στις ηπειρωτικές περιοχές η πλειονότητα των T_b ήταν χαμηλότερη από το ελάχιστο όριο των T_{set} (72%, $N = 33$), ενώ αξιοσημείωτο ήταν το γεγονός ότι καμία σαύρα δεν επιτύγχανε στο πεδίο θερμοκρασία σώματος μεγαλύτερη του ανώτατου ορίου των T_{set} (**εικόνα 3.7**).



Εικόνα 3.7. Σχηματική απεικόνιση της κατανομής της μέσης θερμοκρασίας σώματος πεδίου (T_b) της *Lacerta trilineata* και των λειτουργικών θερμοκρασιών του περιβάλλοντος (T_e), ύστερα από ομαδοποίηση των νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών. Οι γκρι κάθετες γραμμές αναφέρονται στο εύρος των επιλεγόμενων θερμοκρασιών (T_{pref}) που μετρήθηκαν στο εργαστήριο, κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες.

Ακολουθώντας την υπολογιστική μέθοδο των Hertz και συν. (1993), χρησιμοποιήθηκαν οι τιμές των μεταβλητών $\overline{d_e}$ και $\overline{d_b}$ και υπολογίστηκε η αποτελεσματικότητα της θερμορρύθμισης των νησιωτικών ($E = 0,64$) και ηπειρωτικών ($E = 0,72$) σαυρών. Επιπλέον, χρησιμοποιώντας το δείκτη $\overline{d_e} - \overline{d_b}$ που προτάθηκε από τους Blouin-Demers και Weatherhead (2001), ποσοτικοποιήθηκε η έκταση της απόκλισης των

δύο αυτών πληθυσμών από την τέλεια θερμοσυμμόρφωση (νησιωτικές: 2,04, ηπειρωτικές 4,04). Τέλος, με τη χρήση της τεχνικής επαναδιατάξεων bootstrap, διαπιστώθηκε ότι η E διαφέρει σημαντικά μεταξύ των σαυρών από τα νησιά και την ηπειρωτική Ελλάδα (σε 963 από τις 1000 επαναλήψεις η τιμή E ήταν υψηλότερη στους ηπειρωτικούς πληθυσμούς σε σχέση με τους νησιωτικούς, $P < 0,05$).

3.3.5. Γενικά στοιχεία της δίαιτας της *L. trilineata*

Η σύγκριση των δύο μεθόδων ανάλυσης της δίαιτας (ανάλυση περιττωμάτων και στομαχικό περιεχόμενο) δεν έδειξε οποιαδήποτε διαφορά στη σύσταση τροφής. Αντίθετα, καταγράφηκε πολύ υψηλό ποσοστό επικάλυψης, που ξεπερνά το 90%. Συνεπώς, για τις μετέπειτα στατιστικές αναλύσεις, τα δεδομένα των δύο μεθοδολογιών ομαδοποιήθηκαν.

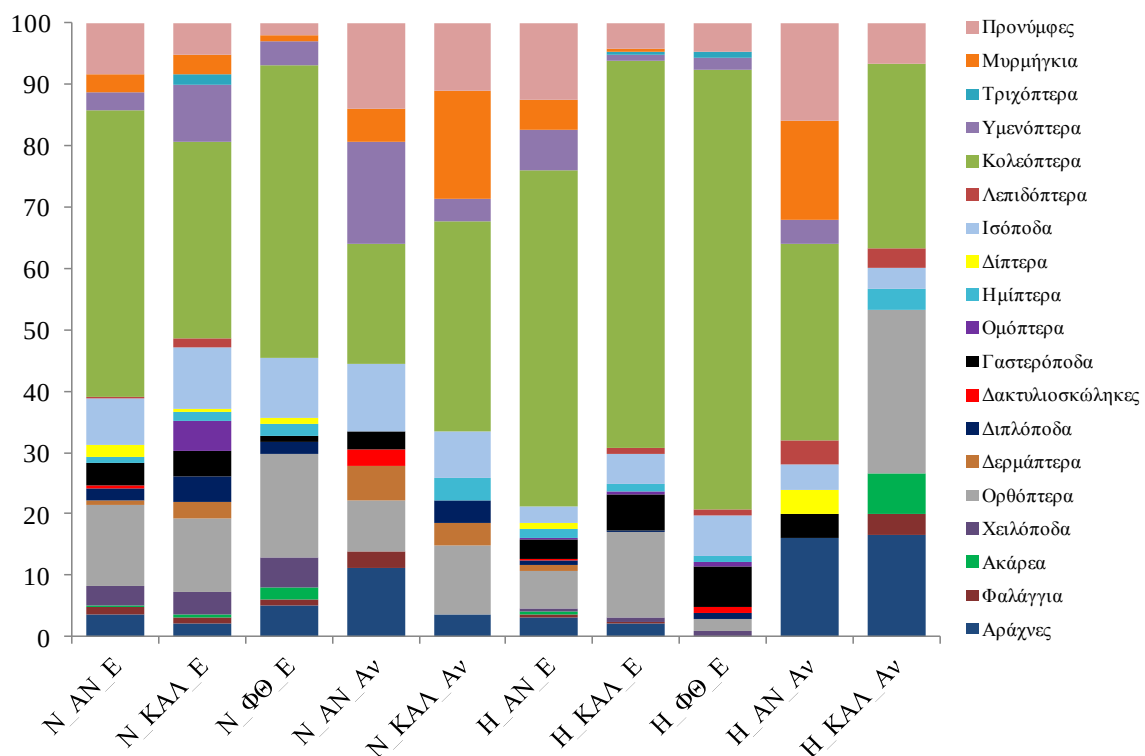
Η εξέταση του στομαχικού περιεχομένου και των περιττωμάτων έδειξε, ότι η τροφή της *L. trilineata* αποτελείται κυρίως από αρθρόποδα. Εξαίρεση αποτελούν τα σχετικά μικρά ποσοστά εμφάνισης χερσαίων Γαστεροπόδων κυρίως στους νησιωτικούς πληθυσμούς. Τα πιο κυρίαρχα taxa λείας, καθ' όλη τη διάρκεια του έτους και για όλες τις υπό μελέτη ομάδες, ήταν τα Κολεόπτερα, τα Ορθόπτερα, τα Υμενόπτερα και τα Ισόποδα (εικόνα 3.8 και πίνακες 3.3, 3.4 και 3.5), ενώ επίσης βρέθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού του συνολικού αριθμού ατόμων λείας στα στομάχια ενός πληθυσμού (%n) και του ποσοστού των σαυρών ενός πληθυσμού που έχουν καταναλώσει ένα συγκεκριμένο taxon λείας (f) (συσχέτιση Spearman, όλα τα $r > 0,90$ και όλα τα $P < 0,05$) (πίνακας 3.5). Το τελευταίο γεγονός υποδηλώνει ότι οι ομάδες λείας, που παρατηρούνται σε μεγαλύτερο ποσοστό στα στομάχια, είναι επίσης και αυτές που καταναλώνονται συχνότερα από τις σαύρες στο πεδίο.

3.3.6. Φυλετική διαφοροποίηση της τροφής

Παρατηρήθηκε σημαντική διαφοροποίηση όσον αφορά τη σύνθεση των ταξινομικών ομάδων, που αποτελούν τη λεία των αρσενικών και θηλυκών ατόμων του είδους *L. trilineata* (Jaccard index $\sim 0,6$, βλ. παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.1 Α), ανά εποχή και περιβάλλον. Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι η δίαιτα των ενήλικων αρσενικών σαυρών περιλαμβάνει ταξινομικές ομάδες, όπως τα Διπλόποδα και τα Χειλόποδα, οι οποίες απουσιάζουν πλήρως από το στομαχικό περιεχόμενο των θηλυκών ατόμων (πίνακες 3.3 και 3.4). Με άλλα λόγια, μπορούμε να πούμε ότι οι αρσενικές σαύρες

καταναλώνουν σημαντικά υψηλότερο ποσοστό σκληρής λείας από ό,τι οι θηλυκές (έλεγχος χ^2 , Fisher exact $P < 0,05$). Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε καμία επιπλέον φυλετική διαφορά στην τροφική διάσταση του οικολογικού θώκου (H') (έλεγχος t , όλα τα $P > 0,05$, **παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.2 Α**), αλλά ούτε στα ποσοστά και στη συχνότητα παρουσίας των ταξινομικών ομάδων που συμμετέχουν στη διαίτα (έλεγχος χ^2 , και τα δύο $P > 0,05$), γεγονός που δείχνει ότι ποιοτικά οι ομάδες λείας είναι ισοκατανεμημένες στη διαίτα των δύο φύλων, χωρίς να παρατηρείται καμία τροφική εξειδίκευση.

Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με τις υψηλές τιμές επικάλυψης του τροφικού θώκου (Q_{jk}), που καταγράφηκαν ανά εποχή, ανάμεσα στα φύλα του ίδιου περιβάλλοντος ($Q_{jk} > 0,85$, **παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.3**). Αποτέλεσμα των αναλύσεων αυτών, ήταν η ομαδοποίηση των δύο φύλων για κάθε περιβάλλον (δύο ομάδες ανά εποχή: μια για τους νησιωτικούς και μια για τους ηπειρωτικούς πληθυσμούς), για τις μετέπειτα αναλύσεις (**πίνακας 3.5**).



Εικόνα 3.8. Συμμετοχή της κάθε ομάδας λείας στη συνολική διατροφή του κάθε πληθυσμού όπως αυτή εκφράστηκε ως ποσοστό του συνολικού αριθμού ατόμων λείας στα στομάχια (%n) για κάθε πληθυσμό. Τα αριθμητικά στοιχεία δίνονται αναλυτικά στον πίνακα 3.5. Το Ν αναφέρεται στις σαύρες από τα νησιά, Η στις σαύρες από την χέρσο (ηπειρωτική χώρα), Ε στα ενήλικα, Αv στα ανήλικα, ΑΝ στην άνοιξη, ΚΑΛ στο καλοκαίρι και ΦΘ στο φθινόπωρο.

Πίνακας 3.3. Ταξινομική σύνθεση της διαίτας των ενήλικων και ανήλικων (Αν) σαυρών των νησιωτικών πληθυσμών του είδους *Lacerta trilineata* για τις τρεις εποχές του έτους. Αρσενικά (Α), θηλυκά (Θ), άνοιξη (ΑΝ), καλοκαίρι (ΚΑΛ) και φθινόπωρο (ΦΘ). %η αναφέρεται στο ποσοστό και F στη συγγέντητα παρουσίας των διαφόρων ομάδων λείας, που συμμετέχουν στη διατροφή των σαυρών. Η εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου.

Ομάδες λείας	ΑΝ_Θ		ΚΑΛ_Θ		ΦΘ_Θ		ΑΝ_Α		ΚΑΛ_Α		ΦΘ_Α		ΑΝ_Αν		ΚΑΛ_Αν	
	F	% n	F	% n	F	% n	F	% n	F	% n	F	% n	F	% n	F	% n
Αράχνες	0,25	5,04	0,10	2,47	0,14	4,00	0,14	2,68	0,08	1,94	0,23	5,88	0,29	11,10	0,09	3,70
Φαλάγγια	0,05	0,84	-	-	-	-	0,07	1,34	0,04	1,94	0,08	1,96	0,07	2,78	-	-
Ακάρια	0,05	0,84	-	-	0,07	2,00	-	-	0,04	0,97	0,08	1,96	-	-	-	-
Χειλόποδα	-	-	0,05	1,23	-	-	0,29	6,04	0,17	5,83	0,31	9,80	-	-	-	-
Ορθόπτερα	0,50	11,80	0,48	17,30	0,57	26,00	0,39	14,80	0,29	8,74	0,23	7,84	0,21	8,33	0,27	11,10
Δερμάπτερα	0,10	1,68	-	-	-	-	-	-	0,13	4,85	-	-	0,14	5,55	0,09	3,70
Διπλόποδα	-	-	0,05	1,23	-	-	0,21	4,03	0,21	6,80	0,15	3,92	-	-	0,09	3,70
Δακτυλοσκόληκες	0,05	0,84	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,07	2,78	-	-
Γαστερόποδα	0,10	1,68	0,14	8,64	0,07	2,00	0,18	5,37	0,04	0,97	-	-	0,07	2,78	-	-
Ομόπτερα	-	-	0,14	8,64	-	-	-	-	0,04	1,94	-	-	-	-	-	-
Ημιπτερα	0,10	1,68	0,05	2,47	0,14	4,00	0,04	0,67	0,04	0,97	-	-	-	-	0,09	3,70
Διπτερα	0,10	4,20	0,05	1,23	0,07	2,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ισόποδα	0,25	7,56	0,14	7,41	0,14	4,00	0,29	8,05	0,25	12,60	0,23	15,7	0,21	11,1	0,18	7,41
Λεπιδόπτερα	-	-	-	-	-	-	0,04	0,67	0,13	2,91	-	-	-	-	-	-
Κολεόπτερα	0,65	42,90	0,52	25,90	0,64	44,00	0,89	52,40	0,75	38,8	0,85	51,00	0,43	19,40	0,73	33,30
Υμενόπτερα	0,20	3,36	0,14	18,50	0,21	8,00	0,07	2,68	0,08	2,91	-	-	0,36	16,70	0,09	3,70
Τριχόπτερα	-	-	0,05	1,23	-	-	-	-	0,08	1,94	-	-	-	-	-	-
Μυρμηγκία	0,05	1,68	0,14	3,70	-	-	0,14	4,03	0,13	2,91	0,08	1,96	0,14	5,56	0,09	17,50
Προνύμφες	0,35	16,00	-	-	0,07	4,00	0,07	2,68	0,29	9,71	-	-	0,29	13,90	0,27	11,10
Φυτικό υλικό	0,30	-	0,42	-	0,21	-	0,21	-	0,38	-	0,23	-	0,14	-	0,09	-
Σύνολο λείας	119	-	81	-	50	-	157	-	110	-	51	-	36	-	27	-
Δείγμα	20	-	21	-	14	-	28	-	24	-	13	-	14	-	11	-
Τεμάχια/στομάχι	5,95	-	3,88	-	3,57	-	5,61	-	4,58	-	3,92	-	2,57	-	2,45	-
Η'	1,896	-	2,104	-	1,663	-	1,785	-	2,232	-	1,586	-	2,206	-	1,970	-
F _{Sperman}	0,979	-	0,978	-	0,989	-	0,991	-	0,969	-	0,993	-	0,997	-	0,989	-

Πίνακας 3.4. Ταξινομική σύνθεση της διαίτας των ενήλικων και ανήλικων (Αν) σαυρών των ηπειρωτικών πληθυσμών του είδους *Lacerta trilineata* για τις τρεις εποχές του έτους. Αρσενικά (Α), θηλυκά (Θ), άνοιξη (ΑΝ), καλοκαίρι (ΚΑΛ) και φθινόπωρο (ΦΘ). % αναφέρεται στο ποσοστό και F στη συχνότητα παρουσίας των διαφόρων ομάδων λείας που συμμετέχουν στη διατροφή των σαυρών. Η' εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θύλου.

Ομάδες λείας	ΑΝ_Θ		ΚΑΛ_Θ		ΦΘ_Θ		ΑΝ_Α		ΚΑΛ_Α		ΦΘ_Α		ΑΝ_Αν		ΚΑΛ_Αν	
	F	% n	F	% n	F	% n	F	% n	F	% n	F	% n	F	% n	F	% n
Αράχνες	0,12	1,45	0,05	0,93	-	-	0,17	4,28	0,12	2,94	-	-	0,27	16,00	0,33	16,70
Φαλάγγια	-	-	0,05	0,93	-	-	0,07	1,07	-	-	-	-	-	-	0,08	3,33
Ακάρεα	-	-	-	-	-	-	0,03	0,53	-	-	-	-	-	-	0,08	6,67
Χειλόποδα	-	-	-	-	-	-	0,03	1,07	0,06	1,18	0,08	1,64	-	-	-	-
Ορθόπτερα	0,35	6,52	0,42	22,40	0,13	3,13	0,28	5,88	0,38	10,00	0,08	1,64	-	-	0,50	26,70
Δερμάττερα	0,18	2,17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Διπλόποδα	-	-	-	-	-	-	0,07	1,07	0,03	0,59	0,08	1,64	-	-	-	-
Δακτυλιοσκόληκες	-	-	-	-	-	-	0,03	0,53	-	-	0,08	1,64	-	-	-	-
Γαστερόποδα	0,18	2,17	0,16	2,80	-	-	0,21	3,74	0,26	8,24	0,23	11,50	0,09	4,00	-	-
Ομόπτερα	-	-	-	-	-	-	0,03	0,53	0,03	0,59	0,08	1,64	-	-	-	-
Ημιπτερα	0,18	2,17	0,05	0,93	0,13	3,13	0,07	1,07	0,03	1,76	-	-	-	-	0,08	3,33
Δίπτερα	-	-	-	-	-	-	0,07	1,60	-	-	-	-	0,09	4,00	-	-
Ισόποδα	0,18	2,17	0,21	3,74	0,38	15,60	0,21	3,21	0,21	5,88	0,15	3,28	0,09	4,00	0,08	3,33
Λεπιδόπτερα	-	-	0,11	1,87	0,13	3,13	-	-	0,03	0,59	-	-	0,09	4,00	0,08	3,33
Κολεόπτερα	0,82	53,60	0,95	56,10	1,00	84,40	0,86	55,60	0,91	73,50	0,92	80,30	0,36	32,00	0,58	30,00
Υμενόπτερα	0,35	13,00	0,05	1,87	0,13	6,25	0,1	1,60	0,03	0,59	-	-	0,09	4,00	-	-
Τριχόπτερα	-	-	-	-	0,13	3,13	-	-	0,03	0,59	-	-	-	-	-	-
Μυρμήγκια	0,12	10,10	0,11	1,87	-	-	0,07	1,07	-	-	-	-	0,27	16,00	-	-
Προνύμφες	0,24	6,52	0,32	6,54	0,38	12,50	0,45	17,10	0,15	2,94	0,08	1,64	0,36	16,00	0,17	6,67
Φυτικό υλικό	0,12	0,11	-	-	-	-	0,17	-	0,15	-	0,15	-	-	-	-	-
Σύνολο λείας	138	107	42	187	42	186	187	186	64	25	30	30	11	12	12	12
Δείγμα	17	19	8	29	8	34	29	34	13	11	13	11	2,27	2,50	2,50	2,50
Τεμάχια/στομάχι	8,12	5,63	5,25	6,45	5,25	5,47	6,45	5,47	4,92	4,92	4,92	4,92	1,888	1,827	1,827	1,827
H'	1,582	1,415	1,262	1,622	1,262	1,288	1,622	1,288	0,945	0,945	0,945	0,945	0,996	0,996	0,996	0,996
H'Sperman	0,949	0,992	0,993	0,972	0,993	0,986	0,972	0,986	0,993	0,993	0,993	0,993	0,996	0,996	0,996	0,996

3.3.7. Διαφοροποίηση της τροφής μεταξύ αναπτυξιακών σταδίων

Η ανάλυση του στομαχικού περιεχομένου της σύνθεσης τροφής, έδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ ενήλικων και ανηλίκων ατόμων. Συγκεκριμένα, τα ανήλικα άτομα έδειξαν προτίμηση για μαλακότερες ομάδες λείας, όπως προνύμφες εντόμων, Φαλάγγια και Μυρμήγκια, ενώ ταυτόχρονα παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στα ποσοστά κατανάλωσης φυτικού υλικού και σκληρής λείας, όπως Κολεόπτερα και Ισόποδα (έλεγχος χ^2 , Fisher exact, $P < 0,05$ βλ. **παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.4** και **πίνακας 3.3**). Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώθηκαν επιπλέον και από τις χαμηλές τιμές του συντελεστή ομοιότητας Jaccard ($\sim 0,65$ για τις νησιωτικές και $\sim 0,45$ για τις ηπειρωτικές σαύρες, **παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.1 B**) και από τις σχετικά χαμηλές τιμές επικάλυψης του τροφικού θώκου, που καταγράφηκαν μεταξύ των ηλικιακών ομάδων ($Q_{jk} < 80\%$, στις περισσότερες των περιπτώσεων, **παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.5**).

Αντίστοιχα, τα ποσοστά παρουσίας των διαφόρων ομάδων λείας, διέφεραν σημαντικά ανάμεσα στις δύο ηλικιακές κλάσεις, καθ' όλη τη διάρκεια του έτους (έλεγχος χ^2 , όλα τα $P < 0,05$, **παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.4**). Όσον αφορά τους ηπειρωτικούς πληθυσμούς, οι ανήλικες σαύρες εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερες τιμές τροφικού θώκου, σε σχέση με τις ενήλικες (**πίνακας 3.5** και **παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακες Σ3.5** και **Σ3.6**) και χαμηλότερες τιμές για το δείκτη Berger-Parker (**πίνακας 3.5**), ο οποίος αποτελεί ένδειξη της χαμηλότερης τροφικής εξειδίκευσης. Σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε επίσης και στο μέσο αριθμό τεμαχίων λείας ανά στομάχι μεταξύ ενήλικων και ανηλίκων σαυρών και για τα δύο περιβάλλοντα και για τις τρεις εποχές που εξετάστηκαν (ANOVA, $F_{2,278} = 10,395$, $P < 0,001$; post-hoc Tukey HSD test), με τα ανήλικα άτομα να καταναλώνουν σημαντικά μικρότερο αριθμό λείας.

3.3.8. Εποχιακή διαφοροποίηση της τροφής

Οι στατιστικές αναλύσεις έδειξαν σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των εποχών (έλεγχος χ^2 , Fisher exact, $P < 0,05$, **παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.4**). Οι ενήλικες σαύρες, ανεξάρτητα από την προέλευσή τους, παρουσίασαν παρόμοιο πρότυπο, με το χαμηλότερο εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου και ο

χαμηλότερος μέσος αριθμός ατόμων τροφής, ανά στομάχι, να καταγράφονται κατά τη διάρκεια του φθινοπώρου (ANOVA, $F_{2,278} = 10,395$, $P < 0,001$, post-hoc Tukey HSD test) (πίνακας 3.5). Την άνοιξη παρατηρήθηκε αυξημένη κατανάλωση φυτικής ύλης για τις ενήλικες (ανεξαρτήτου προέλευσης) και ανήλικες νησιωτικές σαύρες (έλεγχος χ^2 , Fisher exact $P < 0,05$) (πίνακας 3.5). Όλα τα παραπάνω οδηγούν στις σημαντικές διαφορές που βρέθηκαν στα ποσοστά και στη συχνότητα παρουσίας των ομάδων λείας στο στομάχι (έλεγχος χ^2 , Fisher exact, $P < 0,05$, **παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.4**), αλλά και στις χαμηλές τιμές του συντελεστή ομοιότητας Jaccard μεταξύ των εποχών (0,385 - 0,78) (**παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.1 B**). Η σύγκριση των τιμών του τροφικού θώκου, κατά τη διάρκεια του έτους, δείχνει επίσης σημαντικές αποκλίσεις, αλλά μόνο στην περίπτωση των ενήλικων σαυρών (έλεγχος t , όλα τα $P < 0,05$, **παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.6**).

Στην περίπτωση των νησιωτικών πληθυσμών, τα ενήλικα άτομα έδειξαν υψηλότερες τιμές τροφικού θώκου το καλοκαίρι ($H' = 2,34$), ενώ δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά μεταξύ της άνοιξης ($H' = 1,933$) και του φθινοπώρου ($H' = 1,801$). Αντίθετο πρότυπο σημειώθηκε για τον δείκτη Berger-Parker (τροφική εξειδίκευση), όπου υψηλότερες τιμές σημειώθηκαν την άνοιξη ($D = 0,467$) και το φθινόπωρο ($D = 0,475$) και χαμηλότερες κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού ($D = 0,319$) (πίνακας 3.5). Ωστόσο, καμία διαφορά δεν εντοπίστηκε για τις ανήλικες νησιωτικές σαύρες μεταξύ της άνοιξης και του καλοκαιριού όσον αφορά τη ταξινομική σύνθεση της διαίτας (έλεγχος χ^2 , Fisher exact, $P < 0,05$, **παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.4**) και το εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου μεταξύ των εποχών (**παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.6**), παρά τις χαμηλές τιμές του συντελεστή ομοιότητας Jaccard ($\sim 0,65$, βλ. **παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.1 B**). Παρ' όλα αυτά, και ανεξάρτητα από τις παραπλήσιες τιμές του εύρους της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου μεταξύ των εποχών (άνοιξης και καλοκαιριού) για τα ανήλικα άτομα, ο δείκτης Berger-Parker ήταν στατιστικά χαμηλότερος την άνοιξη ($D = 0,194$) σε σύγκριση με εκείνον του καλοκαιριού ($D = 0,444$).

Πίνακας 3.5. Ταξινομική σύνθεση της διαίτας των ενήλικων (E) (ύστερα από ομαδοποίηση των αρσενικών και θηλυκών σαυρών, με βάση τους πίνακες 4.1 και 4.2) και ανήλικων (Αν) ηπειρωτικών και νησιωτικών πληθυσμών του είδους *Lacerta trilineata*, για τις τρεις εποχές του έτους. Άνοιξη (ΑΝ), Καλοκαίρι (ΚΑΛ) και Φθινόπωρο (ΦΘ). %αν αναφέρεται στο ποσοστό και F στη συχνότητα παρουσίας των διαφόρων ομάδων λείας, που συμμετέχουν στη διατροφή των σαυρών. Η' εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θόκου και D δείκτης εξειδίκευσης της διαίτας.

Ομάδες λείας	ΝΗΣΙΩΤΙΚΟΙ ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ										ΗΠΕΡΩΤΙΚΟΙ ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ									
	ΑΝ_E	ΚΑΛ_E	ΦΘ_E	ΑΝ_Αν	ΚΑΛ_Αν	ΑΝ_Αν	ΚΑΛ_Αν	ΑΝ_E	ΚΑΛ_E	ΦΘ_E	ΑΝ_E	ΚΑΛ_E	ΦΘ_E	ΑΝ_Αν	ΚΑΛ_Αν	ΑΝ_Αν	ΚΑΛ_Αν	ΑΝ_E	ΚΑΛ_E	ΦΘ_E
	F	%n	F	%n	F	%n	F	%n	F	%n	F	%n	F	%n	F	%n	F	%n	F	%n
Αράχνες	0,19	3,62	0,09	2,09	0,19	4,95	0,29	11,10	0,09	3,70	0,15	3,08	0,09	2,05	-	-	0,27	16,00	0,33	16,70
Φαλάγγια	0,06	1,09	0,02	1,05	0,04	0,99	0,07	2,78	-	-	0,04	0,62	0,02	0,34	-	-	-	-	0,08	3,33
Ακάρεα	0,02	0,36	0,02	0,52	0,07	1,98	-	-	-	-	0,02	0,31	-	-	-	-	-	-	0,08	6,67
Χειλόποδα	0,17	3,26	0,11	3,66	0,15	4,95	-	-	-	-	0,02	0,62	0,04	0,68	0,05	0,90	-	-	-	-
Ορθόπτερα	0,44	13,00	0,38	12,00	0,41	16,8	0,21	8,33	0,27	11,1	0,3	6,15	0,40	14,00	0,10	1,90	-	-	0,50	26,70
Δερμάττερα	0,04	0,72	0,07	2,62	-	-	0,14	5,55	0,09	3,70	0,07	0,92	-	-	-	-	-	-	-	-
Διπλόποδα	0,13	2,17	0,13	4,19	0,07	1,98	-	-	0,09	3,70	0,04	0,62	0,02	0,34	0,05	0,90	-	-	-	-
Δακτυλιοσκόληκες	0,02	0,36	-	-	-	-	0,07	2,78	-	-	0,02	0,31	-	-	0,05	0,90	-	-	-	-
Γαστερόποδα	0,15	3,62	0,09	4,19	0,04	0,99	0,07	2,78	-	-	0,2	3,08	0,23	5,80	0,14	6,60	0,09	4,00	-	-
Ομόπτερα	-	-	0,09	4,71	-	-	-	-	-	-	0,02	0,31	0,02	0,34	0,05	0,90	-	-	-	-
Ημιπτερα	0,06	1,09	0,04	1,57	0,07	1,98	-	-	0,09	3,70	0,11	1,54	0,04	1,37	0,05	0,90	-	-	0,08	3,33
Λίπτερα	0,04	1,81	0,02	0,52	0,04	0,99	-	-	-	-	0,04	0,92	-	-	-	-	0,09	4,00	-	-
Ισόποδα	0,27	7,61	0,20	9,95	0,19	9,90	0,21	11,10	0,18	7,41	0,20	2,77	0,21	4,78	0,24	6,60	0,09	4,00	0,08	3,33
Λεπιδόπτερα	0,02	0,36	0,07	1,57	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,02	0,05	0,90	0,09	4,00	0,08	3,33
Κολεόπτερα	0,79	46,70	0,64	31,90	0,74	47,50	0,43	19,40	0,73	34,4	0,85	54,80	0,92	63,1	0,95	72,00	0,36	32,00	0,58	30,00
Υμενόπτερα	0,13	2,90	0,11	9,42	0,11	3,96	0,36	16,70	0,09	3,70	0,20	6,46	0,04	1,02	0,05	1,90	0,09	4,00	-	-
Τριγύπτερα	-	-	0,07	1,57	-	-	-	-	-	-	-	-	0,02	0,34	0,05	0,90	-	-	-	-
Μυρμήγκια	0,10	2,90	0,13	3,14	0,04	0,99	0,14	5,56	0,09	17,40	0,09	4,92	0,04	0,68	-	-	0,27	16,00	-	-
Προνύμφες	0,19	8,33	0,16	5,24	0,04	1,98	0,29	13,90	0,27	11,10	0,37	12,6	0,21	4,10	0,19	4,70	0,36	16,00	0,17	6,67
Φυτικό υλικό	0,25	0,38	0,38	0,19	0,14	0,14	0,14	0,09	0,09	0,09	0,15	0,15	0,13	0,10	0,10	-	-	-	-	-
Σύνολο λείας	276	191	101	36	27	36	27	325	293	106	325	293	106	25	30	25	30	25	30	25
Δείγμα	48	45	27	14	11	14	11	46	53	21	46	53	21	11	12	11	12	11	12	11
Τεμάχια/στομάχι	5,75	4,24	3,74	2,57	2,45	3,74	2,45	7,06	5,53	5,04	7,06	5,53	5,04	2,27	2,50	2,27	2,50	2,27	2,50	2,27
D	0,467	0,319	0,475	0,194	0,444	0,475	0,194	0,548	0,717	0,632	0,548	0,717	0,632	0,320	0,300	0,320	0,300	0,320	0,300	0,320
H'	1,933	2,340	1,801	2,206	1,970	1,801	2,206	1,699	1,199	1,385	1,699	1,199	1,385	1,888	1,827	1,888	1,827	1,888	1,827	1,888
Γ'spectrum	0,981	0,934	0,985	0,997	0,989	0,985	0,997	0,960	0,989	0,979	0,960	0,989	0,979	0,996	0,992	0,996	0,992	0,996	0,992	0,996

Οι ενήλικες σαύρες από την ηπειρωτική Ελλάδα εμφάνισαν υψηλότερο εύρος στην τροφική διάσταση του οικολογικού θώκου κατά τη διάρκεια της άνοιξης ($H' = 1,699$) και χαμηλότερο εύρος το καλοκαίρι ($H' = 1,199$) (**πίνακας 3.5**). Οι τιμές του δείκτη Berger-Parker παρουσίασαν αντίθετο πρότυπο από ό,τι ο δείκτης Shannon-Wiener (**πίνακας 3.5**). Τα ανήλικα των ηπειρωτικών πληθυσμών έδειξαν μια ξεκάθαρη διαφοροποίηση, όσον αφορά τα ποσοστά της ταξινομικής σύνθεσης της δίαιτας μεταξύ των δύο εποχών (άνοιξη και καλοκαίρι) (έλεγχος χ^2 , Fisher exact, $P < 0,05$; **παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.4**) και ως εκ τούτου χαμηλές τιμές επικάλυψης του τροφικού θώκου ($Q_{jk} = 0,64$, βλ. **παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.5**) και χαμηλές τιμές του συντελεστή ομοιότητας Jaccard ($\sim 0,34$, βλ. **παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.1 B**). Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά στο εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου (1,888 έναντι 1,827) και στο δείκτη εξειδίκευσης Berger-Parker (0,32 έναντι 0,30) μεταξύ της άνοιξης και του καλοκαιριού (**πίνακας 3.5**).

3.3.9. Γεωγραφική διαφοροποίηση της τροφής

Και στα δύο περιβάλλοντα (νησιωτικό και ηπειρωτικό) δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στα ποσοστά του συνολικού αριθμού ατόμων λείας (για τα taxa με υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης) στο στομάχι (έλεγχος χ^2 , Fisher exact, όλα τα $P > 0,05$). Επιπλέον, οι τιμές του συντελεστή ομοιότητας Jaccard ($\sim 0,8$) και του δείκτη επικάλυψης του τροφικού θώκου ($Q_{jk} > 0,95$), εντός του κάθε περιβάλλοντος, ήταν αρκετά υψηλές. Ως αποτέλεσμα των προαναφερθέντων, οι υπό μελέτη πληθυσμοί ομαδοποιήθηκαν σε δύο μεγάλες ομάδες (μία για τα νησιά και μία για την ηπειρωτική Ελλάδα).

Η σύγκριση μεταξύ των νησιωτικών και των ηπειρωτικών πληθυσμών έδειξε σημαντικές διαφορές, όσον αφορά τη σύνθεση της δίαιτας. Πρώτον, η τροφή των ηπειρωτικών σαυρών βρέθηκε να αποτελείται σχεδόν εξ ολοκλήρου από δύο ομάδες, ήτοι Κολεόπτερα ($\sim 65\%$) και Ορθόπτερα ($\sim 10\%$), παρουσιάζοντας εξαιρετικά μεγάλη εξειδίκευση στη δίαιτά. Το χαμηλό εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου που βρέθηκε για τις ηπειρωτικές σαύρες, ενισχύει την παραπάνω παρατήρηση. Σε αντίθεση με τα παραπάνω, οι ενήλικες νησιωτικές σαύρες, σε σύγκριση με τις αντίστοιχες ηπειρωτικές, παρουσιάζουν μεγαλύτερο εύρος στην τροφική διάσταση του οικολογικού θώκου, και τις τρεις εποχές του έτους (H' , άνοιξη: 1,933 έναντι 1,699; καλοκαίρι: 2,34 έναντι 1,199; φθινόπωρο: 1,801 έναντι 1,385) (έλεγχος t , όλα τα $P < 0,05$; **πίνακας 3.5** και

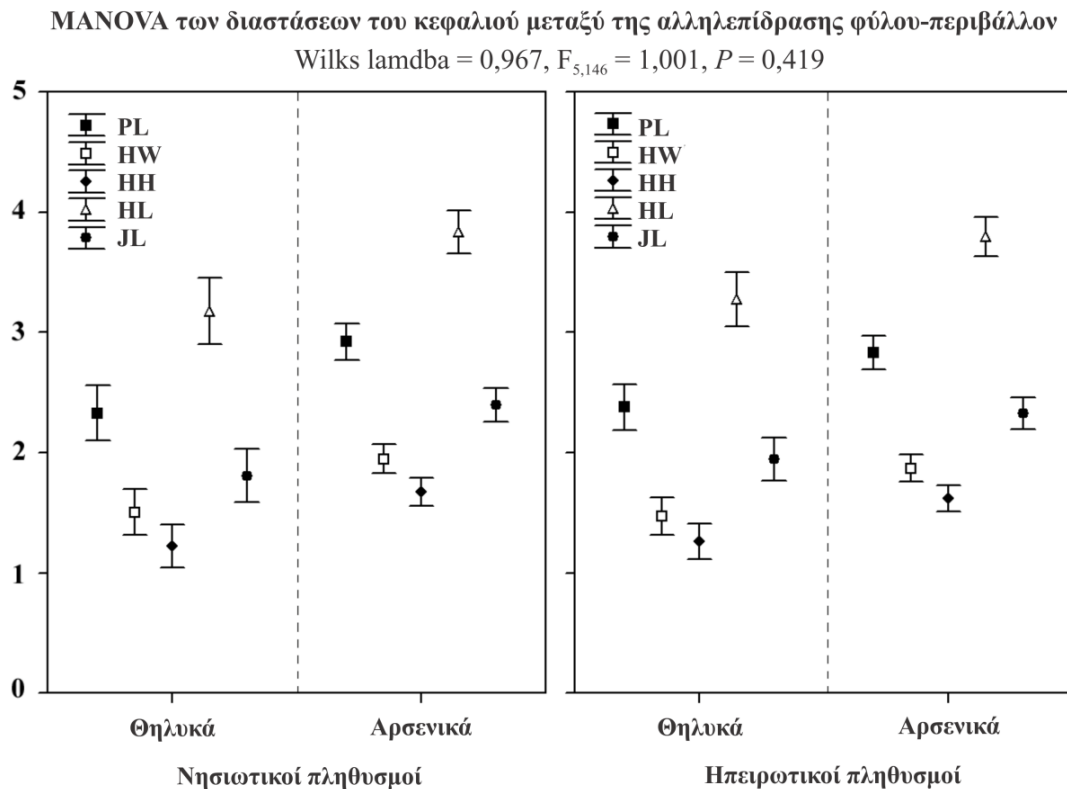
παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.6). Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τις υψηλότερες τιμές του δείκτη τροφικής εξειδίκευσης Berger-Parker των ηπειρωτικών πληθυσμών για όλες τις εποχές (*D*, άνοιξη: 0,467 έναντι 0,548; καλοκαίρι: 0,319 έναντι 0,717; φθινόπωρο: 0,475 έναντι 0,631) (**πίνακας 3.5**). Ωστόσο, θα πρέπει να τονιστεί, ότι οι ανήλικες σαύρες από τη νησιωτική και ηπειρωτική Ελλάδα δεν έδειξαν καμία διαφορά μεταξύ τους, όσον αφορά το εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου (έλεγχος *t*, όλα τα $P > 0,05$) (**παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.6**).

Επιπλέον, βρήκαμε ότι ανάμεσα στους νησιωτικούς και ηπειρωτικούς πληθυσμούς υπάρχει σημαντική διαφορά στο ποσοστό συμμετοχής των διαφόρων ταξινομικών μονάδων της λείας (έλεγχος χ^2 , Fisher exact, $P < 0,05$, **παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.4**). Όσον αφορά τις λειτουργικές ιδιότητες της λείας, ο έλεγχος χ^2 ανάμεσα σε άτομα του ίδιου φύλου, αλλά από διαφορετικά περιβάλλοντα, έδειξε επίσης σημαντικές διαφορές (έλεγχος χ^2 , Fisher exact $P < 0,05$), με τις ηπειρωτικές αρσενικές σαύρες να καταναλώνουν υψηλότερα ποσοστά σκληρής λείας από ό,τι οι νησιωτικές. Από την άλλη μεριά, το ποσοστό εδαφόβιας λείας ήταν σημαντικά μεγαλύτερο μόνο στην περίπτωση των νησιωτικών θηλυκών ατόμων (έλεγχος χ^2 , Fisher exact $P < 0,05$). Τέλος, ενδιαφέρον παρουσιάζει η σημαντική διαφοροποίηση που βρέθηκε μεταξύ των σαυρών από τα δύο διαφορετικά περιβάλλοντα, όσον αφορά την κατανάλωση φυτικής ύλης, με τις νησιωτικές σαύρες να καταναλώνουν σημαντικά μεγαλύτερες ποσότητες φυτικού υλικού σε σύγκριση με τις ηπειρωτικές (και για τα δύο φύλα: έλεγχος χ^2 , Fisher exact $P < 0,05$), αλλά και ο σημαντικά μικρότερος μέσος αριθμός τεμαχίων στα στομάχια των νησιωτικών σαυρών (έλεγχος χ^2 , Fisher exact, $P < 0,05$, **πίνακας 3.5**).

3.3.10. Αποκλίσεις του μεγέθους της κεφαλής (απλή μορφομετρία)

Η ανάλυση ANOVA και για τα δύο φύλα, δεν έδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ των τριών νησιωτικών πληθυσμών, όσον αφορά τους γραμμικούς χαρακτήρες της κεφαλής (HL, HW, HH, PL, JL) (ANOVA, Tukey *HSD*, θηλυκά: όλα τα $P > 0,05$ και αρσενικά: όλα τα $P > 0,05$), γεγονός που είχε, ως αποτέλεσμα, την ομαδοποίηση των τριών πληθυσμών (Ανδρος, Κρήτη, Σκύρος) σε δύο μεγάλες ομάδες, μια για τα αρσενικά και μια για τα θηλυκά άτομα. Παρόμοια, οι τρεις ηπειρωτικοί πληθυσμοί (από τις περιοχές της Πελοποννήσου, Θεσσαλίας και Ηπείρου) του είδους ομαδοποιήθηκαν και αυτοί σε δύο

ομάδες, εφόσον δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αποκλίσεις μεταξύ των διαστάσεων της κεφαλής για καθένα φύλο (ANOVA, Tukey *HSD*, θηλυκά: όλα τα $P > 0,05$ και αρσενικά: όλα $P > 0,05$). Με βάση τα παραπάνω, προέκυψαν τέσσερις ομάδες, δύο για τις αρσενικές (νησιωτικές ή ηπειρωτικές) και δύο για τις θηλυκές (νησιωτικές ή ηπειρωτικές) σαύρες.

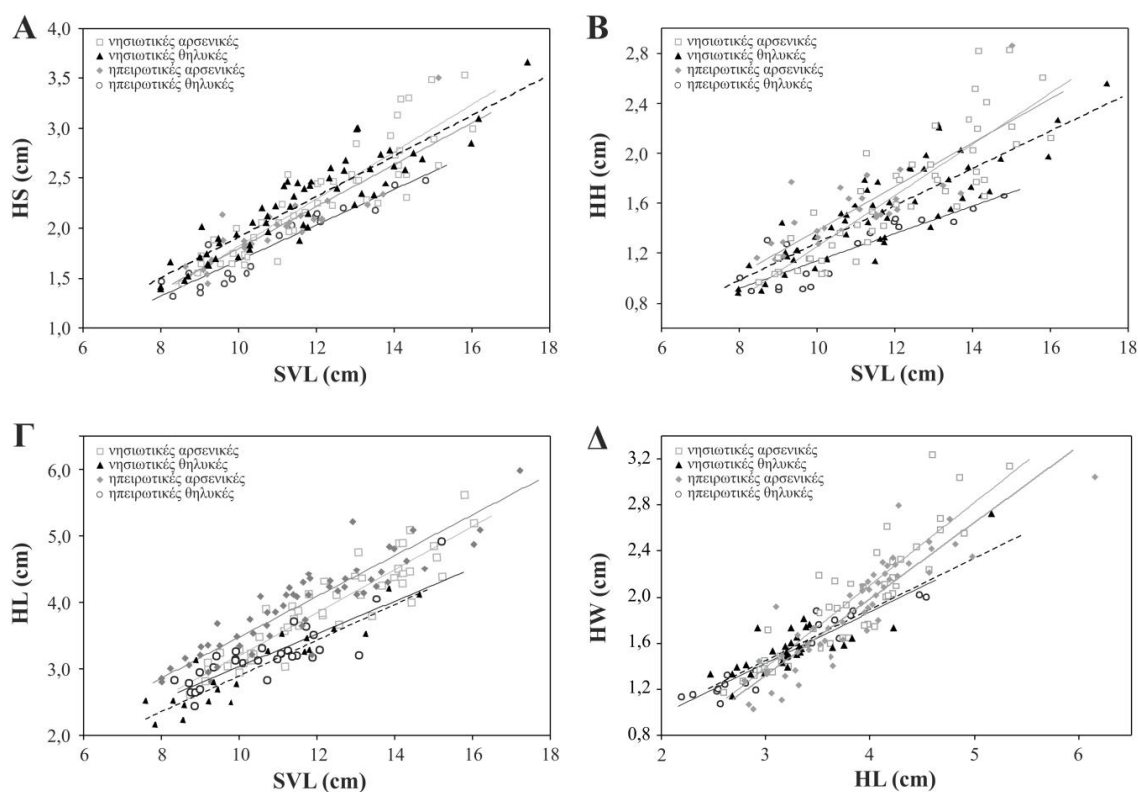


Εικόνα 3.9. Σχηματική απεικόνιση των αποτελεσμάτων της ανάλυσης MANOVA για τις διαστάσεις της κεφαλής (σε εκατοστά) για τις τέσσερις υπό μελέτη ομάδες (νησιωτικά αρσενικά, νησιωτικά θηλυκά, ηπειρωτικά αρσενικά και ηπειρωτικά θηλυκά άτομα). Τα σημεία αντιπροσωπεύουν τις μέσες τιμές της κάθε μεταβλητής ενώ οι κάθετες μπάρες το τυπικό σφάλμα. Τα ανοικτά τρίγωνα αναφέρονται στο χαρακτήρα μήκος κεφαλής (HL), οι μαύροι ρόμβοι στο ύψος της κεφαλής (HH), τα ανοικτά τετράγωνα στο πλάτος της κεφαλής (HW), οι μαύροι κύκλοι στο μήκος γνάθου (JL) και τα μαύρα κλειστά τετράγωνα στο μήκος καλύμματος της κεφαλής (PL).

Αναφορικά με τις πέντε διαστάσεις του κεφαλιού διαπιστώσαμε ότι αυτές διέφεραν σημαντικά μεταξύ των αρσενικών και των θηλυκών ατόμων και στα δύο περιβάλλοντα (two-way MANOVA, Wilks lambda=0,97, $F_{5, 146} = 1,00$, $P > 0,05$, post-hoc Tukey *HSD* test, $P < 0,05$, **εικόνα 3.9**). Επιπλέον, οι αρσενικές σαύρες είχαν σημαντικά μεγαλύτερο μέγεθος σώματος από τις θηλυκές (two-way ANOVA, $F_{1, 150} = 0,56$, $P > 0,05$, post-hoc Tukey *HSD* test, **πίνακας 3.6**). Ωστόσο, λόγω της θετικής συσχέτισης του SVL με τις διαστάσεις της κεφαλής (όλα τα $r^2 > 0,80$ και $P < 0,05$), η παραπάνω ανάλυση

επαναλήφθηκε, λαμβάνοντας υπ' όψιν την επίδραση του SVL. Παρ' όλα αυτά, οι διαφορές παρέμειναν (MANCOVA, Wilks lambda = 0,97, $F_{5, 145} = 0,89$, post-hoc Tukey *HSD* test, $P < 0,05$), με τις αρσενικές σαύρες να έχουν σημαντικά μεγαλύτερη κεφαλή σε σύγκριση με τις θηλυκές.

Όσον αφορά τις διαστάσεις της κεφαλής και του μήκους σώματος, ανάμεσα σε σαύρες του ίδιου φύλου, αλλά από διαφορετικά περιβάλλοντα, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αποκλίσεις (διαστάσεις κεφαλής: two-way MANCOVA, Wilks lambda=0,97, $F_{5, 145} = 0,892$, $P > 0,05$, post-hoc Tukey *HSD* test, $P > 0,05$, μήκος σώματος: ANOVA, $F_{1,150} = 0,56$, $P > 0,05$, post-hoc Tukey *HSD* test, $P > 0,05$, **πίνακας 3.6** και **εικόνα 3.10**). Ομοίως, το γεωμετρικό μέγεθος της κεφαλής δε φάνηκε να διαφέρει μεταξύ των ατόμων του ίδιου φύλου από τα διαφορετικά περιβάλλοντα (ANOVA, $F_{1,150} = 0,26$, $P > 0,05$, post-hoc Tukey *HSD* test, $P > 0,05$, **πίνακας 3.6**).



Εικόνα 3.10. Σχέσεις αλλομετρίας, για τις τέσσερις υπό μελέτη ομάδες (νησιωτικές αρσενικές, νησιωτικές θηλυκές, ηπειρωτικές αρσενικές και ηπειρωτικές θηλυκές), μεταξύ του μεγέθους σώματος και του Α) μέγεθος κεφαλής (HS), Β) ύψος κεφαλής (HH), Γ) μήκος κεφαλής (HL), καθώς και Δ) μεταξύ του πλάτους κεφαλής (HW) και του μήκους κεφαλής. Τα ανοικτά γκρι τρίγωνα με τη συνεχή γκρι γραμμή αναφέρονται στις νησιωτικές αρσενικές σαύρες, τα μαύρα τρίγωνα με τη διακεκομμένη μαύρη γραμμή στις νησιωτικές θηλυκές σαύρες, οι γκρι ρόμβοι με τη διακεκομμένη γκρι γραμμή στις ηπειρωτικές αρσενικές σαύρες και οι ανοικτοί μαύροι κύκλοι με τη μαύρη συνεχή γραμμή στις ηπειρωτικές θηλυκές σαύρες.

Πίνακας 3.6. Αποτελέσματα των στατιστικών αναλύσεων και περιγραφική στατιστική των μεταβλητών για το σύνολο των δειγμάτων μελέτης. HL (μήκος κεφαλιού, head length), HH (ύψος κεφαλιού, head height), HW (πλάτος κεφαλιού, head width), PL (μήκος καλύμματος κεφαλής, pileus length), JL (μήκος γνάθου, jaw length), SVL (μήκος σώματος, body size) και HS (μέγεθος σώματος, head size). Όλες οι μετρήσεις δίνονται σε εκατοστά (cm). Για κάθε μεταβλητή αναγράφεται η μέση τιμή $\pm$ 1 SD (τυπικό σφάλμα), το μέγεθος δείγματος (*N*) καθώς και η ελάχιστη – μέγιστη τιμή. GM αναφέρεται στα αποτελέσματα της ανάλυσης της γεομετρικής μορφομετρίας (για την πλευρική και τη ραχιαία όψη του κεφαλιού).

Περιβάλλον	Sex	SVL	HL	HH	HW	PL	JL	HS	GM
Νησιωτικό (N)	Αρσενικές (A)	12,15 $\pm$ 2,06 (8,50 - 16,0) <i>N</i> = 48	3,83 $\pm$ 0,65 (2,62 - 5,41) <i>N</i> = 48	1,67 $\pm$ 0,49 (0,96 - 2,81) <i>N</i> = 48	1,94 $\pm$ 0,51 (1,17 - 3,25) <i>N</i> = 48	2,93 $\pm$ 0,59 (2,00 - 4,19) <i>N</i> = 48	2,40 $\pm$ 0,49 (1,56 - 3,39) <i>N</i> = 48	2,31 $\pm$ 0,54 (1,43 - 3,53) <i>N</i> = 48	<i>N</i> = 48
	Θηλυκές (Θ)	10,76 $\pm$ 1,97 (8,00 - 14,8) <i>N</i> = 20	3,18 $\pm$ 0,69 (2,19 - 4,53) <i>N</i> = 20	1,22 $\pm$ 0,25 (0,90 - 1,66) <i>N</i> = 20	1,51 $\pm$ 0,32 (1,08 - 2,02) <i>N</i> = 20	2,33 $\pm$ 0,41 (1,70 - 3,18) <i>N</i> = 20	1,81 $\pm$ 0,37 (1,27 - 2,56) <i>N</i> = 20	1,80 $\pm$ 0,37 (1,31 - 2,47) <i>N</i> = 20	<i>N</i> = 20
Ηπειρωτικό (H)	Αρσενικές (A)	11,60 $\pm$ 2,15 (8,00 - 17,40) <i>N</i> = 56	3,79 $\pm$ 0,64 (2,74 - 6,16) <i>N</i> = 56	1,62 $\pm$ 0,44 (0,87 - 2,84) <i>N</i> = 56	1,87 $\pm$ 0,46 (1,02 - 3,05) <i>N</i> = 56	2,83 $\pm$ 0,58 (1,80 - 4,44) <i>N</i> = 56	2,32 $\pm$ 0,61 (1,43 - 4,52) <i>N</i> = 56	2,25 $\pm$ 0,53 (1,36 - 3,76) <i>N</i> = 56	<i>N</i> = 56
	Θηλυκές (Θ)	10,73 $\pm$ 1,58 (8,46 - 15,2) <i>N</i> = 30	3,27 $\pm$ 0,51 (2,46 - 5,17) <i>N</i> = 30	1,26 $\pm$ 0,28 (0,88 - 2,41) <i>N</i> = 30	1,47 $\pm$ 0,27 (1,04 - 2,62) <i>N</i> = 30	2,38 $\pm$ 0,35 (1,90 - 3,80) <i>N</i> = 30	1,95 $\pm$ 0,32 (1,45 - 3,13) <i>N</i> = 30	1,82 $\pm$ 0,32 (1,35 - 3,20) <i>N</i> = 30	<i>N</i> = 30
Στατιστική ανάλυση (two-way)		ANOVA F1,150 = 0,56, P = 0,455	MANCOVA, Wilks lambda=0,970, F_{5,145} = 0,892, P = 0,488				ANOVA F1,150 = 0,26, P = 0,606	ANOVA P < 0,05	
Ομαδοποίηση		{NA, HM} {NΘ, HΘ}	{NA, HM} {NΘ, HΘ}	{NA, HM} {NΘ, HΘ}	{NA, HM} {NΘ, HΘ}	{NA, HM} {NΘ, HΘ}	{NA, HM} {NΘ, HΘ}	{NA, HM} {NΘ, HΘ}	{NA} {HM} {NΘ} {HΘ}

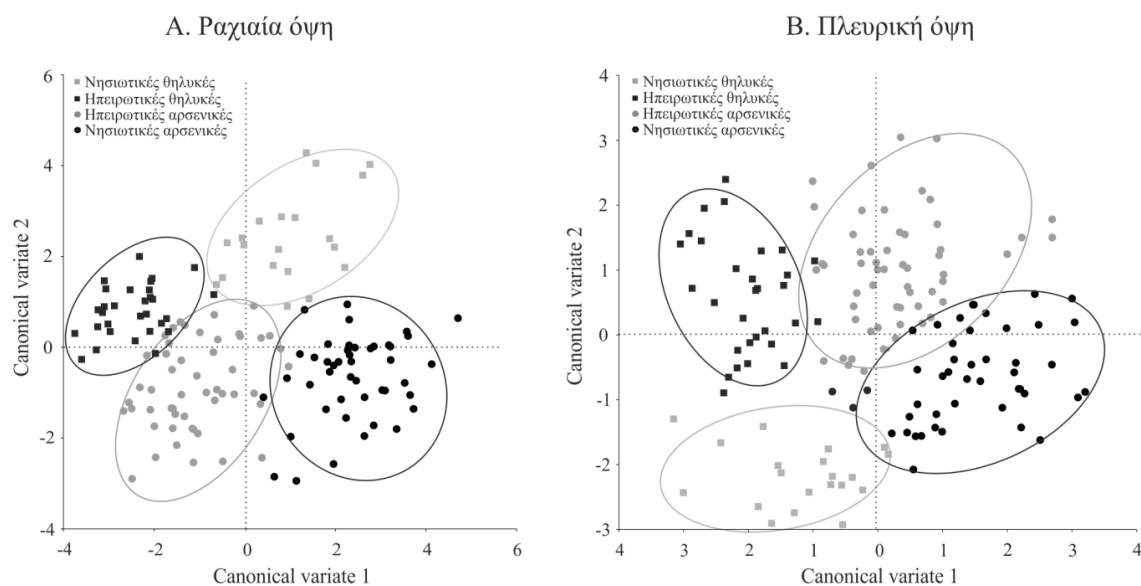
Οι αναλύσεις παλινδρόμησης για τους κεφαλικούς μορφολογικούς χαρακτήρες, έδειξαν μια ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ όλων των γραμμικών μεταβλητών της κεφαλής (για όλους τους ανά δύο συνδυασμούς $P < 0,05$) (εικόνα 3.10). Κάτι ανάλογο παρατηρήθηκε και για το μήκος σώματος, που φάνηκε να συσχετίζεται θετικά με τους γραμμικούς χαρακτήρες της κεφαλής και για τα δύο φύλα (και τα δύο $P < 0,05$) (εικόνα 3.10). Επιπλέον, οι κατά ζεύγη συγκρίσεις των συντελεστών παλινδρόμησης (regression coefficient), για όλες τις διαστάσεις της κεφαλής, έδειξαν σημαντικές αποκλίσεις μεταξύ των δύο φύλων, με τις αρσενικές σαύρες να παρουσιάζουν μια σαφώς ταχύτερη αύξηση των γνωρισμάτων της κεφαλής σε σχέση με το μέγεθος σώματος από ό,τι οι θηλυκές σαύρες (όλα τα $P < 0,05$). Από την άλλη μεριά, δεν βρέθηκε κάτι ανάλογο και μεταξύ ατόμων του ίδιου φύλου από τα διαφορετικά περιβάλλοντα.

3.3.11. Αποκλίσεις του σχήματος της κεφαλής (γεωμετρική μορφομετρία) και της δύναμης δήγματος

Η ανάλυση της διακύμανσης Procrustes, με σύγκριση κατά ζεύγη, έδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ των έξι πληθυσμών μελέτης, τόσο για την πλευρική (Procrustes ANOVA, $F_{84,4200} = 6,99$, $P < 0,001$) όσο και για τη ραχιαία (Procrustes ANOVA, $F_{84,7952} = 50,14$, $P < 0,001$) όψη της κεφαλής. Η σύγκριση κατά ζεύγη έδειξε ότι οι σαύρες του ίδιου φύλου και από το ίδιο οικοσύστημα μελέτης (νησιωτικό ή ηπειρωτικό) δεν διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το σχήμα της κεφαλής (Procrustes ANOVA, όλα τα $P > 0,05$). Όταν οι φυλογενετικές σχέσεις των πληθυσμών λήφθηκαν υπ' όψιν, οι σχέσεις μεταξύ των πληθυσμών/ομάδων παρέμειναν (πλευρική όψη: $F = 133,327$, $P < 0,01$ και ραχιαία όψη: $F = 26,244$, $P < 0,01$, έλεγχος Bonferroni post-hoc). Για το λόγο αυτόν, στις μετέπειτα αναλύσεις, οι πληθυσμοί ομαδοποιήθηκαν, όπως και παραπάνω, σε τέσσερις ομάδες, δύο για τις θηλυκές (νησιωτικές ή ηπειρωτικές) και δύο για τις αρσενικές (νησιωτικές ή ηπειρωτικές).

Χρησιμοποιώντας τη νέα μήτρα δεδομένων, η ανάλυση της διακύμανσης Procrustes επαναλήφθηκε. Η σύγκριση μεταξύ των τεσσάρων ομάδων έδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο φύλων και μεταξύ των σαυρών από διαφορετικά περιβάλλοντα, αφενός, για τη ραχιαία και, αφετέρου, για την πλευρική όψη της κεφαλής (Procrustes ANOVA, όλα τα $P < 0,05$, πίνακας 3.6). Το πρότυπο αυτό επιβεβαιώθηκε και από την CVA (Klingenberg 2011) (εικόνα 3.11), με τις αρσενικές σαύρες να έχουν περισσότερο

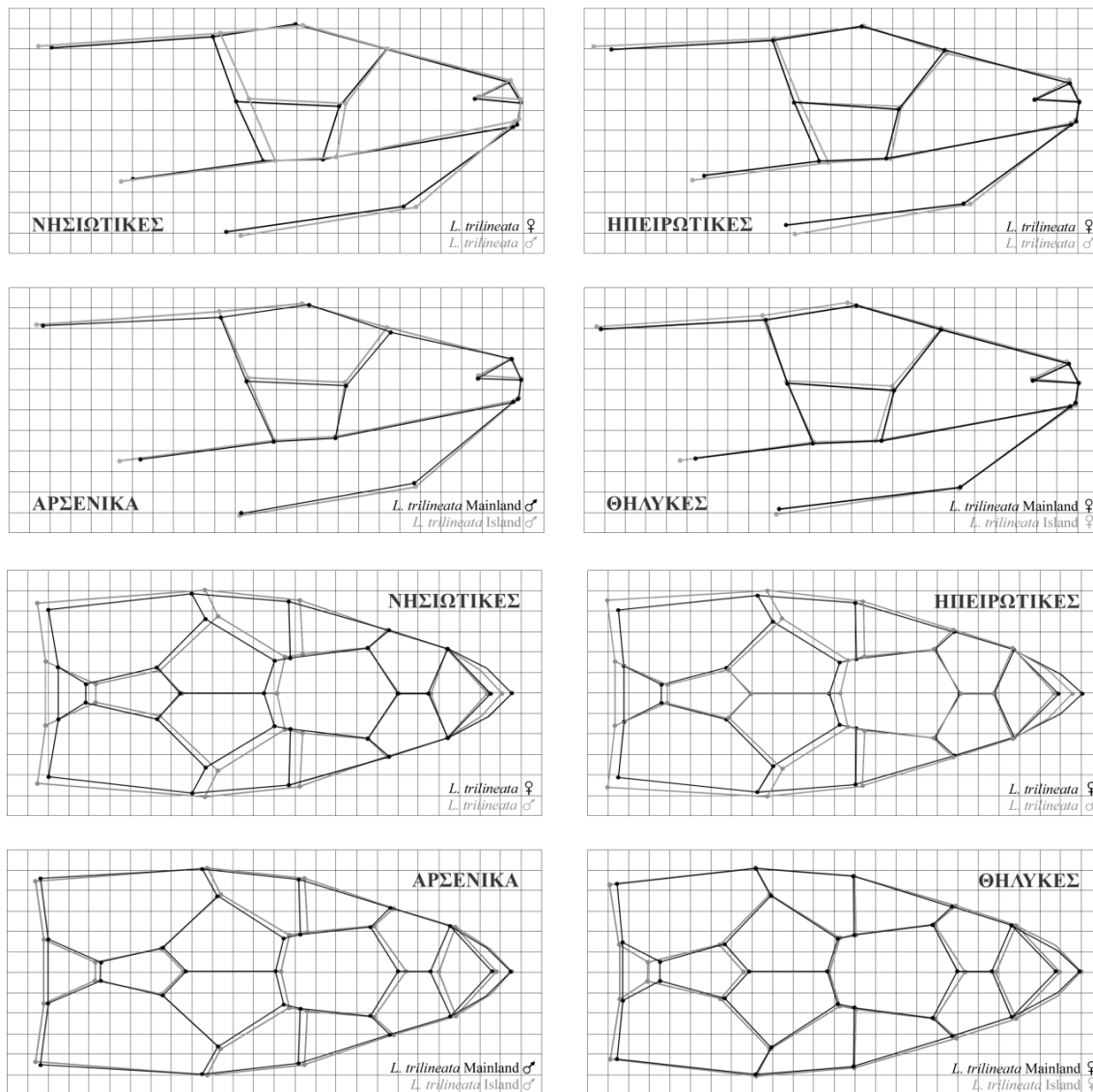
στρογγυλεμένο ρύγχος, πιο πλατιές και ψηλές κεφαλές, σε σχέση με τις θηλυκές σαύρες και, δεύτερον, τις νησιωτικές σαύρες να έχουν πιο μακριά και ψηλή κεφαλή, αλλά παρόμοιο πλάτος κεφαλής, σε σύγκριση με εκείνο των ηπειρωτικών σαυρών (**εικόνα 3.12**). Τα πρότυπα αυτά επιβεβαιώθηκαν επίσης και από την κατά ζεύγη σύγκριση των κεντροειδών τιμών της κεφαλής, που παρήχθησαν από το πρόγραμμα tpsRelw (Rohlf 2008b), μεταξύ των τεσσάρων ομάδων μελέτης (two-way ANOVA, πλευρική όψη: $F_{3,150} = 19,18$, $P < 0,05$, post-hoc Tukey HSD, $P < 0,05$, ραχιαία όψη: $F_{3,150} = 19,85$, $P < 0,05$, post-hoc Tukey HSD, $P < 0,05$).



Εικόνα 3.11. Ανάλυση κανονικών μεταβλητών (canonical variance analysis, CVA) των δεδομένων της γεωμετρικής μορφομετρίας της κεφαλής της πλευρικής και ραχιαίας όψης. Γκρι τετράγωνα: νησιωτικές θηλυκές, μαύρα τετράγωνα: ηπειρωτικές θηλυκές, γκρι κύκλοι: ηπειρωτικές αρσενικές, μαύροι κύκλοι: νησιωτικές αρσενικές. ανάλυση CVA A) στη ραχιαία όψη της κεφαλής ο πρώτος άξονας (CV1) χωρίζει τις ομάδες με βάση το μήκος και ο δεύτερος (CV2) με βάση το πλάτος της κεφαλής, ενώ B) στην πλευρική όψη της κεφαλής ο πρώτος άξονας (CV1) χωρίζει τις ομάδες με βάση το μήκος και ο δεύτερος (CV2) με βάση το ύψος της κεφαλής.

Για το λειτουργικό χαρακτήρα της ισχύος δήγματος, τα αποτελέσματά μας έδειξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο φύλων, με τις αρσενικές σαύρες να επιδεικνύουν μεγαλύτερη δύναμη δήγματος από ό,τι οι θηλυκές (two-way ANCOVA, $F_{1,44} = 3,57$, $P > 0,05$, post-hoc Tukey HSD test, όλα τα $P < 0,05$, **πίνακας 3.7** και **εικόνα 3.13**). Ακόμη και όταν οι διαστάσεις της κεφαλής λήφθηκαν υπ' όψιν, οι διαφορές αυτές παρέμειναν (MANCOVA, post-hoc Tukey HSD test, $P < 0,05$). Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί ότι η δύναμη δήγματος φάνηκε να διαφέρει ακόμη και ανάμεσα σε σαύρες του ίδιου φύλου,

αλλά από διαφορετικά περιβάλλοντα. Με άλλα λόγια, βρήκαμε ότι οι νησιωτικές αρσενικές σαύρες καταφέρνουν ισχυρότερα δήγματα από ό,τι οι ηπειρωτικές αρσενικές (two-way ANCOVA, post-hoc Tukey HSD test, $P < 0,05$, **πίνακας 3.7**). Βέβαια, κάτι τέτοιο δεν φάνηκε να ισχύει και για τις θηλυκές όπου, τόσο οι νησιωτικές όσο και οι ηπειρωτικές καταφέρνουν δήγματα παρόμοιας ισχύος (two-way ANCOVA, post-hoc Tukey HSD test, $P < 0,05$, **πίνακας 3.7**).

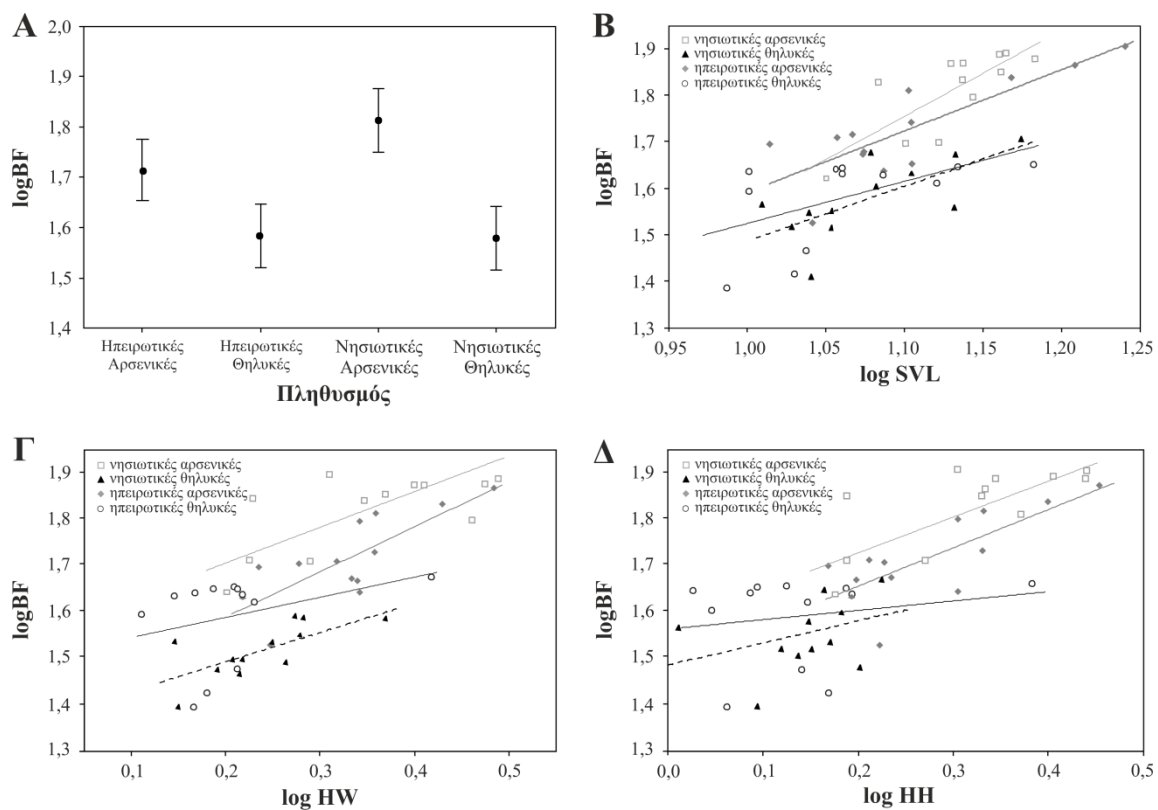


Εικόνα 3.12. Σύγκριση της μέσης μορφολογίας της κεφαλής, για τη ραχιαία και την πλευρική όψη της κεφαλής, μεταξύ αρσενικών και θηλυκών σαυρών, καθώς και μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών σαυρών.

Επιπρόσθετα, οι αναλύσεις παλινδρόμησης της ισχύος δήγματος με κάθε μια από τις γραμμικές διαστάσεις της κεφαλής (HL, HW, HH, JL) και με το μήκος σώματος (SVL) των σαυρών, έδειξαν επίσης σημαντικές αποκλίσεις μεταξύ των δύο φύλων, με τις

αρσενικές σαύρες να παρουσιάζουν μια σαφώς πιο έντονη κλίση καμπύλης παλινδρόμησης (όλα τα $P < 0,05$, **εικόνα 3.13**). Το γεγονός αυτό συνηγορεί στο ότι, για ίδιο μέγεθος κεφαλής, η ισχύς δήγματος είναι μεγαλύτερη στην περίπτωση των αρσενικών ατόμων, υποδηλώνοντας μια ταχύτερη αύξηση του λειτουργικού αυτού χαρακτήρα στα αρσενικά άτομα.

Τέλος, η ανάλυση συσχέτισης Mantel έδειξε ότι η σύσταση της τροφής συσχετίζεται θετικά με την πλευρική όψη της κεφαλής ($r = 0,71$, $P < 0,05$), εύρημα που όμως δεν φάνηκε να επιβεβαιώνεται και για την περίπτωση της ραχιαίας όψης της κεφαλής ($r = 0,59$, $P > 0,05$).



Εικόνα 3.13. Απόκλιση της δύναμης δήγματος και αλλομετρικές σχέσεις μεταξύ δύναμη δήγματος (bite force, BF), διαστάσεων κεφαλής και μεγέθους σώματος (SVL). Α) Αποκλίσεις της δύναμης δήγματος μεταξύ των τεσσάρων ομάδων μελέτης και σχέση μεταξύ Β) δύναμης δήγματος και μεγέθους σώματος, Γ) δύναμης δήγματος και πλάτους κεφαλής (HW), καθώς και Δ) δύναμης δήγματος και ύψους κεφαλής (HH). Τα σημεία αντιπροσωπεύουν τις μέσες τιμές της κάθε μεταβλητής και οι μπάρες το τυπικό σφάλμα. Ανοικτά γκρι τρίγωνα με συνεχή γκρι γραμμή αναφέρονται στις νησιωτικές αρσενικές, μαύρα τρίγωνα με μαύρη διακεκομμένη γραμμή στις νησιωτικές θηλυκές, γκρι ρόμβοι με γκρι διακεκομμένη γραμμή στις ηπειρωτικές αρσενικές και ανοικτοί μαύροι κύκλοι με μαύρη συνεχή γραμμή στις ηπειρωτικές θηλυκές σαύρες.

Πίνακας 3.7. Αποτελέσματα των στατιστικών αναλύσεων και περιγραφική στατιστική των μεταβλητών μόνο για τα ζώα που συλλέχθηκαν στο πεδίο. HL (μήκος κεφαλιού, head length), HH (ύψος κεφαλιού, head height), HW (πλάτος κεφαλιού, head width), PL (μήκος καλύμματος κεφαλής, pileus length), JL (μήκος γνάθου, jaw length), SVL (μήκος σώματος, body size) και HS (μέγεθος σώματος, head size). Όλες οι μετρήσεις δίνονται σε εκατοστά (cm). Για κάθε μεταβλητή δίνονται η μέση τιμή $\pm$ 1 SD (τυπικό σφάλμα), μέγεθος δείγματος (*N*) καθώς και η ελάχιστη – μέγιστη τιμή. BF αναφέρεται στην δύναμη δέγματος (bite force) που μετρήθηκε στις σαύρες που συλλέχθηκαν στο πεδίο, και δίνεται σε μονάδες Newtons (N). Στην περίπτωση της στατιστικής ανάλυσης της μεταβλητής BF, όλες οι διαστάσεις του κεφαλιού χρησιμοποιήθηκαν ως συμμεταβλητές.

Περιβάλλον	Φύλο	SVL	HL	HH	HW	PL	JL	HS	BF
Νησιωτικό (N)	Αρσενικές (Α)	13,97 ± 1,26 (11,39 - 15,8) N = 12	4,32 ± 0,55 (3,54- 5,41) N = 12	2,14 ± 0,46 (1,52- 2,81) N = 12	2,40 ± 0,56 (1,64- 3,25) N = 12	3,46 ± 0,52 (2,53- 4,19) N = 12	2,85 ± 0,42 (2,19- 3,39) N = 12	2,61 ± 0,51 (1,85- 3,33) N = 12	66,43 ± 12,41 N=12
		12,03 ± 1,34 (10,3 - 14,8) N = 12	3,58 ± 0,41 (2,9- 4,47) N = 12	1,41 ± 0,53 (1,04- 1,66) N = 12	1,72 ± 0,25 (1,37- 2,32) N = 12	2,61 ± 25 (2,16- 3,03) N = 12	2,10 ± 0,25 (1,55- 2,56) N = 12	1,85 ± 0,18 (1,45- 2,17) N = 12	39,43 ± 7,98 N = 12
	Αρσενικές (Α)	12,83 ± 2,06 (10,36 - 17,4) N = 13	4,17 ± 0,69 (3,41- 6,16) N = 13	1,92 ± 0,41 (1,47- 2,84) N = 13	2,16 ± 0,39 (1,65- 3,05) N = 13	3,16 ± 0,54 (2,45- 4,44) N = 13	2,61 ± 0,59 (1,77- 3,68) N = 13	2,36 ± 0,43 (1,85- 3,37) N = 13	55,98 ± 11,41 N = 13
		Θηλυκές (Θ)	11,65 ± 1,65 (9,69 - 15,2) N = 12	3,53 ± 0,62 (2,91- 5,17) N = 12	1,41 ± 0,36 (1,06- 2,41) N = 12	1,62 ± 0,33 (1,29- 2,62) N = 12	2,54 ± 0,43 (2,19- 3,8) N = 12	2,07 ± 0,39 (1,56- 3,13) N = 12	1,80 ± 0,37 (1,47- 2,88) N = 12
Ηπειρωτικό (H)		ANOVA F1,45 = 0,67, P = 0,417							ANCOVA F1,44 = 3,57, P = 0,06
		MANCOVA, Wilks lambda=0,895, F5, 41 = 0,444, P = 0,815							ANOVA F1,45 = 0,73, P = 0,395
Ομαδοποίηση		{HA,HΘ,NΘ} {NA}	{NA,HA} {NΘ,HΘ}	{NA,HA} {NΘ,HΘ}	{NA,HA} {NΘ,HΘ}	{NA,HA} {NΘ,HΘ}	{NA,HA} {NΘ,HΘ}	{NA,HA} {NΘ,HΘ}	{NA},{HA} {NΘ,HΘ}

3.3.12. Μορφολογία του γαστρεντερικού σωλήνα

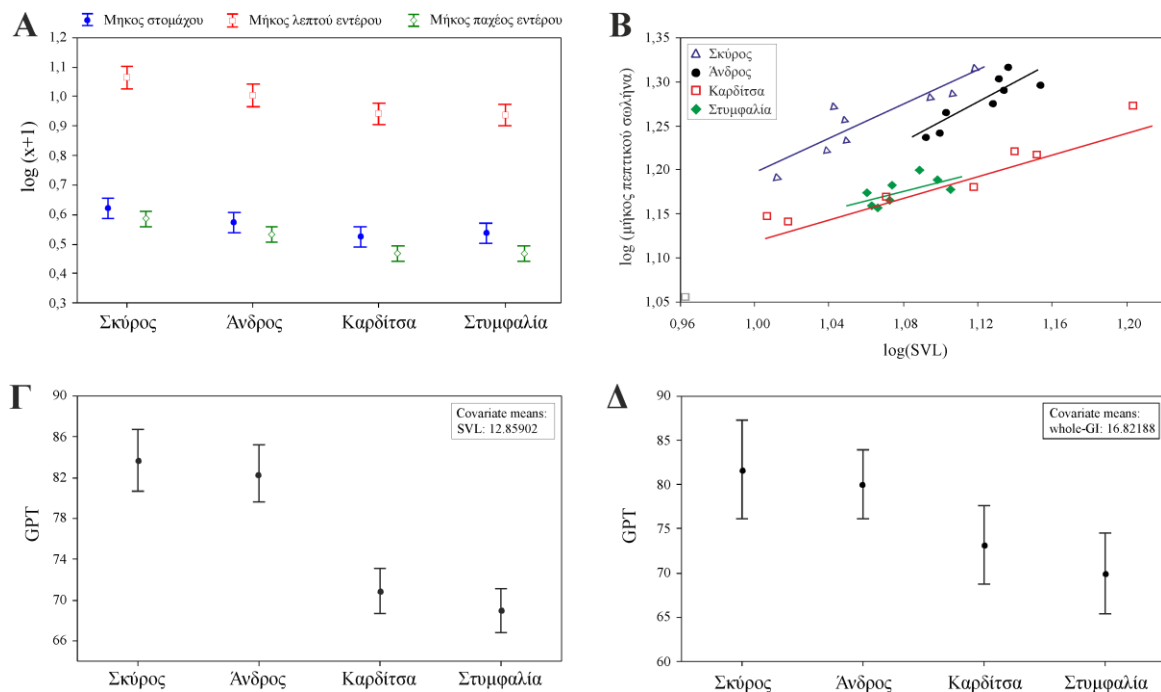
Οι διαστάσεις του γαστρεντερικού σωλήνα φάνηκε να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των τεσσάρων υπό μελέτη πληθυσμών (Άνδρος, Σκύρος, Στυμφαλία, Καρδίτσα) (MANOVA, Wilks lambda = 0,301, $F_{9,63.428} = 4,49$, $P < 0,01$). Συγκεκριμένα, οι δύο νησιωτικοί πληθυσμοί είχαν πιο μακρύ λεπτό και παχύ έντερο, σε σχέση με τους πληθυσμούς της ηπειρωτικής χώρας (ANOVA: λεπτό έντερο: $F_{3,24} = 10,85$, $P < 0,01$, παχύ έντερο: $F_{3,24} = 20,33$, $P < 0,01$), ενώ όσον αφορά το μήκος του στομάχου ήταν σημαντικά μεγαλύτερο μόνο στην περίπτωση του πληθυσμού της Σκύρου (ANOVA, $F_{3,24} = 5,66$, $P < 0,01$). Λόγω της επίδρασης του SVL στις διαστάσεις του πεπτικού σωλήνα, οι παραπάνω αναλύσεις επαναλήφθηκαν, με τη χρησιμοποίηση του τελευταίου μεγέθους ως συμμεταβλητή (δηλαδή χρήση της ANCOVA). Η ανάλυση ANCOVA έδειξε σημαντικές διαφορές στο μήκος και για τα τρία τμήματα του γαστρεντερικού σωλήνα, με τις νησιωτικές σαύρες να έχουν σημαντικά μακρύτερο στομάχι, λεπτό και παχύ έντερο, σε σύγκριση με εκείνες της χέρσου (ANCOVA: στομάχι: $F_{3,23} = 4,37$, $P < 0,05$, λεπτό έντερο: $F_{3,23} = 10,26$, $P < 0,01$, παχύ έντερο: $F_{3,23} = 15,27$, $P < 0,01$, **πίνακας 3.8** και **εικόνα 3.14 A**). Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώθηκαν και από την ανάλυση παλινδρόμησης, καθώς παρατηρήθηκε ότι οι νησιωτικές σαύρες εμφανίζουν μεγαλύτερο μέγεθος εντέρου σε συνάρτηση με το μήκος σώματος, σε σχέση με τις ηπειρωτικές ($t = 4,03$, $df = 28$, $P < 0,001$) (**εικόνα 3.14 B**).

Ο στατιστικός έλεγχος χ^2 έδειξε ότι η μορφολογία της πεπτικής οδού αποκλίνει σημαντικά, μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών σαυρών, με τις σαύρες από τα νησιά να παρουσιάζουν σαφώς μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης τυφλικών βαλβίδων (**εικόνα 3.5**) σε σύγκριση με εκείνες των περιοχών της Καρδίτσας και της Στυμφαλίας (62% παρουσία στις νησιωτικές έναντι 19% στις ηπειρωτικές σαύρες, $\chi = 38,36$, $P < 0,05$).

3.3.13. Χρόνος διέλευσης της τροφής (gut passage time, GPT)

Υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των τεσσάρων πληθυσμών όσον αφορά το χρόνο διέλευσης της τροφής από το γαστρεντερικό σωλήνα (ANOVA, $F_{3,70} = 40.23$, $P < 0.001$). Η μετα-ανάλυση post-hoc Tukey HSD κατά ζεύγη, έδειξε ότι οι σαύρες από το ίδιο περιβάλλον παρουσιάζουν παρόμοιο GPT, ενώ σαύρες από διαφορετικά περιβάλλοντα αποκλίνουν μεταξύ τους. Συνεπώς, οι τέσσερις πληθυσμοί μπορούν να ομαδοποιηθούν σε

δύο μεγάλες ομάδες. Η πρώτη ομάδα αποτελείται από τους δύο νησιωτικούς πληθυσμούς (Άνδρος, Σκύρος) και χαρακτηρίζεται από αύξηση του χρόνου διέλευσης της τροφής από τον πεπτικό σωλήνα (της τάξης του 15%), ενώ η δεύτερη ομάδα περιλαμβάνει τους ηπειρωτικούς πληθυσμούς (Καρδίτσα, Στυμφαλία), που παρουσιάζουν ελάττωση του GPT (πίνακας 3.9). Όταν στην ανάλυση συμπεριελήφθη το μήκος σώματος (εικόνα 3.14 Γ) και το μήκος του πεπτικού σωλήνα (εικόνα 3.14 Δ), μεγέθη που επηρεάζουν άμεσα το GPT, οι διαφορές αυτές παρέμειναν (ANCOVA: SVL: $F_{3,69} = 32,58$, $P < 0,001$, μήκος πεπτικού σωλήνα: $F_{3,27} = 3,94$, $P < 0,05$), υποδηλώνοντας ότι το μέγεθος σώματος δεν επαρκεί για να εξηγήσει τις παρατηρούμενες διαφορές του GPT. Οι ίδιες αποκλίσεις στο GPT μεταξύ των τεσσάρων πληθυσμών διατηρήθηκαν και όταν στις αναλύσεις λήφθηκαν υπ' όψιν οι φυλογενετικές τους σχέσεις (ANCOVA, $F = 54,40$, $P < 0,05$).



Εικόνα 3.14. Α) Σχηματική απεικόνιση των διαφορών του μήκους του γαστρεντερικού σωλήνα στα τρία επιμέρους τμήματά που εξετάστηκαν (στομάχι, λεπτό και παχύ έντερο), με βάση την ανάλυση ANCOVA, χρησιμοποιώντας το μήκος σώματος του ζώου (SVL) ως συμμεταβλητή. Β) Σχέση μήκους σώματος (SVL) και μήκους γαστρεντερικού σωλήνα για τους τέσσερις πληθυσμούς μελέτης. Παρατηρούμε ότι οι κλίσεις της καμπύλης για τις νησιωτικές σαύρες (Άνδρος: $y = 0,36 + 1,21x$, Σκύρος: $y = 0,61 + 93x$, Καρδίτσα: $y = 0,38 + 0,63x$ και Στυμφαλία: $y = 0,60 + 0,53x$) είναι μεγαλύτερες από ό,τι εκείνες των σαυρών της χέρσου, μια ένδειξη της ταχύτερης αύξησης που παρουσιάζουν στο μήκος του πεπτικού σωλήνα οι πρώτες. Γ) Διαφορές του χρόνου διέλευσης της τροφής, λαμβάνοντας υπ' όψιν το μήκος σώματος του ζώου και Δ) Διαφορές του χρόνου διέλευσης της τροφής λαμβάνοντας υπ' όψιν το μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα του ζώου. Ο χρόνος διέλευσης της τροφής δίνεται σε ώρες.

Πίνακας 3.8. Περιγραφική στατιστική για το μήκος σώματος (snout to vent length, SVL) και το μήκος πεπτικού σωλήνα για τα τρία επιμέρους τμήματά (στομάχι, λεπτό και παχύ έντερο) που εξετάσθηκαν. Οι τιμές δίνονται σε εκατοστά. Για κάθε μεταβλητή αναγράφεται η μέση τιμή $\pm$ 1 SD (τυπικό σφάλμα), το μέγεθος δείγματος (N), καθώς και η ελάχιστη – μέγιστη τιμή.

Χαρακτήρας	Σκύρος (Σκ)	Άνδρος (Α)	Καρδίτσα (Κ)	Στυμφαλία (Στ)	F	P	Ομαδοποίηση
SVL	13,75 $\pm$ 2,13; (14) 8,70 – 15,30	12,73 $\pm$ 1,54; (14) 10,36 – 16,06	12,73 $\pm$ 1,51; (22) 10,67 – 16,20	12,15 $\pm$ 1,88; (24) 9,18 – 17,40	$F_{3,70} = 2,44$	0,07	{Σκ,Α,Κ,Στ}
Βάρος (mg)	77,93 $\pm$ 17,04; (14) 38,55 – 105,30	61,09 $\pm$ 23,12; (14) 34,77 – 116,79	63,09 $\pm$ 28,90; (22) 29,00 – 137,93	56,02 $\pm$ 18,95; (24) 30,78 – 115,00	$F_{3,70} = 4,14$	0,009	{Σκ,Α,Κ} {Α,Κ,Στ}
Μήκος στομάχου	4,19 $\pm$ 0,59; (7) 3,30 – 4,90	3,59 $\pm$ 0,32; (7) 3,20 – 4,10	3,41 $\pm$ 0,42; (7) 2,80 – 4,10	3,40 $\pm$ 0,24; (7) 3,00 – 3,60	$F_{3,23} = 4,37$	0,014	{Σκ,Α} {Κ,Στ}
Μήκος λεπτού εντέρου	11,51 $\pm$ 1,11; (7) 9,90 – 13,10	10,01 $\pm$ 0,98; (7) 8,80 – 11,40	8,87 $\pm$ 1,65; (7) 6,10 – 11,40	8,63 $\pm$ 0,32; (7) 8,20 – 9,10	$F_{3,23} = 10,26$	<0,001	{Σκ,Α} {Κ,Στ}
Μήκος παχέος εντέρου	3,84 $\pm$ 0,21; (7) 3,50 – 4,10	3,44 $\pm$ 0,28; (7) 2,90 – 3,80	2,95 $\pm$ 0,27; (7) 2,30 – 3,30	2,96 $\pm$ 0,17; (7) 2,70 – 3,20	$F_{3,23} = 15,27$	<0,001	{Σκ,Α} {Κ,Στ}

Οι τιμές F και P για τις μεταβλητές SVL και βάρος, υπολογίστηκαν πραγματοποιώντας ανάλυση one-way ANOVA. Από την άλλη μεριά, στην περίπτωση των διαστάσεων του γαστρεντερικού σωλήνα οι αντίστοιχες τιμές υπολογίστηκαν με τη χρήση της ανάλυσης one-way ANCOVA, χρησιμοποιώντας το μέγεθος $\log_{10}(SVL)$ ως συμμεταβλητή. Με έντονη γραμματοσειρά δίνονται οι τιμές για τις οποίες καταγράφηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των πληθυσμών ($P < 0.05$).

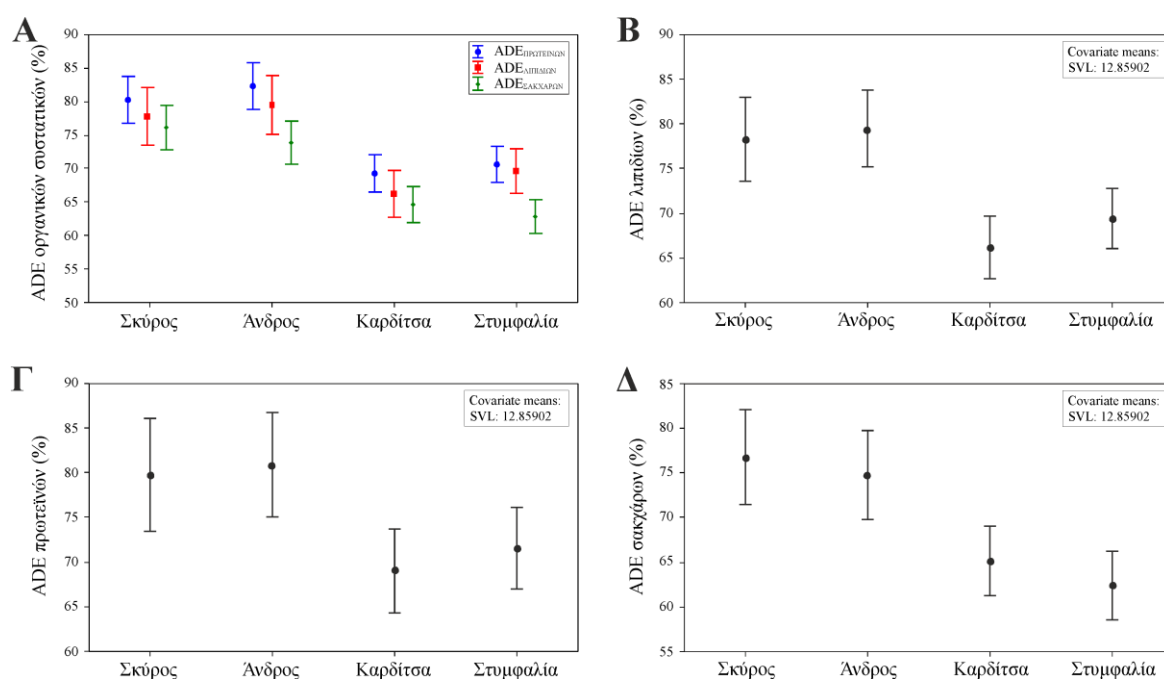
Πίνακας 3.9. Πεπτική αποδοτικότητα στους τέσσερις υπό μελέτη πληθυσμούς της *Lacerta trilineata*. Η δραστηριότητα των πεπτικών ενζύμων υπολογίστηκε σε σχέση με τον χρόνο και αποδίδεται σε μmoles υποστρώματος που διασπάσθηκε στη μονάδα του χρόνου, ανά γραμμάτιο ιστού ($\mu\text{mol} \times \text{gr}^{-1} \times \text{min}^{-1}$). Για κάθε μεταβλητή αναφέρονται η μέση τιμή $\pm$ 1 SD (τυπικό σφάλμα), το μέγεθος δείγματος (N), καθώς και η ελάχιστη – μέγιστη τιμή.

Χαρακτηρισ	Σκύρος (Σκ)	Άνδρος (Α)	Καρδίτσα (Κ)	Στυφαλία (Στ)	F	P	Ομαδοποίηση
GPT (ώρες)	85,71 $\pm$ 6,43; (14) 73 – 96	82,36 $\pm$ 7,00; (14) 70 – 94	70,55 $\pm$ 5,42; (22) 59 – 82	68,12 $\pm$ 4,62; (24) 62 – 79	F_{3,68} = 32,10	<0,001	{Σκ,Α} {Κ,Στ}
ADE πρωτεϊνών (%)	80,50 $\pm$ 7,29; (14) 67,92 – 83,02	82,57 $\pm$ 8,77; (14) 63,84 – 90,75	69,33 $\pm$ 6,28; (22) 55,77 – 80,50	70,66 $\pm$ 6,02; (24) 55,77 – 79,19	F_{3,67} = 3,71	0,021	{Σκ,Α} {Κ,Στ}
ADE λιπιδίων (%)	77,74 $\pm$ 4,62; (14) 68,20 – 83,50	79,48 $\pm$ 4,18; (14) 69,19 – 83,93	66,25 $\pm$ 10,89; (22) 44,31 – 78,67	69,64 $\pm$ 8,30; (24) 47,06 – 80,67	F_{3,67} = 3,07	0,03	{Σκ,Α} {Κ,Στ}
ADE σακχάρων (%)	76,52 $\pm$ 7,58; (14) 65,73 – 87,99	74,59 $\pm$ 6,29; (14) 66,11 – 85,04	65,40 $\pm$ 7,01; (22) 52,79 – 79,01	63,08 $\pm$ 6,16; (24) 50,62 – 73,56	F_{3,67} = 5,79	0,002	{Σκ,Α} {Κ,Στ}
Πεπτιδάσες Στομάχι	27,33 $\pm$ 1,54; (7) 25,70 – 29,61	29,61 $\pm$ 2,22; (7) 26,68 – 33,52	29,37 $\pm$ 2,94; (7) 26,19 – 34,99	27,12 $\pm$ 2,97; (7) 23,75 – 32,66	F _{3,24} = 2,42	0,09	{Σκ,Α,Κ,Στ}
Πεπτιδάσες Δωδεκαδάκτυλο	363,31 $\pm$ 5,98; (7) 357,03 – 373,16	356,11 $\pm$ 8,19; (7) 341,88 – 365,83	358,86 $\pm$ 3,95; (7) 351,17 – 364,36	365,64 $\pm$ 12,06; (7) 355,56 – 394,17	F _{3,24} = 2,39	0,09	{Σκ,Α,Κ,Στ}
Πεπτιδάσες Έντερο	3,50 $\pm$ 1,67; (7) 1,75 – 6,16	4,03 $\pm$ 1,25; (7) 1,76 – 5,31	3,73 $\pm$ 1,72; (7) 1,68 – 6,65	3,64 $\pm$ 2,12; (7) 1,16 – 7,62	F _{3,24} = 0,29	0,83	{Σκ,Α,Κ,Στ}
Γλυκοσιδάσες Στομάχι	2,00 $\pm$ 0,38; (7) 1,38 – 2,40	1,48 $\pm$ 0,68; (7) 0,28 – 2,14	1,85 $\pm$ 0,46; (7) 1,29 – 2,40	1,59 $\pm$ 0,47; (7) 0,83 – 2,31	F _{3,24} = 1,05	0,39	{Σκ,Α,Κ,Στ}
Γλυκοσιδάσες Δωδεκαδάκτυλο	92,32 $\pm$ 3,45; (7) 88,99 – 98,62	93,70 $\pm$ 3,61; (7) 88,35 – 100,62	95,99 $\pm$ 6,75; (7) 83,30 – 103,95	93,68 $\pm$ 9,60; (7) 85,95 – 110,57	F _{3,24} = 0,14	0,93	{Σκ,Α,Κ,Στ}
Γλυκοσιδάσες Έντερο	14,88 $\pm$ 1,44; (7) 12,15 – 16,34	14,09 $\pm$ 0,74; (7) 13,29 – 15,48	15,19 $\pm$ 1,02; (7) 13,45 – 16,71	14,81 $\pm$ 1,24; (7) 12,60 – 16,71	F _{3,24} = 1,45	0,25	{Σκ,Α,Κ,Στ}

ADE : φαινομενική πεπτική αποδοτικότητα, GPT : χρόνος διέλευσης τροφής. Όσον αφορά τις τιμές F και P, στην περίπτωση του GPT υπολογίστηκαν πραγματοποιώντας one-way MANCOVA με το βάρος και το μήκος σώματος ως συμμεταβλητές. Στην περίπτωση των ADEs οι αντίστοιχες τιμές υπολογίστηκαν λαμβάνοντας υπ' όψιν τα μεγέθη SVL, βάρος και GPT ως συμμεταβλητές (one-way MANCOVA). Τέλος, η δραστηριότητα των ενζύμων στα διαφορετικά τμήμα του γαστρεντερικού σωλήνα υπολογίστηκαν με τη χρήση της δοκιμασίας one-way ANOVA. Με έντονη γραμματοσειρά δίνονται οι τιμές για τις οποίες καταγράφηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των πληθυσμών ($P < 0.05$).

3.3.14. Φαινομενική πεπτική αποδοτικότητα και δραστικότητα των πεπτικών ενζύμων

Οι τιμές της φαινομενικής πεπτικής αποδοτικότητας, που καταγράφηκαν, ήταν μεγαλύτερες στους νησιωτικούς πληθυσμούς (MANOVA, Wilks lambda = 0,404, $F_{9,165.64} = 8,32$, $P < 0,01$, **πίνακας 3.9** και **εικόνα 3.15**) και για τα τρία οργανικά συστατικά (ANOVA: πρωτεΐνες: $F_{3,70} = 5,84$, $P < 0,01$, υδατάνθρακες: $F_{3,70} = 11,06$, $P < 0,01$, λιπίδια: $F_{3,70} = 10,73$, $P < 0,01$). Ωστόσο, δεν βρέθηκε καμία στατιστική διαφορά στις τιμές ADE των τριών θρεπτικών μακρομορίων, ανάμεσα σε πληθυσμούς του ίδιου περιβάλλοντος (νησιωτικό ή ηπειρωτικό, όλα τα $P > 0,05$). Όταν οι αναλύσεις επανελήφθησαν, λαμβανομένης υπ' όψιν της επίδρασης του μήκους και βάρους σώματος, καθώς επίσης και του χρόνου διέλευσης της τροφής, οι διαφορές στις τιμές ADE μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών σαυρών παρέμειναν (ANCOVA: πρωτεΐνες: $F_{3,67} = 3,71$, $P < 0,05$, υδατάνθρακες: $F_{3,67} = 3,07$, $P < 0,05$, λιπίδια: $F_{3,67} = 3,77$, $P < 0,05$, **εικόνα 3.15**).



Εικόνα 3.15. Α) Απεικόνιση των διαφορών της φαινομενικής πεπτικής αποδοτικότητας (ADE) μεταξύ των τεσσάρων πληθυσμών μελέτης, με τη χρήση της ανάλυσης MANCOVA, χρησιμοποιώντας τα μεγέθη μήκους σώματος και χρόνος διέλευσης της τροφής (GPT) από την πεπτική οδό ως συμμεταβλητές, Β-Δ) Σχηματική απεικόνιση των αποκλίσεων της φαινομενικής πεπτικής αποδοτικότητας για κάθε ένα οργανικό συστατικό ξεχωριστά, με τη χρήση της ανάλυσης ANCOVA και τις μεταβλητές μέγεθος σώματος και χρόνος διέλευσης της τροφής από την πεπτική οδό ως συμμεταβλητές. Οι τιμές είναι με βάσει τον πίνακα 3.9.

Ανάλογες διαφορές/σχέσεις στις ADE, μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών σαυρών, βρέθηκαν και ύστερα από τον έλεγχο ANCOVA, χρησιμοποιώντας τη φυλογενετική πληροφορία (εικόνα 3.6) (ANCOVA: πρωτεΐνες: $F = 50,46$, $P < 0,05$, υδατάνθρακες: $F = 31,42$, $P < 0,05$, λιπίδια: $F = 95,56$, $P < 0,05$, Bonferroni post-hoc).

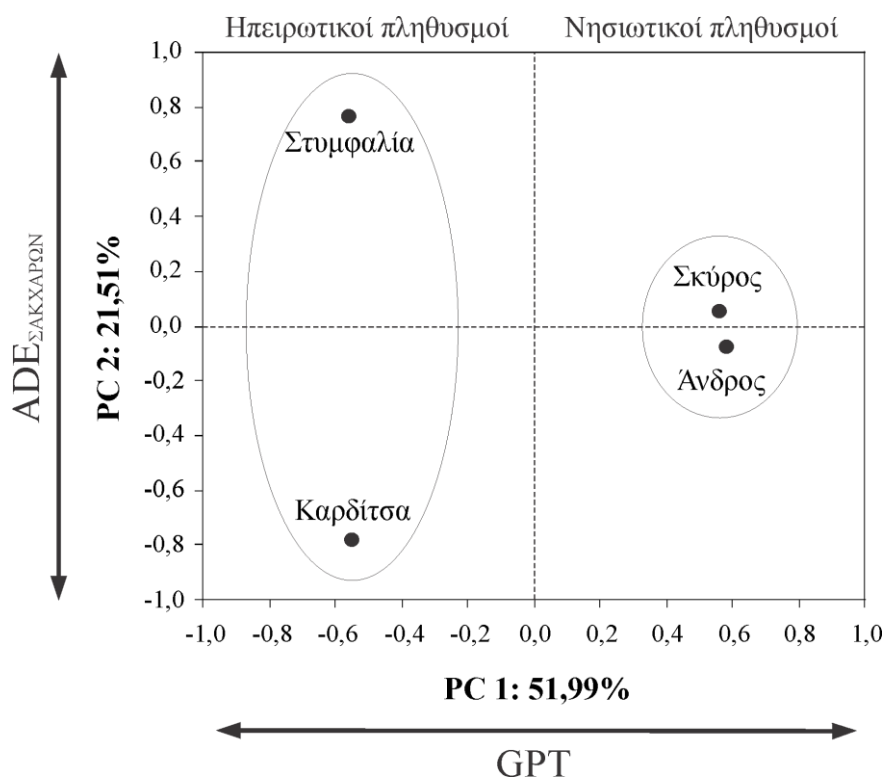
Η σύγκριση της δράσης των πεπτικών ενζύμων μεταξύ των εξεταζόμενων πληθυσμών, για τα τρία τμήματα της πεπτικής οδού που μελετήθηκαν, δεν έδειξε σημαντικές διαφορές (ANOVA: πεπτιδάσες: όλα τα $P > 0,05$, γλυκοσιδάσες: όλα τα $P > 0,05$, πίνακας 3.9). Όσον αφορά τη δραστικότητα των πεπτικών ενζύμων, κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα, παρατηρήσαμε πως η υδρόλυση των πρωτεϊνών εμφανίζεται σημαντικά αυξημένη στο δωδεκαδάκτυλο, ενώ στο στομάχι και στο έντερο η δραστικότητα των πεπτιδασών ήταν εξαιρετικά μικρή (ANOVA, $F_{2,81} = 45384,37$, $P < 0,05$). Ανάλογα ήταν τα αποτελέσματα και για την υδρόλυση του δισακχαρίτη μαλτόζη, όπου παρατηρήθηκε αυξημένη δραστικότητα των γλυκοσιδασών στο δωδεκαδάκτυλο και μειωμένη στο έντερο και στο στομάχι (ANOVA, $F_{2,81} = 6126,03$, $P < 0,05$) (πίνακας 3.9). Τέλος, αναφορικά με την υδρόλυση του δισακχαρίτη σουκρόζη, δεν παρατηρήθηκε κανένα αποτέλεσμα. Για το λόγο αυτό, τα δεδομένα από την υδρόλυση της σουκρόζης δεν παρουσιάζονται στους πίνακες.

Πίνακας 3.10. Ανάλυση κυρίων συνιστωσών με βάση τα μεγέθη χρόνος διέλευσης της τροφής και φαινομενική πεπτική αποδοτικότητα για τα τρία βασικά μακρομόρια (GPT και ADE) για τους τέσσερις υπό μελέτη πληθυσμούς της *Lacerta trilineata*. Α) Δίνεται το ποσοστό διακύμανσης που εξηγεί η κάθε συνιστώσα. Β) Με έντονη γραμματοσειρά φαίνονται οι μεταβλητές που συνεισφέρουν περισσότερο στη διαμόρφωση της κάθε συνιστώσας. Στην PCA δεν συμπεριελήφθησαν οι τιμές της δραστικότητας των πεπτικών ενζύμων, μια και το συγκεκριμένο πείραμα υλοποιήθηκε σε ένα υποσύνολο ατόμων από τον καθένα πληθυσμό.

A.	Συνιστώσα	Eigenvalues	% Variation	Cumulative %
	1	3,282	51,994	51,994
	2	1,691	21,511	73,505
	3	1,007	17,265	90,770
	4	0,695	9,229	100,000
B.		PC1	PC2	PC3
	GPT	0,5962	-0,0248	-0,2740
	ADE _{ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ}	0,4711	-0,0092	0,8804
	ADE _{ΛΙΠΙΔΙΑ}	0,4781	-0,6551	-0,2931
	ADE _{ΣΑΚΧΑΡΑ}	0,4402	0,7550	-0,2526

3.3.15. Συνδυαστική προσέγγιση - Ανάλυση κυρίων συνιστωσών (PCA)

Για τη διεξαγωγή της πολυπαραγοντικής ανάλυσης κυρίων συνιστωσών, χρησιμοποιήθηκαν οι τιμές της πεπτικής αποδοτικότητας, για τα τρία επιμέρους οργανικά συστατικά και ο χρόνος διέλευσης της τροφής. Η PCA φανέρωσε ότι οι δύο κύριες συνιστώσες (PC1 και PC2), που μπορούν να ερμηνεύσουν το 73,05% της διαφοροποίησης των δεδομένων (πίνακας 3.10 Α), είναι τα μεγέθη GPT (εξηγεί τον πρώτο άξονα συνιστωσών, PC1) και $ADE_{ΣΑΚΧΑΡΩΝ}$ (εξηγεί το δεύτερο άξονα, PC2) (πίνακας 3.10 Β). Με βάση την εικόνα 3.16, παρατηρούμε ότι οι νησιωτικοί πληθυσμοί (Άνδρος, Σκύρος) διαφέρουν από εκείνους της ηπειρωτικής Ελλάδας (Καρδίτσα, Στυμφαλία) κατά μήκος του PC1, ενώ, αντίθετα, οι πληθυσμοί από το ίδιο περιβάλλον (νησιωτικό ή ηπειρωτικό) ξεχωρίζουν με βάση τον PC2.



Εικόνα 3.16. Ομαδοποίηση των τεσσάρων πληθυσμών μελέτης ύστερα από την ανάλυση κυρίων συνιστωσών (PCA), βάσει των μεταβλητών του χρόνου διέλευσης της τροφής από την πεπτική οδό (GPT) και της φαινομενικής πεπτικής αποδοτικότητας (ADE) για τα τρία θρεπτικά συστατικά. Η πολυπαραγοντική ανάλυση κυρίων συνιστωσών φανέρωσε ότι οι δύο κύριες συνιστώσες που μπορούν να ερμηνεύσουν το 73,05% της διαφοροποίησης των δεδομένων είναι η μεταβλητή GPT (PC1) και η $ADE_{ΣΑΚΧΑΡΩΝ}$ (PC2) (αναλυτικά τα στοιχεία δίνονται στον πίνακα 3.10).

3.4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.4.1. Θερμική Βιολογία

Η σύγκριση των θερμικών παραμέτρων, μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών του είδους *L. trilineata*, εμφάνισε σημαντικές διαφορές ως προς τη στρατηγική θερμορρύθμισης που ακολουθείται από τις σαύρες στα διαφορετικά περιβάλλοντα. Αν και όλοι οι πληθυσμοί του είδους *L. trilineata* θερμορρυθμίζουν ενεργά στη φύση, όπως θα αναλυθεί στη συνέχεια, οι νησιωτικές σαύρες χαρακτηρίζονται από μικρότερη αποτελεσματικότητα, κατά τη διάρκεια των καλοκαιρινών μηνών (μικρότερες τιμές E). Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε καμιά διαφορά μεταξύ των θερμοκρασιών σώματος, που επιτυγχάνουν οι πληθυσμοί στο πεδίο. Όσον αφορά τις T_{set} , οι ηπειρωτικές σαύρες φαίνεται να επιλέγουν υψηλότερες θερμοκρασίες σώματος στο εργαστήριο από ό,τι οι σαύρες των νησιών. Το τελευταίο εύρημα, σε συνδυασμό με το περισσότερο αφιλόξενο περιβάλλον της ηπειρωτικής χώρας, υποστηρίζει την «μεταβαλλόμενη» άποψη για την εξέλιξη της θερμικής φυσιολογίας του είδους *L. trilineata*. Φαίνεται δηλαδή, ότι οι πληθυσμοί της *L. trilineata* είναι σε θέση να προσαρμόζονται στις αλλαγές του περιβάλλοντος, μεταβάλλοντας τις επιλεγόμενες θερμοκρασίες (T_{pref}) σώματος («labile» view), με άλλα λόγια τη θερμική φυσιολογία τους (Hertz & Huey 1981).

Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι η θερμική συμπεριφορά των εξώθερμων οργανισμών επηρεάζεται από τα χαρακτηριστικά του φυσικού περιβάλλοντος (Hertz και συν. 1993). Αυτός ήταν και ο λόγος που δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή, ώστε οι τέσσερις υπό μελέτη βιότοποι να είναι όσο το δυνατόν παρόμοιοι ως προς τη βλάστηση, τη γεωλογία και τη μορφολογία τους, καθότι οι παράγοντες αυτοί μπορούν να μεταβάλλουν το θερμικό προφίλ μιας περιοχής (Sagonas και συν. 2013, Vitt και συν. 1998), με αποτέλεσμα να υπεισέλθουν σφάλματα στις αναλύσεις που θα επηρεάσουν την έκβαση των αποτελεσμάτων μας. Επιπλέον, θα πρέπει να τονιστεί ότι ούτε οι φυλογενετικές σχέσεις των πληθυσμών δεν φάνηκε να ευθύνονται για τις διαφορές που παρουσιάζουν οι πληθυσμοί μεταξύ τους ως προς την στρατηγική θερμορρύθμισης. Συνεπώς, τα αποτελέσματά μας θα πρέπει να αποδοθούν αποκλειστικά στις ιδιαιτερότητες που παρουσιάζουν τα νησιωτικά περιβάλλοντα και στις συνθήκες που επικρατούν σε αυτά, τόσο περιβαλλοντικές (π.χ. μικρή ημερήσια και ετήσια διακύμανση της θερμοκρασίας) όσο και οικολογικές (π.χ. μειωμένη θηρευτική πίεση).

Η πρώτη υπόθεση εργασίας, που υποστηρίζει ότι το θερμικό περιβάλλον στα νησιά είναι περισσότερο ευνοϊκό, επιβεβαιώθηκε από τα δεδομένα μας, μιας και οι τιμές των λειτουργικών θερμοκρασιών ήταν κοντά στις T_b των σαυρών. Αντίθετα, στην ηπειρωτική χώρα, λόγω των μεγάλων ημερήσιων διακυμάνσεων και των πιο ακραίων θερμοκρασιών, οι λειτουργικές θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού ήταν σημαντικά υψηλότερες (πίνακας 3.1 και εικόνα 3.7). Σύμφωνα με τους Hertz και συν. (1993), μια μέση τιμή $\overline{d_e}$ ίση με μηδέν περιγράφει ένα θερμικά ιδανικό βιότοπο, στον οποίο μια σαύρα θα μπορούσε να επιτυγχάνει πάντα θερμοκρασίες σώματος (T_b) εντός του εύρους των επιλεγόμενων θερμοκρασιών (T_{set}). Αντίθετα, μια μέση τιμή $\overline{d_e}$ κοντά στη μονάδα, χαρακτηρίζει έναν βιότοπο μικρότερης θερμικής αξίας. Στην παρούσα μελέτη, η τιμή $\overline{d_e}$ ήταν σημαντικά μικρότερη στις νησιωτικές περιοχές (3,2°C έναντι 5,6°C) (πίνακας 3.1), πράγμα που συνηγορεί με το γεγονός, ότι τα οικοσυστήματα τους είναι υψηλότερης θερμικής αξίας, σε σχέση με τα θερμικά φτωχότερα περιβάλλοντα της ηπειρωτικής χώρας. Γενικά, στα Μεσογειακού τύπου οικοσυστήματα, οι ηπειρωτικές περιοχές παρουσιάζουν πιο δριμύς κλιματικές συνθήκες, αντιμετωπίζοντας μεγάλες ημερήσιες και ετήσιες διακυμάνσεις της θερμοκρασίας, κάτι που δεν συμβαίνει στο πιο ξηρό και πιο σταθερό κλίμα των Μεσογειακών νησιών (Kotini-Zabaka 1983, Whittaker & Fernández-Palacios 2007).

Η σύγκριση του μικροκλίματος των έξι διαφορετικών τύπων μικροενδιαιτήματος, έδειξε ότι ο τύπος υποστρώματος δεν επηρεάζει σημαντικά τις λειτουργικές θερμοκρασίες. Ως εκ τούτου, η ακόλουθη συζήτηση θα επικεντρωθεί αποκλειστικά στο ποσοστό έκθεσης των μοντέλων στον ήλιο. Από τις τρεις, συνολικά, διαφορετικές καταστάσεις φωτισμού, που χαρακτηρίστηκαν στο πεδίο (πλήρης έκθεση, μέτρια έκθεση και σκοτάδι) και στις οποίες τοποθετήθηκαν τα μοντέλα, μόνο στις θέσεις με μέτρια έκθεση στον ήλιο φάνηκε να επιτυγχάνονται κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας για τις σαύρες των νησιωτικών και ηπειρωτικών βιοτόπων. Οι καταγραφές των μοντέλων που τοποθετήθηκαν στο σκοτάδι, έδειξαν ότι T_{es} , εντός των ορίων των T_{pref} , μπορούν να επιτευχθούν μόνο για σύντομο χρονικό διάστημα, κατά τη διάρκεια της ημέρας, ενώ οι T_{es} των μοντέλων, που είχαν τοποθετηθεί σε θέσεις πλήρους έκθεσης στον ήλιο, ήταν κατά κανόνα υψηλότερες και εκτός των ορίων των T_{pref} των σαυρών ανεξαρτήτως περιβάλλοντος (πίνακας 3.2). Επομένως, οι σαύρες, και ειδικότερα αυτές της ηπειρωτικής Ελλάδας (Καρδίτσα, Στυμφαλία), όπου οι τιμές T_e είναι μεγαλύτερες (νησιά: 36°C, ηπειρωτικές περιοχές: 39°C), πρέπει να θερμορρυθμίζουν πιο ενεργά, με κατάλληλες στρατηγικές συμπεριφοράς,

μετακινούμενες συνεχώς από το ένα μικροενδιαίτημα στο επόμενο, κατά τη διάρκεια της ημέρας, προκειμένου να διατηρούν τη θερμοκρασία του σώματός τους κοντά στις T_{pref} τους (Grbac & Bauwens 2001). Ανάλογη συμπεριφορά έχει παρατηρηθεί και σε αρκετά άλλα είδη ερπετών, όπως στο φίδι *Lampropeltis triangulum* (Row & Blouin-Demers 2006), στις σαύρες *Carlia rostralis* (Vickers και συν. 2011) και *Uta stansburiana* (Sartorius και συν. 2002), κ.α., όπου τα ζώα αλλάζουν το πρότυπο δραστηριότητας τους και τον χρόνο που παραμένουν ενεργά σε περιοχές μικρής θερμικής αξίας.

Η δεύτερη υπόθεση εργασίας, που δηλώνει την καλύτερη αποτελεσματικότητα της θερμορρύθμισης των ηπειρωτικών σαυρών, επιβεβαιώθηκε επίσης. Αν και όλοι οι πληθυσμοί του είδους έχουν υιοθετήσει τη στρατηγική της ενεργούς θερμορρύθμισης, οι ηπειρωτικές σαύρες εμφανίζουν υψηλότερες τιμές E (0,72) από ό,τι οι συγγενικοί τους νησιωτικοί πληθυσμοί (0,64). Όταν η τιμή $\overline{d_b}$ είναι μικρότερη της $\overline{d_e}$, τότε το E τείνει να προσεγγίζει τη μονάδα (Hertz και συν. 1993). Οι ηπειρωτικές σαύρες, ζώντας σε ένα περισσότερο απαιτητικό περιβάλλον, αναγκάζονται να θερμορρυθμίζουν πιο αποτελεσματικά, προκειμένου να επιτύχουν θερμοκρασίες σώματος όσο το δυνατόν πλησιέστερα των T_{set} , με αποτέλεσμα η τιμή E να είναι πιο κοντά στη μονάδα.

Η δεύτερη προσέγγιση, που εφαρμόστηκε για την αξιολόγηση της στρατηγικής θερμορρύθμισης που ακολουθείται από τους πληθυσμούς των διαφορετικών περιβαλλόντων (βλ. Blouin-Demers & Weatherhead 2001), επιβεβαίωσε για άλλη μια φορά τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα που επιτυγχάνουν οι ηπειρωτικές σαύρες. Οι θετικές τιμές του δείκτη $\overline{d_e} - \overline{d_b}$, που βρέθηκαν τόσο για τις νησιωτικές (2,04) όσο και ηπειρωτικές (4,04) σαύρες, υποδηλώνουν ότι και οι δύο πληθυσμοί είναι ικανοί να θερμορρυθμίζουν ενεργά. Ωστόσο, η τιμή του δείκτη αυτού είναι διπλάσια στις ηπειρωτικές σε σύγκριση με τις νησιωτικές σαύρες. Με βάση τον ορισμό των Blouin-Demers και Weatherhead (2001), μεγαλύτερη θετική διαφορά του δείκτη $\overline{d_e} - \overline{d_b}$ ισοδυναμεί με αποτελεσματικότερη θερμορρύθμιση. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ξεκάθαρα την έκταση της ενεργούς θερμορρύθμισης που πραγματοποιούν οι ηπειρωτικές σαύρες, στοιχείο που αν η υπολογιστική αυτή μέθοδος δεν χρησιμοποιούταν θα αποκρυπτόταν από τη μικρή διαφορά των τιμών E . Αξίζει πάντως να σημειωθεί, ότι και οι Hertz και συν. (1993) είχαν επίσης αναγνωρίσει την τάση της εξίσωσης, που οι ίδιοι πρότειναν, να αποκρύπτει στοιχεία και για τον λόγο αυτόν είχαν προτείνει, εκτός των άλλων, και την απευθείας σύγκριση των τιμών $\overline{d_b}$ και $\overline{d_e}$ παράλληλα με την E . Με τον

τρόπο αυτό επιτυγχάνεται η πλήρης κατανόηση του προτύπου θερμορρύθμισης, που ακολουθεί ένα εξώθερμο ζώο σε ένα συγκεκριμένο περιβάλλον.

Η μέση θερμοκρασία σώματος που καταγράφηκε στο εργαστήριο, υπό συνθήκες κλίσης θερμοκρασίας, διαφέρει από εκείνη που καταγράφηκε στο πεδίο. Αυτή η διαφορετική θερμοκρασία σώματος, που παρουσιάζει το είδος στο πεδίο και στο εργαστήριο, μπορεί να αποδοθεί σε οικολογικούς και ενεργειακούς περιορισμούς, που δεν επιτρέπουν στο είδος την ακριβή θερμορρύθμιση στο πεδίο, εξαιτίας του κόστους που εκείνη απαιτεί (Huey & Slatkin 1976). Παρόμοια συμπεριφορά έχει καταγραφεί σε πολλά άλλα Lacertidae όπως η *Podarcis peloponessiacus* (Μαραγκού 1997, Παφίλης 2003), η *P. gaigeae* (Sagonas και συν. 2013) και *L. vivipara* (Van Damme και συν. 1990b), όπου τα ζώα στο εργαστήριο επιλέγουν θερμοκρασίες σώματος διαφορετικές από εκείνες που επιτυγχάνουν στη φύση.

Όσον αφορά το επιλεγόμενο εύρος θερμοκρασιών (T_{set}), η σύγκριση μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών σαυρών κατέδειξε επίσης σημαντικές διαφορές. Σύμφωνα με τους Castilla και συν. (1999), δύο διαφορετικές απόψεις επικρατούν, σχετικά με την εξέλιξη της θερμικής φυσιολογίας στις σαύρες. Η πρώτη υποστηρίζει πως τα χαρακτηριστικά, που σχετίζονται με τη θερμική φυσιολογία των σαυρών, εμφανίζουν εξελικτική συντηρητικότητα, δηλαδή ανταποκρίνονται αργά στην κατευθύνουσα επιλογή. Αντίθετα, η δεύτερη υποστηρίζει ότι τα χαρακτηριστικά αυτά ανταποκρίνονται άμεσα στις κλιματικές μεταβολές και διαφοροποιούνται. Ιδιαίτερα, όσον αφορά τα Lacertidae, κυριαρχεί η άποψη ότι η θερμική φυσιολογία τους εμφανίζει μεγάλη συντηρητικότητα, γεγονός που εντοπίζεται στη σταθερότητα και στην ομοιογένεια των επιλεγόμενων θερμοκρασιών (Carretero και συν. 2005, Gvozdik & Castilla 2001, Van Damme και συν. 1990a, Van Damme και συν. 1990b). Βέβαια, είναι γενικά αποδεκτό ότι οι T_{set} μπορούν να μεταβάλλονται με την εποχή, το φύλο, την ηλικία, την αναπαραγωγική κατάσταση και το μέγεθος του σώματος (Andrews και συν. 1999, Carretero και συν. 2005, Sagonas και συν. 2013, Veríssimo & Carretero 2009). Ωστόσο, σε αντίθεση με τις παραπάνω εργασίες, στην παρούσα μελέτη παρατηρήσαμε ότι οι ηπειρωτικοί πληθυσμοί της *L. trilineata*, επιλέγουν υψηλότερες θερμοκρασίες σώματος στο εργαστήριο, υπό συνθήκες κλίσης θερμοκρασίας, από ό,τι οι νησιωτικές, δείχνοντας την προτίμησή τους για υψηλότερα θερμικά βέλτιστα των φυσιολογικών τους λειτουργιών (Clusella Trullas και συν. 2007) (**πίνακας 3.1**). Συνεπώς, φαίνεται ότι και ο νησιωτισμός μπορεί να επηρεάσει τις επιλεγόμενες θερμοκρασίες ενός είδους. Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με τα ευρήματα μιας προηγούμενης μελέτης των Scheer και Van Damme (2002), που

υποστήριξαν ότι ανάμεσα στα συμπατρία είδη *L. oxycephala* και *P. melisellensis*, η αξιοποίηση διαφορετικών μικροενδιαιτημάτων έχει οδηγήσει σε διαφοροποίηση των επιλεγόμενων θερμοκρασιών τους, υποστηρίζοντας με άλλα λόγια τη «μεταβαλλόμενη» άποψη της θερμικής φυσιολογίας. Συνεπώς, με βάση την τελευταία μελέτη, οι T_{set} μπορούν να αλλάζουν, ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες, που επικρατούν σε έναν βιότοπο και ανάλογα με την χρήση του ενδιαιτήματος. Ωστόσο, στην εργασία αυτή, οι ερευνητές μελέτησαν δύο διαφορετικά είδη σαυρών, με αποτέλεσμα στα αποτελέσματά τους να υπεισέρχονται σφάλματα τύπου I, λόγω των φυλογενετικών σχέσεων των ειδών (Garland και συν. 2005, Grafen 1989, Purvis και συν. 1994).

Οι θερμοκρασίες σώματος, που οι σαύρες επιτύγχαναν στο πεδίο, δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών. Παρ' όλες τις διαφορές, που καταγράφηκαν στην ποιότητα του θερμικού περιβάλλοντος ($\overline{d_e}$) μεταξύ των δύο περιβαλλόντων και παρά την προτίμηση των ηπειρωτικών σαυρών για υψηλότερες θερμοκρασίες σώματος στο εργαστήριο (T_{pref}) και οι δύο πληθυσμοί φάνηκε να επιτυγχάνουν παρόμοιες θερμοκρασίες σώματος στο φυσικό τους περιβάλλον (πίνακας 3.1). Ωστόσο, αναφορικά με τις T_{set} και T_e , θα αναμέναμε οι T_b s των ηπειρωτικών σαυρών να είναι επίσης υψηλότερες σε σύγκριση με εκείνες που επιτυγχάνουν οι νησιωτικές σαύρες, δεδομένου ότι ζώα, που διαβιούν σε θερμότερα ενδιαιτήματα και επιλέγουν υψηλότερες θερμοκρασίες σώματος στο εργαστήριο, θα έπρεπε επίσης να επιτυγχάνουν υψηλότερες θερμοκρασίες σώματος και στο πεδίο. Ένας πιθανός λόγος για αυτή την έλλειψη συνάφειας, είναι ο κίνδυνος της θήρευσης, θήρευσης, που συχνά καταγράφεται στους ηπειρωτικούς πληθυσμούς μικρών ζώων, όπως είναι οι σαύρες, που δικαιολογείται από την αυξημένη θηρευτική πίεση που εντοπίζεται στα ηπειρωτικά ενδιαιτήματα, αποτρέποντας τα εξώθερμα ζώα από το να θερμορρυθμίζουν αποτελεσματικά (Case 1982, Crowder & Magnuson 1983).

Οι νησιωτικές σαύρες, ειδικότερα στα Μεσογειακά οικοσυστήματα, υπόκεινται σε μικρότερη θήρευση από ό,τι οι ηπειρωτικές (Pafilis και συν. 2008, Pérez-Mellado και συν. 1997), καθώς τα φίδια, που αποτελούν τους βασικούς θηρευτές των σαυρών (Pafilis και συν. 2009a), αλλά και πολλά είδη πουλιών, δεν εντοπίζονται σε όλα τα νησιά του Αιγαίου (Valakos και συν. 2008, Watson 1964). Συγκεκριμένα, όσον αφορά τα νησιά Άνδρος και Σκύρος που μελετήθηκαν, αυτά στερούνται θηρευτών όπως το *Malpolon monspesulanus* και η *Vipera amodytes*, αντίστοιχα (Valakos και συν. 2008). Επιπλέον, αρπακτικά θηλαστικά όπως η κόκκινη αλεπού (*Vulpes vulpes*), το αγριογούρουνο (*Sus scrofa*) καθώς

και ο λαγόγυρος (*Spermophilus citellus*), που έχουν καταγραφεί να επιτίθενται στη σαύρα *L. trilineata* (Koshev 2010), απουσιάζουν από τα νησιά αυτά. Συνεπώς, οι νησιωτικοί πληθυσμοί της *L. trilineata* επηρεάζονται σε μικρότερο βαθμό από τη θηρευτική πίεση, όταν θερμορρυθμίζουν (Meiri και συν. 2013), ενώ οι αντίστοιχοι ηπειρωτικοί πρέπει να αντιμετωπίσουν ένα πιο έντονο θηρευτικό περιβάλλον. Σαν αποτέλεσμα, στην προσπάθειά τους να αποφύγουν πιθανούς θηρευτές, οι ηπειρωτικές σαύρες δεν μπορούν να θερμορρυθμίσουν στα θερμικά τους βέλτιστα (Case 1982). Θεωρούμε, ότι αυτός είναι και ο λόγος της παρατηρούμενης ομοιότητας μεταξύ των θερμοκρασιών σώματος, που επιτυγχάνουν οι διαφορετικοί αυτοί πληθυσμοί στη φύση. Βέβαια, πρέπει να τονιστεί, ότι από τη στιγμή που τα νησιωτικά περιβάλλοντα διαφέρουν με ποικίλους τρόπους από τα αντίστοιχα ηπειρωτικά (όπως η αυξημένη πυκνότητα πληθυσμών, η μείωση του ανταγωνισμού, οι διαφορετικές αναπαραγωγικές στρατηγικές), γίνεται κατανοητό ότι οι παρατηρούμενες διαφορές θα μπορούσαν να οφείλονται και σε κάποιον άλλο παράγοντα, εκτός από τη θήρευση.

Όσον αφορά τη τελευταία μεταβλητή που υπολογίστηκε, την $\overline{d_b}$, παρατηρήθηκε ότι η μέση απόκλιση της θερμοκρασίας σώματος από τις T_{set} δεν διαφέρει σημαντικά μεταξύ των δύο πληθυσμών. Η $\overline{d_b}$ είναι δείκτης του πόσο κοντά οι T_b s βρίσκονται στις T_{set} και καθορίζει την ακρίβεια της θερμορρυθμίστησης (Hertz και συν. 1993). Ψηλές τιμές $\overline{d_b}$ συνεπάγονται μικρή ακρίβεια, ενώ χαμηλές τιμές υποδηλώνουν μεγάλη ακρίβεια θερμορρυθμίστησης. Στη παρούσα μελέτη είδαμε ότι τόσο οι ηπειρωτικές όσο και νησιωτικές σαύρες φέρουν χαμηλές τιμές $\overline{d_b}$ (1,54°C έναντι 1,17°C αντίστοιχα, **πίνακας 3.1**), που συνεπάγεται ότι και οι δύο πληθυσμοί θερμορρυθμίζουν με την ίδια ακρίβεια, εφόσον οι θερμοκρασίες σώματος πεδίου βρίσκονταν σχεδόν πάντα μέσα στην περιοχή των επιλεγόμενων θερμοκρασιών (**εικόνα 3.7**). Ωστόσο, όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, η $\overline{d_e}$ στα νησιά είναι αρκετά μικρότερη (3,2°C, ευνοϊκό περιβάλλον) από ό,τι στις ηπειρωτικές περιοχές (5,6°C). Έτσι, ακόμα και αν οι νησιωτικοί πληθυσμοί της *L. trilineata* δε θερμορρυθμίζουν με την ίδια ακρίβεια, όπως οι ηπειρωτικοί, θα μπορούσαν να φέρουν θερμοκρασίες σώματος κοντά στις επιλεγόμενες. Για τον λόγο αυτό, έχει διατυπωθεί η άποψη ότι, σε «ευνοϊκού» τύπου ενδιαιτήματα, η φαινομενική ακριβής θερμορρυθμίστη ενός είδους σχετίζεται τόσο με το χαμηλό κόστος, που απαιτείται για την αύξηση της θερμοκρασίας σώματος (όχι ακραίες τιμές θερμοκρασιών και άφθονες θέσεις θερμορρυθμίστησης), όσο και με την ανάγκη της αποφυγής των υψηλών θερμοκρασιών. Αυτό υποδηλώνει ότι στην πράξη το ζώο δε θερμορρυθμίζει με τόση ακρίβεια, παρότι έτσι

μπορεί να φαίνεται (Huey 1974), γεγονός που επιβεβαιώνεται και από τις διαφορές που βρέθηκαν στην αποτελεσματικότητα της θερμορρύθμισης μεταξύ των πληθυσμών από τα διαφορετικά περιβάλλοντα.

Συνοψίζοντας, φαίνεται ότι η μεταβολή που παρατηρήθηκε στη θερμική βιολογία ανάμεσα σε διακριτούς πληθυσμούς της *L. trilineata* είναι το αποτέλεσμα της επίδρασης του νησιωτισμού και όχι της εξελικτικής ιστορίας αυτών. Οι νησιωτικές σαύρες φάνηκε να θερμορρυθμίζουν λιγότερο αποτελεσματικά, λόγω του πιο ευνοϊκού, από άποψη θερμικής ποιότητας, περιβάλλοντος αλλά και να επιλέγουν χαμηλότερες θερμοκρασίες σώματος στο εργαστήριο. Εξαιτίας της μικρότερης θερμοκρασιακής διακύμανσης (ετήσιας και ημερήσιας), τα εξώθερμα ζώα στα νησιά μπορεί να διαθέτουν περισσότερο χρόνο σε άλλες λειτουργίες, όπως αναπαραγωγή, αναζήτηση τροφής, κ.α. (Case 1982, Díaz 1994, Huey & Slatkin 1976). Αντίθετα, οι σαύρες των ηπειρωτικών περιοχών έδειξαν ένα διαφορετικό πρότυπο θερμορρύθμισης, θερμορρυθμίζοντας αποτελεσματικότερα, εξαιτίας του περισσότερο απαιτητικού, από άποψη θερμικής ποιότητας, περιβάλλοντος, που αντιμετωπίζουν (ακραίες θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια της ημέρας). Υπ' αυτές τις συνθήκες, μια πιο αποτελεσματική και ακριβής θερμορρύθμιση αποτελεί προϋπόθεση για ένα εξώθερμο ζώο, προκειμένου να λειτουργεί στο βέλτιστο τις φυσιολογικές του διεργασίες και να αποφεύγει τη μειωμένη αρμοστικότητα στο περιβάλλον (Bartholomew 1982, Blouin-Demers & Nadeau 2005, Blouin-Demers & Weatherhead 2002). Ωστόσο, η έντονη θηρευτική πίεση φαίνεται να περιορίζει την ικανότητα των ηπειρωτικών πληθυσμών της *L. trilineata* να επιτυγχάνουν θερμοκρασίες σώματος κοντά στα θερμοκρασιακά τους βέλτιστα (T_{set}).

3.4.2. Οικολογία της διατροφής

Η δίαιτα του είδους *L. trilineata* εμφανίζει πολλές ομοιότητες με εκείνη που έχει καταγραφεί για την πλειονότητα των Ευρωπαϊκών, μεγάλου μεγέθους σώματος σαυρών (συμπεριλαμβάνουν τα γένη *Lacerta* και *Timon*) (Angelici και συν. 1997, Castilla και συν. 1991, Gvoždík & Boukal 1998, Hödar και συν. 1996, Llorente & Pérez-Mellado 1988, Molloy και συν. 2012). Τα ευρήματά μας, ωστόσο, δεν κατάφεραν να επιβεβαιώσουν πλήρως την πρώτη υπόθεση εργασίας, που υποστηρίζει τη φυλετική διαφοροποίηση της οικολογίας της διατροφής, καθώς οι αρσενικές και οι θηλυκές σαύρες παρουσιάζουν παρόμοια πρότυπα στην τροφική τους οικολογία, με μικρές μόνο διαφορές, που

σχετίζονται κυρίως με την κατανάλωση σκληρής λείας (Διπλόποδα και Χειλόποδα). Οι υπόλοιπες τρεις υποθέσεις εργασίας που αφορούν τη διαφοροποίηση της διατροφής, με βάση το στάδιο ανάπτυξης, την εποχή και το περιβάλλον, φάνηκε να επιβεβαιώνονται.

Ο τύπος των αρθροπόδων που παρατηρείται στη διατροφή μιας σαύρας, καθορίζει εάν το είδος είναι ενεργητικός θηρευτής ή ενεδρευτής (Dunham 1983, Gasnier και συν. 1994, Huey & Pianka 1981, Magnusson και συν. 1985). Στην παρούσα μελέτη, παρατηρήσαμε ότι η τροφή της *L. trilineata* αποτελείται από ποικιλία εντόμων, τόσο ιπτάμενων (όπως Λεπιδόπτερα, Δίπτερα και Υμενόπτερα, κ.α.) όσο και βαδιστικών (όπως προνύμφες εντόμων, Φαλάγγια, Ισόποδα, κ.α.) (εικόνα 3.8). Τα αποτελέσματα αυτά, σε συνδυασμό με τον σημαντικό αριθμό κρυπτικών και νυκτόβιων ομάδων λείας, όπως προνύμφες εντόμων, Φαλάγγια και Γαστερόποδα που εντοπίστηκαν στα στομάχια, συνηγορούν ότι το εξεταζόμενο είδος παρουσιάζει μια ενεργητική θηρευτική συμπεριφορά με γενικευμένη δίαιτα και μεγάλο εύρος στη τροφική διάσταση του οικολογικού θώκου (Maragou και συν. 1997, Maragou και συν. 1996). Τα ευρήματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα προηγούμενης μελέτης, των Molloy και Petrova (2013), για τη *L. trilineata*. Ανάλογη εικόνα έχει καταγραφεί και στο είδος *L. agilis*, όπου οι περισσότερες δραστήριες αρσενικές σαύρες τρέφονται με μεγαλύτερη ποικιλία βαδιστικών αρθροπόδων σε σχέση με τις θηλυκές (Nemes 2002).

Στη διατροφή του είδους, τόσο στις ανήλικες όσο και ενήλικες σαύρες, κυριαρχεί η τάξη των Κολεοπτέρων, ενώ πολύ κοινά είναι επίσης τα Ορθόπτερα, Ισόποδα και Υμενόπτερα (πίνακας 3.5). Η αυξημένη παρουσία ιπτάμενων και υγρόφιλων taxa, επιβεβαιώνει τον αναρριχητικό και υγρόφιλο χαρακτήρα της *L. trilineata* (Arnold 1987, Valakos και συν. 2008), ενώ η επικράτηση των Κολεοπτέρων, τόσο σε ποσοστό όσο και συχνότητα, στη δίαιτα της *L. trilineata* είναι κοινό φαινόμενο, που έχει παρατηρηθεί και σε άλλα Lacertidae (Adamopoulou και συν. 1999, Angelici και συν. 1997, Castilla και συν. 1991, Molloy και συν. 2012, Βαλάκος 1990, Μαραγκού 1997). Βέβαια, η απουσία των μυρμηγκιών από τη δίαιτα του συγκεκριμένου είδους, με μόνη εξαίρεση την παρουσία τους στους νησιωτικούς πληθυσμούς κατά την περίοδο του καλοκαιριού (σχετική αναφορά γίνεται παρακάτω), αποτελεί ένα ενδιαφέρον εύρημα. Η μυρμηκοφαγία συνιστά μια από τις πιο κοινές διαιτητικές στρατηγικές μεταξύ των Ευρωπαϊκών Lacertidae, εξαιτίας της αφθονίας της ομάδας αυτής (Formicidae) σε ξηρά περιβάλλοντα ή σε περιόδους ξηρασίας (Maragou και συν. 1996, Pérez-Mellado και συν. 1991, Pérez-Mellado & Corti 1993, Pianka 1986, Pollo & Pérez-Mellado 1988, Valakos και συν. 1997). Δεν αποκλείεται αυτή η ασυμφωνία που παρατηρήθηκε να οφείλεται στο μεγάλο μέγεθος σώματος και επομένως

στις αυξημένες ενεργειακές απαιτήσεις της *L. trilineata*.

Το μέγεθος της λείας αποτελεί ένα χρήσιμο, πρώτο, δείκτη του ενεργειακού περιεχομένου της τροφής (Díaz & Carrascal 1991, Jaeger & Barnard 1981, Schoener 1971) και επομένως είναι ένας σημαντικός παράγοντας για την επιλογή ή μη μιας ταξινομικής ομάδας στη διατροφή ενός θηρευτή (Castilla και συν. 1991, Díaz & Carrascal 1991, Hödar και συν. 1996). Στην περίπτωση της *L. trilineata*, τα ευρήματά μας υποστηρίζουν ότι αποφεύγει την κατανάλωση taxa μικρών διαστάσεων (όπως Μυρμήγκια, Ημίπτερα, Τριχόπτερα, κ.α.), δείχνοντας έντονη προτίμηση για μεγαλύτερα, και πιο πλούσια από άποψη ενέργειας taxa αρθροπόδων (δηλαδή ομάδες λείας των οποίων η κατανάλωση τους είναι ενεργειακά επικερδής για τους θηρευτές), όπως είναι τα Κολεόπτερα και τα Ορθόπτερα. Το συμπέρασμα αυτό συμφωνεί με τα αποτελέσματα άλλων ερευνητών για την τροφική οικολογία άλλων ελληνικών Lacertidae όπως η *P. gaigeae*, η *P. milensis*, η *P. erhardii*, η *P. peloponessiacae* και η *Hellenolacerta graeca* (Adamopoulou και συν. 1999, Maragou και συν. 1996, Βαλάκος 1990, Μαραγκού 1997). Για τους λόγους αυτούς, το ανωτέρω συμπέρασμα περί ενεργητικής θηρευτικής συμπεριφοράς, που παρουσιάζει το είδος, ενισχύεται περαιτέρω από τη θετική συσχέτιση, ανάμεσα στο μέγεθος της τροφής και στο μέγεθος του σώματός του, που παρατηρήθηκε. Αν και τα ευρήματα αυτά έρχονται σε αντίθεση με προηγούμενες μελέτες σχετικά με την τροφική οικολογία του είδους, που υποστηρίζουν ότι τα μυρμήγκια αποτελούν μια από τις κυρίαρχες ταξινομικές ομάδες στη δίαιτα της *L. trilineata* (Angelon και συν. 1966, Peters 1963), πρέπει να επισημάνουμε ότι τα συμπεράσματα των αντικρουόμενων μελετών βασίζονται σε μικρό αριθμό δειγμάτων (63 και 9, αντίστοιχα) και επομένως έχουν μικρότερη στατιστική υποστήριξη.

3.4.2.1. Φυλετική και αναπτυξιακή διαφοροποίηση της δίαιτας

Από την ανάλυση των δεδομένων δεν παρατηρήθηκε σημαντική φυλετική διαφοροποίηση στη δίαιτα του συγκεκριμένου είδους, εύρημα που βρίσκεται σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες σε Lacertidae (Carretero και συν. 2010). Αναλυτικότερα, τα αποτελέσματά μας δεν έδειξαν κάποια σημαντική διαφορά στο εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου μεταξύ αρσενικών και θηλυκών σαυρών από το ίδιο περιβάλλον (**παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.2**), γεγονός που επιβεβαιώνεται και από τις υψηλές τιμές του δείκτη επικάλυψης του τροφικού θώκου (**παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.3**). Ένας από τους παράγοντες, στον οποίο θα μπορούσε να αποδοθεί η αδυναμία εντοπισμού τέτοιων διαφορών μεταξύ

των δύο φύλων, είναι η μικρή ποικιλία ενδαιτημάτων που προσφέρουν τα Μεσογειακά οικοσυστήματα με αποτέλεσμα να μη επιτρέπουν στα ζώα να αναπτύξουν μεγάλες αποκλίσεις στο εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου (Gvoždík & Boukal 1998). Κάτι αντίστοιχο έχει παρατηρηθεί σε ακόμη μια περίπτωση πράσινων σαυρών, και συγκεκριμένα σε πληθυσμούς της *L. agilis* στην Τσεχία, όπου, λόγω της μικρής ετερογένειας των βιοτόπων, τα δύο φύλα παρουσιάζουν σημαντικές ομοιότητες στη διαίτά τους (Gvoždík & Boukal 1998). Η μόνη διαφορά, που εντοπίστηκε μεταξύ των δύο φύλων, έγκειται στην ταξινομική σύνθεση της λείας, που συνέβαλε στη μικρή τιμή του δείκτη ομοιότητας Jaccard (**παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.1**), με τα αρσενικά άτομα να δείχνουν μεγαλύτερη προτίμηση έναντι πιο σκληρής λείας (Κολεόπτερα, Ισόποδα, Γαστερόποδα, Διπλόποδα και Χειλόποδα). Αντίθετα, τα θηλυκά άτομα περιλαμβάνουν στη διαίτά τους μεγαλύτερες ποσότητες μαλακών και χερσαίων ασπονδύλων (όπως προνύμφες εντόμων, Αράχνες και Δίπτερα). Δεδομένου ότι η ικανότητα των ζώων να τρέφονται με σκληρή λεία, απαιτεί μεγαλύτερη ισχύ δήγματος (Herrel και συν. 1999), η μεγαλύτερη δύναμη που καταγράφηκε για τα αρσενικά άτομα, επιτρέπει στις αρσενικές σαύρες να έχουν πρόσβαση σε σκληρότερη και πιο δύσκολη στον χειρισμό λεία (difficult-to-handle prey) (Herrel και συν. 2001b, Verwaijen και συν. 2002) (**πίνακες 3.3 και 3.4**). Ωστόσο, παρά το μεγαλύτερο μέγεθος σώματος των αρσενικών σαυρών, δεν παρατηρήθηκε οποιαδήποτε σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των δύο φύλων ως προς το μέγεθος των τεμαχίων λείας.

Όσον αφορά την διαίτα ανάμεσα σε διαφορετικά αναπτυξιακά στάδια, όπως συμβαίνει και σε άλλα Lacertidae, αν και όχι τόσο συχνά (βλ. Angelici και συν. 1997, Brecko και συν. 2008, Kaliontzopoulou και συν. 2010b), τα ανήλικα άτομα της *L. trilineata* ακολουθούν ένα διαφορετικό διαιτητικό πρότυπο. Συγκεκριμένα, οι χαμηλές τιμές του δείκτη ομοιότητας Jaccard ($\sim 0,4$) και της επικάλυψης του εύρους του τροφικού θώκου ($Q_{jk} = \sim 0,80$) στη ταξινομική σύνθεση των ενήλικων και ανήλικων σαυρών και ιδιαίτερα για τους ηπειρωτικούς πληθυσμούς (**παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακες Σ3.1 και Σ3.5**, αντίστοιχα), υποδηλώνουν ότι το είδος αυτό υφίσταται έντονη αλλαγή της διαίτας κατά τη διάρκεια της ανάπτυξής του. Φαίνεται δηλαδή, ότι οι οντογενετικές αλλαγές που συντελούνται στη *L. trilineata*, κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης της, επηρεάζουν την επιλογή λείας και κατά συνέπεια το περιεχόμενο του στομάχου, που εξετάστηκε (Arnold 1993, Urošević και συν. 2013). Οι σαύρες, όπως και κάθε άλλος οργανισμός, υφίστανται σημαντικές αλλαγές στο μέγεθος, σχήμα και λειτουργία των εξαρτημάτων σύλληψης τροφής κατά την ενηλικίωση τους (Brecko και συν. 2008,

Kaliontzopoulou και συν. 2010b). Επομένως, η περιορισμένη χωρητικότητα του γαστρεντερικού σωλήνα των ανήλικων σαυρών και η ικανότητα των ενήλικων να δαγκώνουν ισχυρότερα, στοιχεία που απαιτούνται για την κατανάλωση σκληρής λείας, μπορούν να εξηγήσουν τις παρατηρούμενες αναπτυξιακές διαφορές στη διαίτα (Herrel και συν. 1999, Rough 1973, Rough 1983, Urošević και συν. 2013). Σε συμφωνία με τα παραπάνω ευρήματα είναι οι ποιοτικές και ποσοτικές διαφορές στη διαίτα, μεταξύ ανήλικων και ενήλικων σαυρών της *L. trilineata*, που καταγράφηκαν από τον Peters (1963). Μάλιστα ο τελευταίος ερευνητής βρήκε ότι οι ανήλικες σαύρες μασάνε καλύτερα την τροφή τους από ό,τι οι ενήλικες, που κατά βάση καταναλώνουν την τροφή τους αμάσητη (το στοιχείο αυτό επιβεβαιώνεται από τα πολύ μικρά κομμάτια λείας που εντοπίστηκαν στα στομάχια των ανηλίκων σαυρών). Το γεγονός αυτό, πιθανά, αποτελεί άλλη μια αναπτυξιακή προσαρμογή της *L. trilineata*, αυτή τη φορά στην απόδοση της λειτουργίας του πεπτικού σωλήνα.

Ένας επιπλέον παράγοντας, που θα μπορούσε να εξηγήσει τη διαφοροποίηση που παρατηρείται στη διατροφή της *L. trilineata*, κατά την ανάπτυξή της, είναι ο τρόπος με τον οποίον οι ενήλικες σαύρες εκμεταλλεύονται το περιβάλλον τους. Ο Arnold (1987) υποστήριξε ότι τα ενήλικα και ανήλικα άτομα της *L. trilineata*, καθώς και των υπολοίπων πράσινων σαυρών, όπως είναι η *L. agilis* (Angelici και συν. 1997), καταλαμβάνουν διαφορετικού τύπου μικροενδιαιτήματα. Έτσι, ενώ οι ενήλικες σαύρες βρίσκονται κυρίως σε περιοχές με πυκνή βλάστηση, όπως φρύγανα ή μακία, αλλά και σε δάση, οι ανήλικες σαύρες συνήθως εντοπίζονται σε ενδιαιτήματα με πιο αραιή και ποώδη βλάστηση (Angelici και συν. 1997, Arnold 1987). Αυτή όμως η αλλαγή στο ενδιαίτημα εκμετάλλευσης ισοδυναμεί και με σημαντικές αλλαγές στη διαθεσιμότητα και στην ταξινομική σύνθεση των κοινοτήτων αρθροπόδων (Vitt και συν. 1997). Αν και παρόμοιες διατροφικές μεταβολές δεν είναι πολύ κοινές σε μικρές και μεσαίου μεγέθους σαύρες (Diaz 1995), τέτοιες διαφοροποιήσεις έχουν συχνά αναφερθεί σε φίδια (Luiselli & Agrimi 1991, Natusch & Lyons 2012), χελώνες (Bouchard & Bjorndal 2006) και αμφίβια (Duellman & Trueb 1986). Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι οντογενετικές διαφορές στη *L. trilineata* έχουν αναφερθεί και σε προηγούμενες μελέτες που αφορούν την ικανότητα αυτοτομίας της ουράς, με τις ενήλικες σαύρες να έχουν απολέσει την ικανότητα αυτοτομίας, η οποία αντικαθίστανται από διαφορετικούς τρόπους άμυνας, όπως η απόδραση (Pafilis & Valakos 2008).

Στους ηπειρωτικούς πληθυσμούς, οι ενήλικες σαύρες παρουσιάζουν προτίμηση για ομάδες όπως τα Κολεόπτερα, Ισόποδα, Γαστερόποδα και Ορθόπτερα (αποτελούν το 85%

της διαίτάς τους). Αντίθετα, οι ανήλικες σαύρες περιλαμβάνουν στη διαίτά τους και σημαντικά ποσοστά μαλακής λείας όπως προνύμφες εντόμων, Αράχνες και Φαλάγγια (Verwaijen και συν. 2002). Το συμπέρασμα αυτό βρίσκεται σε συμφωνία με το υψηλότερο εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου (H') ($\sim 1,85$ έναντι $1,43$) και το μικρότερο επίπεδο διατροφικής εξειδίκευσης (D) ($\sim 0,3$ έναντι $0,65$), που βρέθηκε στις ανήλικες, σε σύγκριση με τις ενήλικες σαύρες (**πίνακας 3.5**). Στην περίπτωση των νησιωτικών πληθυσμών, σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ηλικιακών κλάσεων προέκυψε και ως προς τη συχνότητα εμφάνισης φυτοφαγικής διαίτας. Αν και στα ενήλικα άτομα η παρουσία φυτικής ύλης στο στομαχικό περιεχόμενο ήταν πολύ συχνή ($\sim 28\%$), στα ανήλικα άτομα η κατανάλωσή της ήταν σημαντικά μειωμένη ($\sim 10\%$) (**πίνακας 3.5**). Προηγούμενες μελέτες έχουν αποδείξει, ότι τα νεαρά άτομα μεγάλου μεγέθους σώματος ενηλίκων σαυρών καταναλώνουν φυτική ύλη σε μικρότερα ποσοστά από τα αντίστοιχα ενήλικα άτομα, λόγω της δυσκολίας τους να πέπτουν τις φυτικές ίνες, τη μικρή χωρητική ικανότητα και την ανεπαρκή δομή του εντέρου να υποστηρίξει μια δίαιτα πλούσια σε φυτικές ίνες (Pough 1973, Pough 1983). Επιπλέον, τα νεαρά άτομα χρειάζονται τροφές, των οποίων η ενεργειακή απόδοση (σε συνδυασμό με την ενέργεια που καταβάλλεται για την απόκτησή τους) να μεγιστοποιεί το καθαρό ενεργειακό κέρδος. Το γεγονός αυτό αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για τη σωστή ανάπτυξή τους (Stephens & Krebs 1986), κάτι που δεν προβλέπεται από το χαμηλής ενέργειας φυτικό υλικό (Durtsche 2000).

3.4.2.2. Εποχιακή και γεωγραφική διαφοροποίηση της διαίτας

Εκτός των όσων αναφέρθηκαν μέχρι τώρα, η ταξινομική σύνθεση της διατροφής εξαρτάται και από την τροφική διαθεσιμότητα και τους περιορισμούς του ενδιαιτήματος (Arnold 1987). Όμως, δεδομένης της επίδρασης της εποχικότητας στη σύνθεση των κοινοτήτων αρθροπόδων, είναι λογικό η δίαιτα ενός οργανισμού να παρουσιάζει έντονες διακυμάνσεις και αλλαγές, κατά την διάρκεια του έτους. Με άλλα λόγια, δεν αποτελεί έκπληξη η εποχιακή διαφοροποίηση της σύνθεσης της τροφής, που βρέθηκε για το είδος *L. trilineata*, όπως αυτή υποστηρίζεται πρώτον, από τη χαμηλή επικάλυψη του τροφικού θώκου μεταξύ των εποχών και, δεύτερον, από τις διαφορές στα ποσοστά ταξινομικής σύνθεσης της διαίτας (**παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακες Σ4.6 και Σ3.4**, αντίστοιχα). Ανάλογη εικόνα παρουσιάζουν και οι πληθυσμοί των ειδών *L. viridis* (Molloy και συν. 2012) και *L. agilis* (Molloy & Petrova 2013), που εξαπλώνονται στη

περιοχή των Βαλκανίων. Η συμπεριφορά αυτή συμφωνεί με τη θεωρία της ευκαιριακής θήρευσης (opportunistic predation), σύμφωνα με την οποία τα ζώα τρέφονται με ποικιλία εντόμων βάσει της αφθονίας και της διαθεσιμότητάς τους στο περιβάλλον, κατά τη διάρκεια του έτους. Η τελευταία στρατηγική επιτρέπει στη *L. trilineata* να αντιμετωπίζει τις έντονες εποχιακές διακυμάνσεις της αφθονίας των αρthropόδων, που παρατηρούνται στα Μεσογειακού τύπου οικοσυστήματα της Ελλάδας (Βαλάκος 1990, Καραμαούνα 1988). Σε συμφωνία με την θεωρία της ευκαιριακής θήρευσης είναι και η συνεχής μείωση του μέσου αριθμού τεμαχίων λείας στο στομάχι, από την άνοιξη προς το φθινόπωρο, που παρατηρήθηκε (**πίνακας 3.5**). Ωστόσο, οι διαφορές αυτές βρίσκονται εντός του εύρους, που έχει καταγραφεί και σε άλλες πράσινες σαύρες (Angelici και συν. 1997, Gvoždík & Boukal 1998, Molloy και συν. 2012).

Σε περιόδους ξηρασίας, όπως το καλοκαίρι, οι πληθυσμοί των αρthropόδων στα Μεσογειακά νησιά μειώνονται σημαντικά, αφήνοντας λίγες επιλογές στους θηρευτές (Carretero 2004, Pafilis και συν. 2013, Pafilis και συν. 2009b). Έτσι, οι οργανισμοί αναγκάζονται να αναζητήσουν και να καταναλώσουν όλες τις διαθέσιμες πηγές τροφής στο ενδιαίτημά τους (Hödar και συν. 1996, Pérez-Mellado & Corti 1993). Τέτοια πρότυπα εποχιακής διαφοροποίησης της διαίτας, που σχετίζονται με την τροφική διαθεσιμότητα, έχουν αναφερθεί για πολλά Lacertidae στην περιοχή της Μεσογείου (Adamopoulou και συν. 1999, Pérez-Mellado & Corti 1993, Valakos 1986). Στην περίπτωση της *L. trilineata*, η γενικότερη αύξηση των ποσοστών παρουσίας των ομάδων των Υμενόπτερων, Μυρμηγκιών και Ομόπτερων στο στομάχι κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού (**πίνακας 3.5**), αντανακλά, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, την ευκαιριακή στρατηγική θήρευσης. Βέβαια, η αύξηση, της αφθονίας των συγκεκριμένων ομάδων εντόμων στα ελληνικά νησιά του Αιγαίου κατά την καλοκαιρινή περίοδο (Καραμαούνα 1987, Παράσχη 1988), ευνοεί, από τη δική της μεριά, την ανάπτυξη μιας τέτοιας στρατηγικής. Αντίθετα, η μειωμένη παρουσία των Κολεοπτέρων και των προνυμφών εντόμων την ίδια περίοδο (**πίνακας 3.5**), μπορεί να αποδοθεί στη μικρή διαθεσιμότητα και πυκνότητα πληθυσμών των δύο τελευταίων taxa τους καλοκαιρινούς μήνες (Trihas & Legakis 1991, Καραμαούνα 1988).

Όσον αφορά τώρα τη διαίτα των νησιωτικών πληθυσμών της *L. trilineata*, σε αντίθεση με το γενικότερο πρότυπο που καταγράφηκε, φαίνεται ότι οι κυρίες ομάδες τροφής παραμένουν σταθερές καθ' όλη τη διάρκεια του έτους. Με άλλα λόγια, το εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου παραμένει σταθερά υψηλό (**πίνακας 3.5**). Μια τέτοια συμπεριφορά συμφωνεί με τη θεωρία της θήρευσης (foraging theory), σύμφωνα με την οποία σε περιβάλλοντα με μειωμένη διαθεσιμότητα τροφής, τα ζώα

προσπαθούν να επιτύχουν μια ισορροπημένη διαίτα, καταναλώνοντας έστω και ελάχιστες ποσότητες συγκεκριμένων ομάδων λείας, μειώνοντας παράλληλα την διαιτητική τους εξειδίκευση προκειμένου να εκμεταλλευτούν όλους τους διαθέσιμους πόρους τροφής (Schoener 1971, Stephens & Krebs 1986). Συνεπώς, τα ζώα οδηγούνται τελικά σε αύξηση του εύρους της διάστασης του οικολογικού θώκου (**πίνακας 3.5**). Πράγματι, αν αναλογιστούμε τις πιο σημαντικές ομάδες λείας στη διαίτα των νησιωτικών πληθυσμών, παρατηρούμε ότι τα Κολεόπτερα, τα Ορθόπτερα και τα Ισόποδα παραμένουν σταθερά κατά τη διάρκεια του έτους. Σε αντίθεση με τη σταθερή συχνότητα κατανάλωσης των διαφόρων ζωικής προέλευσης λείας καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, η σύγκριση της συχνότητας φυτικής ύλης μεταξύ των τριών εποχών έδειξε ένα διαφορετικό πρότυπο. Έτσι, παρατηρήθηκε ότι τα ποσοστά και η συχνότητα εμφάνισης φυτικής ύλης ήταν σημαντικά υψηλότερα κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού (~38% έναντι ~22%, **πίνακας 3.5**), πιθανότατα λόγω της προσωρινής μείωσης της διαθεσιμότητας τροφής στο περιβάλλον, εκείνη την περίοδο (Cooper & Vitt 2002 και οι περιλαμβανόμενες αναφορές, Pérez-Mellado & Corti 1993).

Οι ηπειρωτικοί πληθυσμοί έδειξαν ένα διαφορετικό πρότυπο, όσον αφορά την διακύμανση του εύρους τροφικού θώκου, με υψηλότερες τιμές H' να παρουσιάζονται κατά τη διάρκεια της άνοιξης και όχι του καλοκαιριού (όπως στους νησιωτικούς πληθυσμούς). Την άνοιξη, η διαίτα των ηπειρωτικών σαυρών αποτελείται από 17 ταξινομικές ομάδες, με τα Κολεόπτερα και τις προνύμφες εντόμων να αποτελούν το 67% του συνόλου της διατροφής τους (**πίνακας 3.5**). Ενδιαφέρον αποτελεί η υψηλή εξειδίκευση, που παρατηρήθηκε το καλοκαίρι και το φθινόπωρο, με τη διαίτα να αποτελείται σχεδόν εξ ολοκλήρου από πέντε ταξινομικές ομάδες (Κολεόπτερα, Ορθόπτερα, Γαστερόποδα, Ισόποδα και προνύμφες εντόμων) που καταλαμβάνουν περίπου το 90% της συνολικής σύνθεσης της διαίτας. Το γεγονός αυτό άλλωστε, επιβεβαιώνεται και από τις παραπλήσιες τιμές H' μεταξύ των δύο εποχών (**πίνακας 3.5** και **παράρτημα Ι συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.6**).

Τέλος, παρατηρήθηκε ότι ο τύπος περιβάλλοντος είχε επίσης σημαντική επίδραση στη διαίτα του εξεταζόμενου είδους. Τα δεδομένα μας υποστηρίζουν σημαντικές αποκλίσεις στη διαίτα μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών, που σχετίζονται με συγκεκριμένα χαρακτηριστικά των νησιωτικών οικοσυστημάτων, με κυριότερο από όλα την περιορισμένη τροφική διαθεσιμότητα (Carretero 2004, Carretero και συν. 2010, McConnachie & Alexander 2004). Η σημαντικότερη διαφορά παρατηρήθηκε στην κατανάλωση φυτικής ύλης, με τις νησιωτικές σαύρες να παρουσιάζουν τριπλάσια

συχνότητα εμφάνισης φυτικού υλικού στα στομάχια τους από ό,τι οι ηπειρωτικές (~30% έναντι ~10%). Εξαιτίας της υψηλής συχνότητας εμφάνισης φυτικής ύλης στα στομάχια της *L. trilineata*, η παρουσία της δεν μπορεί να θεωρηθεί συμπτωματική. Ο Rough (1973) υποστήριξε ότι η φυτοφαγία στις σαύρες περιορίζεται στα μεγαλόσωμα είδη (βάρος > 100 g) και ότι στα πιο μικρόσωμα, για φυσιολογικούς και/ή μορφολογικούς λόγους, δεν ευνοείται. Από τότε βέβαια πλήθος μελετών απέδειξαν ότι η φυτοφαγία είναι περισσότερο διαδεδομένη σε μικρότερου μεγέθους Lacertidae (Cooper & Vitt 2002, Greene 1982, Lo Cascio και συν. 2006, Pérez-Mellado 1989, Pérez-Mellado & Corti 1993, Van Damme 1999). Το σύνολο σχεδόν των μελετών αυτών, αναφέρονται σε είδη που εξαπλώνονται σε νησιά ή σε απομονωμένες περιοχές με περιορισμένη τροφική διαθεσιμότητα, όπως άλλωστε συμβαίνει και στην περίπτωση των νησιωτικών πληθυσμών της *L. trilineata*. Επιπλέον, μια πρόσφατη συγκριτική μελέτη σε σαύρες της οικογένειας Liolaemidae (περιλαμβάνει περίπου 170 είδη) απέδειξε ότι μια δίαιτα η οποία βασίζεται αρκετά στην κατανάλωση φυτικής ύλης ευνοείται από ζώα που είτε ζουν σε πιο ψυχρά περιβάλλοντα ή επιλέγουν χαμηλότερη θερμοκρασία σώματος (Espinoza και συν. 2004), όπως είναι οι νησιωτικοί πληθυσμοί της *L. trilineata* (παράγραφος 3.3.3). Αν και η κατανάλωση φυτών είναι αρκετά διαδεδομένη σε νησιωτικά Lacertidae, οι πράσινες σαύρες δεν θεωρούνται φυτοφάγοι οργανισμοί. Ακόμα και όταν, σε προηγούμενες μελέτες, καταγράφηκε η παρουσία φυτικής ύλης στα στομάχια, το ποσοστό εκείνο ήταν πολύ μικρό (μικρότερο από 10%, Gvoždík & Boukal 1998) προκειμένου να θεωρηθεί σκόπιμη η κατανάλωσή της. Συνεπώς, τα ευρήματά μας ενισχύουν την γνώση μας σχετικά με την έκταση της φυτοφαγίας των πράσινων σαυρών και τις προσαρμογές τους στα νησιωτικά οικοσυστήματα.

Το συμπέρασμα περί της μειωμένης διαθεσιμότητας τροφής στα νησιά του Αιγαίου (Καραμαούνα 1988, Παράσχη 1988) ενισχύεται και από το μικρό μέσο αριθμό τεμαχίων στα στομάχια των νησιωτικών πληθυσμών (πίνακας 3.5). Σαν αποτέλεσμα, οι νησιωτικές σαύρες παρουσιάζουν αυξημένο εύρος στην τροφική διάσταση του οικολογικού θώκου (H') και μειωμένη τροφική εξειδίκευση (D), σε όλη τη διάρκεια του έτους (πίνακας 3.5) (Pérez-Mellado & Corti 1993, Schoener 1971). Συγκεκριμένα, οι ηπειρωτικοί πληθυσμοί περιλαμβάνουν στη δίαιτά τους μικρότερα ποσοστά από Ορθόπτερα και Ισόποδα, ενώ taxa όπως τα Δερμάπτερα, Διπλόποδα και Χειλόποδα απουσιάζουν σχεδόν πλήρως (εικόνα 3.8). Βέβαια, οι διαφορές αυτές δεν απεικονίζονται ξεκάθαρα στην επικάλυψη του τροφικού θώκου ($Q_{jk} > 90\%$; παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ3.5), πιθανά λόγω της εξαιρετικά υψηλής συχνότητας εμφάνισης των Κολεοπτέρων.

Όπως θα αναλυθεί στις παρακάτω παραγράφους, οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στο πρότυπο διατροφής μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών της *L. trilineata* φαίνεται να αντανακλούν τις προσαρμογές, που έχουν υιοθετήσει οι σαύρες από τα διαφορετικά περιβάλλοντα, σε χαρακτήρες που συμμετέχουν στον χειρισμό, σύλληψη και πέψη της λείας.

3.4.3. Μορφολογίας κεφαλής και δύναμη δήγματος

3.4.3.1. Αποκλίσεις στη μορφολογία της κεφαλής και στη δύναμη δήγματος

Τα αποτελέσματα της σύγκρισης της μορφολογίας της κεφαλής συνηγορούν στο γενικότερο πρότυπο του φυλετικού διμορφισμού, που έχει αναφερθεί σε σαύρες της οικογένειας Lacertidae, επιβεβαιώνοντας τη δεύτερη υπόθεση εργασίας μας, δηλαδή τη δράση της φυλετικής επιλογής στους μορφολογικούς και λειτουργικούς χαρακτήρες. Έτσι, τα αρσενικά άτομα εμφανίζουν μεγαλύτερες (χρήση της μεθόδου της απλής μορφομετρίας) και πιο εύρωστες (χρήση της μεθόδου της γεωμετρικής μορφολογίας) κεφαλές, καθώς και ισχυρότερο δήγμα (Herrel και συν. 2001b, Kaliontzopoulou και συν. 2012, Verwaijen και συν. 2002).

Παρά το πρότυπο του φυλετικού διμορφισμού, ενδιαφέροντα αποτελέσματα εμφάνισε και η σύγκριση ανάμεσα σε σαύρες του ίδιου φύλου, από διαφορετικά περιβάλλοντα (δράση της φυσικής επιλογής). Πιο συγκεκριμένα, η πλευρική και η ραχιαία όψη της κεφαλής (χρήση της μεθόδου της γεωμετρικής μορφολογίας), παρουσίασαν σημαντικές διαφορές, τόσο μεταξύ των θηλυκών σαυρών από τα διαφορετικά περιβάλλοντα όσο και μεταξύ των αρσενικών σαυρών. Ακόμη και όταν οι φυλογενετικές σχέσεις των πληθυσμών λήφθηκαν υπ' όψιν, οι διαφορές παρέμειναν, υποδηλώνοντας ότι η μορφολογία της κεφαλής στη *L. trilineata* υπόκειται καθαρά σε πιέσεις επιλογής και δεν είναι το αποτέλεσμα ιστορικών φαινομένων. Βέβαια, οι διαφορές αυτές δεν φάνηκαν να αντικατοπτρίζονται και στις γραμμικές διαστάσεις της κεφαλής (χρήση της μεθόδου της απλής μορφομετρίας) ανάμεσα στα φύλα των διαφορετικών περιβαλλόντων. Συνεπώς, με βάση τα παραπάνω, η πρώτη υπόθεση εργασίας επιβεβαιώθηκε μερικώς. Τέλος, όσον αφορά τον λειτουργικό χαρακτήρα της ισχύος δήγματος και την επίδραση της φυσικής επιλογής σε αυτόν, τα αποτελέσματα είναι περισσότερο πολύπλοκα. Συγκεκριμένα, η σύγκριση της ισχύος του χαρακτήρα αυτού, έδειξε σημαντικές διαφορές μόνο στην περίπτωση των αρσενικών σαυρών από τα διαφορετικά περιβάλλοντα. Αντίθετα, δεν

παρατηρήθηκε οποιαδήποτε διαφορά στην ισχύ του δήγματος, ανάμεσα σε θηλυκές σαύρες από διαφορετικά περιβάλλοντα. Τα τελευταία αποτελέσματα συνηγορούν ότι, πιθανόν, η φυλετική, και όχι η φυσική, επιλογή είναι αυτή, που κατά κύριο λόγο κατευθύνει τον λειτουργικό χαρακτήρα της δύναμης δήγματος για το είδος *L. trilineata*.

3.4.3.2. Δράση της φυσικής και φυλετικής επιλογής στη μορφολογία της κεφαλής και στην ισχύ δήγματος της *L. trilineata*

Η σύγκριση ανάμεσα στα δύο φύλα επισήμανε τον έντονο φυλετικό διμορφισμό, για τους μορφολογικούς χαρακτήρες της κεφαλής και τη δύναμη δήγματος, επιβεβαιώνοντας την αρχική μας υπόθεση για τη δράση της φυλετικής επιλογής στη *L. trilineata*, για τους χαρακτήρες αυτούς. Με άλλα λόγια, παρατηρήσαμε ότι οι αρσενικές σαύρες είχαν μεγαλύτερο μέγεθος σώματος και πιο εύρωστες κεφαλές σε σύγκριση με τις θηλυκές (πίνακας 3.6 και εικόνα 3.9). Επιπλέον, η ανάλυση παλινδρόμησης έδειξε ότι τα αρσενικά άτομα, σε αντίθεση με τα θηλυκά, επενδύουν περισσότερο στην ταχύτερη αύξηση του μεγέθους της κεφαλής. Η δράση της φυλετικής επιλογής, επιβεβαιώθηκε και από την ανάλυση της γεωμετρίας της κεφαλής, τόσο για τη ραχιαία όσο και την πλευρική όψη, όπου οι αρσενικές σαύρες εμφανίζουν περισσότερο στρογγυλεμένες, πιο πλατιές και πιο ψηλές κεφαλές (εικόνα 3.12). Άλλωστε, το πρότυπο του φυλετικού μορφολογικού διμορφισμού έχει αναφερθεί, αρκετά συχνά, σε είδη της οικογένειας Lacertidae (Herrel και συν. 2009, Kaliontzopoulou και συν. 2012, Kaliontzopoulou και συν. 2008, Lappin και συν. 2006, Verwaijen και συν. 2002) και βρίσκεται σε συμφωνία με τη δράση της φυλετικής επιλογής (Abouheif & Fairbairn 1997).

Όσον αφορά τις διαστάσεις της κεφαλής, και ιδίως το ύψος και το πλάτος του, είναι γνωστό ότι αυτές συσχετίζονται θετικά και με τη δύναμη δήγματος (Brecko και συν. 2008, Herrel και συν. 1999, Herrel και συν. 1996, Kaliontzopoulou και συν. 2008, Lappin και συν. 2006). Συνεπώς, η σχετική αύξηση των γραμμικών χαρακτήρων του ύψους και του πλάτους της κεφαλής, ευνοεί τα ζώα, πρώτον, να αναπτύξουν περισσότερο τους στοματογναθικούς τους μύες, τόσο ως προς τον όγκο όσο και ως προς το εμβαδόν διατομής τους, και, δεύτερον, να αυξήσουν το μηχανικό πλεονέκτημα των μυών (Herrel και συν. 2001b, Lappin και συν. 2006, Lappin & Husak 2005). Σε συμφωνία με τα παραπάνω, είναι η διαφοροποίηση που παρατηρήθηκε, μεταξύ αρσενικών και θηλυκών ατόμων, στον λειτουργικό αυτό χαρακτήρα, με τις αρσενικές σαύρες να επιτυγχάνουν ισχυρότερο δήγμα (πίνακας 3.7).

Σε άμεση συνέχεια και σε αντιστοιχία με τα παραπάνω, είναι η σημαντικά μεγαλύτερη τιμή του συντελεστή παλινδρόμησης, μεταξύ της δύναμης δήγματος και των διαστάσεων της κεφαλής, που βρέθηκε στην περίπτωση των αρσενικών σαυρών (**εικόνα 3.13**). Το γεγονός αυτό υποστηρίζει, για ακόμα μια φορά, τη δράση της φυλετικής επιλογής στη διαμόρφωση του λειτουργικού χαρακτήρα της ισχύος δήγματος (Herrel και συν. 2010) στη *L. trilineata*. Ακόμη και όταν το μέγεθος της κεφαλής λήφθηκε υπ' όψιν, οι διαφορές στη δύναμη δήγματος, μεταξύ των δύο φύλων, παρέμειναν (**πίνακας 3.7**), γεγονός που συνηγορεί ότι οι παρατηρούμενες αποκλίσεις δεν οφείλονται αποκλειστικά στο μεγαλύτερο μέγεθος των αρσενικών σαυρών, αλλά και σε αλλαγές στην αρχιτεκτονική δομή των μυών, οι οποίες είναι ανεξάρτητες του συνολικού μεγέθους και σχήματος της κεφαλής. Άλλωστε, είναι γνωστό πως οι μεγαλύτερες κεφαλές και η μεγαλύτερη δύναμη δήγματος, συνιστούν πλεονέκτημα για τις αρσενικές σαύρες που συμμετέχουν σε συμπεριφορές χωροκρατικότητας και ενδοφυλετικού ανταγωνισμού, επηρεάζοντας, τόσο την επιτυχία του ζευγαρώματος όσο και την διεκδίκηση τροφής (Braña 1996, Herrel και συν. 1999, Kwiatkowski & Sullivan 2002, Lappin και συν. 2006, Lappin & Husak 2005, Moreira και συν. 2006, Perry και συν. 2004). Αντίθετα, αντίστοιχες συμπεριφορές δεν θεωρούνται πρωταρχικής σημασίας για τις θηλυκές σαύρες (Herrel και συν. 2010, Herrel και συν. 1999, Irschick και συν. 2007). Έτσι, όπως ήδη αναφέρθηκε παραπάνω, οι διαφορές που βρέθηκαν στην ταξινομική σύνθεση της δίαιτας μεταξύ των θηλυκών και αρσενικών σαυρών, μπορεί να θεωρηθεί ότι οφείλονται στην δράση της φυλετικής επιλογής στους μορφολογικούς και λειτουργικούς χαρακτήρες της κεφαλής, οι οποίοι έμμεσα επηρεάζουν τη διαφοροποίηση του διατροφικού προτύπου ανάμεσα στα δύο φύλα. Ως αποτέλεσμα, οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στα ποσοστά σκληρής λείας, μεταξύ αρσενικών και θηλυκών σαυρών, μπορούν να αποδοθούν στη διαφοροποίηση του μεγέθους της κεφαλής και τελικά στην ισχύ του δήγματος (Kaliontzopoulou και συν. 2012, Vanhooydonck και συν. 2011).

Αναφορικά με τη δράση της φυσικής επιλογής (σύγκριση ανάμεσα σε άτομα του ίδιου φύλου, αλλά από διαφορετικά περιβάλλοντα) στους μορφολογικούς χαρακτήρες της κεφαλής και στον λειτουργικό χαρακτήρα της δύναμης δήγματος της *L. trilineata*, τα αποτελέσματά μας απέτυχαν να επιβεβαιώσουν πλήρως την υπόθεσή εργασίας μας. Αν και το σχήμα της κεφαλής φάνηκε να διαφοροποιείται έντονα μεταξύ των τεσσάρων ομάδων, κάτι τέτοιο δεν βρέθηκε να συμβαίνει και στην περίπτωση της δύναμης δήγματος όπου, ενώ οι αρσενικές νησιωτικές σαύρες δαγκώνουν ισχυρότερα από ό,τι οι αρσενικές

ηπειρωτικές, δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά μεταξύ των θηλυκών σαυρών από τα διαφορετικά περιβάλλοντα (πίνακας 3.7).

Το σχήμα της κεφαλής αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα, που μπορεί να επηρεάσει, είτε διευκολύνοντας είτε όχι, την πρόσβαση σε διαφορετικούς πόρους τροφής, επιδρώντας στην ισχύ δήγματος (Herrel και συν. 2001b, Kaliontzopoulou και συν. 2010a, Vanhooydonck & Van Damme 1999). Αύξηση του βάθους και του πλάτους της κεφαλής, συνήθως, συνεπάγεται και αύξηση της ισχύος δήγματος (McBrayer 2004). Επιπλέον, σαύρες με ευρύτερο τροφικό θώκο έχει αποδειχθεί ότι μπορούν να ασκούν μεγαλύτερη δύναμη δήγματος, μια προσαρμογή που τους επιτρέπει να καταναλώνουν την πλειοψηφία των διαθέσιμων πόρων τροφής στο περιβάλλον, ακόμη και φυτικής προέλευσης (Edwards και συν. 2013, Herrel και συν. 1998). Ειδικότερα, όσον αφορά την κατανάλωση φυτικής ύλης, έχει αποδειχθεί ότι εκείνη μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της ισχύος δήγματος λόγω της δυσκολίας τεμαχισμού και επεξεργασίας των φυτικών ινών από τα ζώα (Herrel και συν. 1999, Herrel και συν. 2001b). Αντίθετα, μικρότερο εύρος τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου, δηλαδή μεγαλύτερη τροφική εξειδίκευση, συνήθως επιφέρει μικρότερη δύναμη δήγματος (Edwards και συν. 2013). Αύξηση της ισχύος δήγματος μπορεί, παράλληλα, να επιφέρει και σημαντική μείωση του χρόνου που απαιτείται για την θραύση και την επεξεργασία της λείας και να συνεισφέρει στην καλύτερη απόδοση της πέψης (Verwaijen και συν. 2002), στοιχείο ιδιαίτερα σημαντικό για οικοσυστήματα, όπου η τροφική διαθεσιμότητα είναι αρκετά περιορισμένη, όπως εκείνα των νησιών (Carretero 2004, Pérez-Mellado & Corti 1993).

Με βάση τα παραπάνω, και επειδή πρώτον, οι νησιωτικές αρσενικές και θηλυκές σαύρες φέρουν μακρύτερες σε μήκος και λιγότερο πεπλατυσμένες κεφαλές (εικόνα 3.11) και, δεύτερον, το εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου διαφοροποιείται μεταξύ πληθυσμών, αναμέναμε ότι οι νησιωτικές σαύρες θα είναι σε θέση να επιτυγχάνουν ισχυρότερο δήγμα από ό,τι οι ηπειρωτικές σαύρες. Όπως διαπιστώθηκε όμως, μόνο οι αρσενικές σαύρες ακολουθούν το πρότυπο αυτό. Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά στη δύναμη δήγματος ανάμεσα στις θηλυκές σαύρες από τα διαφορετικά περιβάλλοντα (εικόνα 3.13 Α). Η ασυμφωνία αυτή από την αρχική μας υπόθεση, πιθανολογούμε ότι μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός πως η μελέτη μας εστίασε σε λίγες μόνο παραμέτρους, που σχετίζονται με τη δύναμη δήγματος, όπως είναι το μέγεθος και το σχήμα της κεφαλής. Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας, δεν εξετάστηκαν άλλες σημαντικές μεταβλητές, που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την ισχύ του λειτουργικού αυτού χαρακτήρα, όπως είναι η γωνία πρόσφυσης των μυών της γνάθου, οι φυσιολογικές

τους λειτουργίες, αλλά και η αρχιτεκτονική δομή του στοματογναθικού μυϊκού συστήματος (Herrel και συν. 2002, Schaerlaeken και συν. 2012). Τέλος, η αδυναμία εύρεσης διαφορών στις γραμμικές διαστάσεις της κεφαλής (χρήση της μεθόδου της απλής μορφομετρίας) μεταξύ σαυρών του ιδίου φύλου από τα διαφορετικά περιβάλλοντα, θα πρέπει να αποδοθεί στην αδυναμία της μεθόδου της απλής μορφομετρίας να εντοπίσει διαφορές μικρής κλίμακας, όπως μεταξύ πληθυσμών (Kaliontzopoulou και συν. 2007).

3.4.4. Πέψη

Η σύγκριση της απόδοσης της πέψης, μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών της *L. trilineata*, έδειξε ότι οι σαύρες από τα νησιά αποκλίνουν σημαντικά από εκείνες της χέρσου. Το γεγονός αυτό επιβεβαίωσε την αρχική μας υπόθεση, δηλαδή την επίδραση της οικολογίας της διατροφής και του θερμορρυθμιστικού προτύπου στη λειτουργία και μορφολογία του γαστρεντερικού σωλήνα. Συγκεκριμένα, παρατηρήσαμε ότι οι νησιωτικές σαύρες απορροφούν πιο αποδοτικά τα τρία οργανικά συστατικά της τροφής (πρωτεΐνες, λιπίδια και σάκχαρα), επιβραδύνοντας τον χρόνο που απαιτείται, ώστε η τροφή να διέλθει από την πεπτική οδό (GPT). Την καθυστέρηση αυτή την επιτυγχάνουν με δύο τρόπους. Πρώτον, αυξάνοντας το μήκος του πεπτικού σωλήνα, και συνεπακόλουθα, το κλάσμα μήκους γαστρεντερικού σωλήνα προς μήκος σώματος και, δεύτερον, μέσω της ύπαρξης ειλεοκολικών βαλβίδων. Παρ' όλα αυτά, δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στη δραστικότητα των πεπτικών ενζύμων, με εκείνη να παραμένει σταθερή για όλους τους πληθυσμούς μελέτης και στα τρία τμήματα της πεπτικής οδού.

Προτού προχωρήσουμε στην ακόλουθη συζήτηση, θα πρέπει να τονίσουμε ότι καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, η δίαιτα των ζώων ήταν απόλυτα ελεγχόμενη και αποτελούμενη από ένα είδος μονάχα τροφής (προνύμφες του γένους *Tenebrio*), καθώς και ότι τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε ιδανικές, σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας, ενώ το βάρος των ζώων παρέμεινε σταθερό. Το γεγονός αυτό είναι εξαιρετικά σημαντικό, αν λάβουμε υπ' όψιν πως η ποιότητα της δίαιτας και η θερμοκρασία μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά την πεπτική αποδοτικότητα (Troyer 1984), αλλοιώνοντας την έκβαση των αποτελεσμάτων μας. Επομένως, είναι λογικό να συμπεράνουμε, ότι η απόδοση της πέψης των σαυρών, στο πεδίο, θα είναι διαφορετική, εφόσον τα ζώα παρουσιάζουν ένα μεγαλύτερο εύρος στην τροφική διάσταση του οικολογικού θώκου και η θερμοκρασία παρουσιάζει έντονες διακυμάνσεις κατά τη διάρκεια της ημέρας. Τέλος,

εξίσου σημαντικό είναι το γεγονός, ότι οι φυλογενετικές σχέσεις των πληθυσμών δεν φάνηκε να ευθύνονται για τις αποκλίσεις που παρατηρήθηκαν, μεταξύ των τεσσάρων πληθυσμών μελέτης, στη διεργασία της πέψης. Ως εκ τούτου, οι διαφορές αυτές θα πρέπει να αποδοθούν στις οικολογικές συνήθειες του κάθε πληθυσμού και στις πιέσεις επιλογής που δρουν στα νησιωτικά οικοσυστήματα, λόγω των ιδιαίτερων περιβαλλοντικών συνθηκών (βιοτικών και αβιοτικών).

3.4.4.1. Μέγεθος σώματος, μορφολογία του πεπτικού σωλήνα και χρόνος διέλευσης της τροφής

Από τα αποτελέσματά μας γίνεται φανερό πως ο μορφολογικός χαρακτήρας που υπόκειται σε πιέσεις επιλογής, είναι το μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα, με τις σαύρες από τα νησιά να παρουσιάζουν μια σημαντική αύξηση του μήκους του πεπτικού σωλήνα, σε σχέση με εκείνες της χέρσου και, παράλληλα, αύξηση της τιμής του λόγου: μήκος γαστρεντερικού σωλήνα προς μήκος σώματος (**εικόνα 3.14 B**). Υποθέτουμε ότι σε περιβάλλοντα με περιορισμένη διαθεσιμότητα τροφής, όπως εκείνα των νησιών (Carretero 2004, McConnachie & Alexander 2004), αύξηση του μήκους και της επιφάνειας απορρόφησης του γαστρεντερικού σωλήνα μπορεί να επιφέρει σημαντική αύξηση της απορρόφησης των θρεπτικών συστατικών και, ως επακόλουθο αυτού, αύξηση του μεγέθους της πεπτικής αποδοτικότητας (Alexander και συν. 2001, Vervust και συν. 2010). Συνεπώς, υποθέτουμε ότι οι σαύρες στα νησιά επενδύουν μεγαλύτερα ποσά ενέργειας για την ταχύτερη αύξηση του μήκους του γαστρεντερικού σωλήνα από ό,τι οι σαύρες της ηπειρωτικής χώρας, λόγω της σημασίας του στην αποδοτικότητα της πέψης. Με αυτόν τον τρόπο, κατορθώνουν να επεξεργάζονται την τροφή τους για περισσότερο χρονικό διάστημα στην πεπτική οδό. Έτσι, τα οργανικά συστατικά της τροφής υφίστανται καλύτερη επεξεργασία, μια και τα γαστρικά ένζυμα έχουν περισσότερο χρόνο για να δράσουν στα διάφορα τμήματα του πεπτικού σωλήνα, αυξάνοντας τελικά την απορρόφηση και, συνεπακόλουθα, την πεπτική αποδοτικότητα του ζώου (Barton & Houston 1993, Barton & Houston 1994).

Πέραν της διαφοροποίησης στο μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα, βρέθηκε επιπλέον ότι οι νησιωτικές σαύρες εμφανίζουν μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης ειλεοκολικών βαλβίδων στο έντερο σε σύγκριση με τις ηπειρωτικές σαύρες (62% έναντι 19%, αντίστοιχα, **εικόνα 3.5**). Ο ρόλος των πτυχώσεων αυτών είναι διττός. Πρώτον, επιβραδύνουν τη διέλευση της τροφής από την πεπτική οδό και, δεύτερον, δημιουργούν

κατάλληλα μικροενδιαιτήματα, τα οποία επιτρέπουν την παρουσία συμβιωτικών μικροοργανισμών του εντέρου. Οι τελευταίοι, από τη μεριά τους, συνεισφέρουν στη καλύτερη πέψη της τροφής, καθώς βοηθούν στη διάσπαση των άπεπτων τεμαχίων λείας ζωικής και φυτικής προέλευσης (Iverson 1982, McBee 1971, Troyer 1984). Παρ' όλα αυτά, η παρουσία τυφλικών βαλβίδων τόσο στο έντερο των νησιωτικών όσο και των ηπειρωτικών σαυρών της *L. trilineata*, υποδηλώνει ότι οι δομές αυτές δεν αποτελούν μια νέα προσαρμογή των νησιωτικών σαυρών, αλλά είναι το αποτέλεσμα των διαφορετικών πιέσεων επιλογής, που οδήγησαν σε αλλαγή της συχνότητας εμφάνισης του γνωρίσματος αυτού. Υποθέτουμε δηλαδή ότι οι διαφορετικές συνθήκες που επικρατούν στα νησιά ευνόησαν εκείνα τα άτομα του προγονικού πληθυσμού του είδους, που έφεραν στο έντερό τους ειλεοκολικές βαλβίδες. Άμεση συνέπεια αυτού είναι η αύξηση της συχνότητας εμφάνισης των δομών αυτών στο έντερο των νησιωτικών πληθυσμών, με την πάροδο του χρόνου (νησιά: 62% έναντι χέρσου: 19%). Όπως και προηγουμένως, συμπεραίνουμε ότι η παρουσία των τυφλικών βαλβίδων στο έντερο των νησιωτικών σαυρών είναι αποτέλεσμα της περιορισμένης διαθεσιμότητας τροφής και της αλλαγής του προτύπου διατροφής (αυξημένη κατανάλωση φυτικού υλικού στους νησιωτικούς πληθυσμούς). Ανάλογα αποτελέσματα έχουν βρεθεί και σε άλλα είδη Lacertidae, όπως την *P. sicula*, όπου οι σαύρες από το νησί Pod Mrčaru έχουν διαφοροποιηθεί από τον προγονικό πληθυσμό του γειτονικού νησιού Pod Korište, αναπτύσσοντας ειλεοκολικές βαλβίδες, λόγω του διαφορετικού διατροφικού προτύπου που έχουν υιοθετήσει (Herrel και συν. 2008), καθυστερώντας της διέλευσης της τροφής από την πεπτική οδό και βελτιώνοντας την πεπτική τους αποδοτικότητα (Vervust και συν. 2010).

Σε πλήρη συμφωνία με την αύξηση του μήκους του γαστρεντερικού σωλήνα και την ύπαρξη ειλοκολικών βαλβίδων είναι και ο παρατεταμένος χρόνος διέλευσης της τροφής από την πεπτική οδό που καταγράφηκε στις σαύρες των νησιών (ο μέσος χρόνος διέλευσης της τροφής στις σαύρες των πληθυσμών της Άνδρου και της Σκύρου παρουσιάζει καθυστέρηση, σε σχέση με εκείνον των πληθυσμών Καρδίτσα και Στυμφαλία, της τάξης του 17% με 26%, **πίνακας 3.9** και **εικόνα 3.14**). Ο GPT, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, αποτελεί ένα μέγεθος εκτίμησης της πεπτικής αποδοτικότητας, ενώ σχετίζεται άμεσα με τη λειτουργία της πέψης. Συγκεκριμένα, όσο μεγαλύτερο είναι το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από τη στιγμή της κατάποσης της τροφής στην αφόδευση του οργανισμού, τόσο πιο παρατεταμένη θα είναι η δράση των πεπτικών ενζύμων και, επομένως, η πεπτική αποδοτικότητα του ζώου θα αυξάνεται (Alexander και συν. 2001).

Οι τιμές, που μπορεί να πάρει ο GPT, ποικίλουν και εξαρτώνται από το μέγεθος του ζώου (Rough 1973), τη θερμοκρασία σώματος (αύξηση της θερμοκρασίας επιφέρει μείωση του χρόνου παρακράτησης της τροφής στην πεπτική οδό) (Pafilis και συν. 2007, Van Damme και συν. 1991), την ποιότητα της τροφής και το διαιτητικό πρότυπο του ζώου (φυτοφαγική ή σαρκοφαγική δίαιτα) (Iverson 1982, Johnson & Lillywhite 1979), αλλά και από τη μορφολογία (Vervust και συν. 2010) και κινητικότητα (Harlow και συν. 1976) του γαστρεντερικού σωλήνα. Στην περίπτωση της *L. trilineata*, οι σαύρες, από τους τέσσερις πληθυσμούς μελέτης, έχουν παρόμοιο μέγεθος, ενώ οι θερμοκρασιακές συνθήκες στις οποίες διεξήχθησαν τα πειράματα ήταν οι ίδιες. Ωστόσο, διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου, με τις νησιωτικές σαύρες να εμφανίζουν μικρότερη εξειδίκευση από ό,τι οι ηπειρωτικές, με έμφαση πάντως στην εντομοφαγία. Για το λόγο αυτό, προκειμένου να ξεπεραστεί το τελευταίο πρόβλημα, τα ζώα ταΐστηκαν με συγκεκριμένο τύπο διαίτας καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων. Λαμβάνοντας υπ' όψιν όλους τους παραπάνω περιορισμούς του ελήφθησαν για τη διεξαγωγή των πειραμάτων, συμπεραίνουμε ότι οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στο GPT θα πρέπει να αποδοθούν στη διαφορετική μορφολογία του πεπτικού σωλήνα (μήκος σωλήνα και ύπαρξη ειλεοκολικών βαλβίδων), η οποία είναι αποτέλεσμα προσαρμογής σε ένα περιβάλλον με περιορισμένους πόρους.

Ανάλογες έρευνες σε Lacertidae δεν είναι διαθέσιμες. Μοναδική εξαίρεση ωστόσο, αποτελεί η μελέτη των Pafilis και συν. (2007), η οποία και παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, μια και οι τελευταίοι ερευνητές απέδειξαν ότι τα είδη *P. erhardii* και *P. gaigeae* (του γένους *Podarcis*), παρά του νησιωτικού χαρακτήρα που παρουσιάζουν, έχουν υιοθετήσει ένα διαφορετικό πρότυπο, όσον αφορά τον τρόπο λειτουργίας της πέψης, σε σχέση με εκείνο της *L. trilineata*. Έτσι, σε αντίθεση με τα συγγενικά ηπειρωτικά είδη *P. muralis* και *P. peloroponnesiaca*, τα πρώτα παρουσιάζουν αύξηση του χρόνου διέλευσης της τροφής από τον πεπτικό σωλήνα και, παράλληλα, αύξηση της πεπτικής αποδοτικότητας. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με τη συμβατική κατανόηση της πεπτικής διαδικασίας (trade-offs, βλ. σελ. 9), βάση της οποίας οι οργανισμοί μπορούν: (α) είτε να μεγιστοποιήσουν το ποσοστό της προσλαμβανόμενης ενέργειας, αυξάνοντας τον ρυθμό πρόσληψης των οργανικών συστατικών της τροφής και ελαττώνοντας τον χρόνο που απαιτείται να περάσει η τροφή μέσω της γαστρεντερικής οδού είτε (β) να μεγιστοποιήσουν την πεπτική αποδοτικότητα, παρακρατώντας την τροφή για περισσότερο χρονικό διάστημα μέσα στο γαστρεντερικό σωλήνα (Barton & Houston 1993, Barton & Houston 1994). Το γεγονός βέβαια ότι στην εργασία τους οι Pafilis και συν. (2007), δεν εξέτασαν το μήκος και την

επιφάνεια του γαστρεντερικού σωλήνα, τη δραστηριότητα των πεπτικών ενζύμων, καθώς και το ρυθμό απορρόφησης των οργανικών μακρομορίων, δεν μας δίνει τη δυνατότητα να προβούμε σε ασφαλή συμπεράσματα για τις προσαρμογές που τα νησιωτικά είδη του γένους *Podarcis* έχουν υιοθετήσει.

3.4.4.2. Ενζυμική δραστηριότητα

Η λειτουργία της πέψης έρχεται σε πέρας χάρη στην καταλυτική δράση εξειδικευμένων ενζύμων της πεπτικής οδού, τα οποία ομαδοποιούνται σε τρεις μεγάλες κατηγορίες: γλυκοσιδάσες, πεπτιδάσες και λιπάσες, ανάλογα με τα θρεπτικά συστατικά που αποτελούν το στόχο τους (Karason 1986, Karason & Martinez Del Rio 2007). Μηχανισμοί, που σχετίζονται με τα επίπεδα έκφρασης των ενζύμων και τη δραστηριότητα τους, είναι ο αριθμός των αντιγράφων ενός γονιδίου, που κωδικοποιεί για δεδομένο ένζυμο, καθώς και ο βαθμός πολυμορφισμού αυτών (βλ. ανασκόπηση του Karason και συν. 2011 και αναφορές εντός). Προηγούμενες μελέτες σε πληθώρα taxa έχουν αποδείξει ότι ο αριθμός και η δράση των πεπτικών ενζύμων σχετίζονται άμεσα με την ποιότητα της τροφής των ζώων (Arjamaa & Vuorisalo 2010, Karason και συν. 2011, Perry και συν. 2007). Συνεπώς, η μετάβαση από μια διατροφή αποκλειστικά με έντομα σε μια περισσότερο φυτοφαγική μπορεί να αυξήσει ή να μειώσει σημαντικά τον αριθμό και τη δράση ορισμένων ομάδων ενζύμων (Martínez del Rio & Stevens 1988). Σε συμφωνία με τα παραπάνω είναι οι ενδιάμεσες τιμές δραστηριότητας των γλυκοσιδασών που καταγράφηκαν στη *L. trilineata* (~75 $\mu\text{mol/gr/min}$ στο σύνολο του γαστρεντερικού σωλήνα, **πίνακας 3.9**), οι οποίες κυμαίνονται στα επίπεδα μεταξύ αποκλειστικά εντομοφάγων και αποκλειστικά φυτοφάγων ερπετών (βλ. **πίνακα 3.11**).

Στα νησιά, όπου η τροφική διαθεσιμότητα είναι περιορισμένη, οι σαύρες αυξάνουν το εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου, μειώνοντας τα επίπεδα τροφικής εξειδίκευσης και αυξάνοντας την κατανάλωση φυτών, φρούτων και καρπών (Brock και συν. 2014, Cooper & Vitt 2002), δηλαδή τροφής με χαμηλά ποσοστά πρωτεϊνών (Bell 1990). Λαμβάνοντας υπ' όψιν τα παραπάνω, υποθέσαμε ότι η αλλαγή της δίαιτας των νησιωτικών σαυρών θα μπορούσε να επιφέρει σημαντική μεταβολή και στα επίπεδα έκφρασης και δράσης των πεπτιδασών. Αντίστοιχα, η αποκλειστική κατανάλωση εντόμων των ηπειρωτικών σαυρών, η οποία συνεπάγεται μικρότερα ποσοστά υδατανθράκων στη διατροφή τους (Bell 1990), σε σχέση με εκείνες των νησιωτικών πληθυσμών, αναμέναμε να επιφέρει ελάττωση της δράσης των γλυκοσιδασών. Παρ' όλα

αυτά, τίποτε από τις παραπάνω υποθέσεις δεν επιβεβαιώθηκε. Δηλαδή, παρά τη διαφοροποίηση της δίαιτας που καταγράφηκε μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών σαυρών, η δράση των διαφορετικών ομάδων πεπτικών ενζύμων κυμαίνεται στα ίδια επίπεδα (πίνακας 3.9). Συμπεραίνουμε ότι το φαινόμενο αυτό πρέπει να αποδοθεί στη συντηρητικότητα που εκείνα παρουσιάζουν (German και συν. 2010, Kohl και συν. 2010). Επιπρόσθετα, αν και η μελέτη της δραστηριότητας των λιπασών δεν κατέστη εφικτή, πιθανολογούμε ότι και εκείνη θα ακολουθεί ανάλογο πρότυπο με αυτό που παρατηρήθηκε στις άλλες δύο ομάδες ενζύμων της πεπτικής οδού, δείχνοντας έναν συντηρητικό χαρακτήρα μεταξύ των πληθυσμών.

Πίνακας 3.11. Τιμές δραστηριότητας γλυκοσιδασών στο σύνολο της πεπτικής οδού σε ερπετά, λαμβανομένης υπ' όψιν το πρότυπο διατροφής τους. Δίνονται οι μέσες τιμές $\pm$ το τυπικό σφάλμα (standard error), καθώς και το άρθρο ή η εργασία στην οποία είναι δημοσιευμένες.

Είδος	Δίαιτα	Δραστηριότητα	Αναφορά
<i>Podarcis erhardii</i>	Εντομοφάγο	$12,76 \pm 1,04 \mu\text{mol} \times \text{gr}^{-1} \times \text{min}^{-1}$	Παφίλης (2003)
<i>Podarcis gaigeae</i>	Εντομοφάγο	$12,36 \pm 0,91 \mu\text{mol} \times \text{gr}^{-1} \times \text{min}^{-1}$	Παφίλης (2003)
<i>Podarcis peloponnesiaca</i>	Εντομοφάγο	$13,06 \pm 0,81 \mu\text{mol} \times \text{gr}^{-1} \times \text{min}^{-1}$	Παφίλης (2003)
<i>Hellenolacerta graeca</i>	Εντομοφάγο	$12,83 \pm 1,03 \mu\text{mol} \times \text{gr}^{-1} \times \text{min}^{-1}$	Παφίλης (2003)
<i>Testudo hermanni</i>	Φυτοφάγο	$108 \pm 6,7 \mu\text{mol} \times \text{gr}^{-1} \times \text{min}^{-1}$	Zoppi & Shmerling (1969)
<i>Lophognathus temporalis</i>	Εντομοφάγο	$3,16 \pm 0,41 \mu\text{mol} \times \text{gr}^{-1} \times \text{min}^{-1}$	Iglesias και συν. (2009)
<i>Liolaemus moradoensis</i>	Παμφάγο	$103 \pm 5,2 \mu\text{mol} \times \text{gr}^{-1} \times \text{min}^{-1}$	Naya και συν. (2011)
<i>Liolaemus nigroviridis</i>	Εντομοφάγο	$46 \pm 2,6 \mu\text{mol} \times \text{gr}^{-1} \times \text{min}^{-1}$	Naya και συν. (2009)
<i>Alligator mississippiensis</i>	Σαρκοφάγο	$19,7 \pm 0,3 \mu\text{mol} \times \text{gr}^{-1} \times \text{min}^{-1}$	Martínez del Río & Stevens (1988)

3.4.4.3. Φαινομενική πεπτική αποδοτικότητα

Η φαινομενική πεπτική αποδοτικότητα αποτελεί ένα συμβατικό μέγεθος για την εκτίμηση της απόδοσης της πέψης, καθώς λαμβάνει υπ' όψιν τους περιορισμούς που εμπλέκονται στον άμεσο υπολογισμό της πεπτικής αποδοτικότητας (McDonald και συν. 1966, Throckmorton 1973). Ως εκ τούτου, η πραγματική πεπτική αποδοτικότητα της *L. trilineata*, που παρατηρείται στη φύση, θα διαφέρει από εκείνη που εκτιμήσαμε στο εργαστήριο. Ένα άλλο σημείο σύμβασης, αποτελεί και η ίδια η διατροφή, που εφαρμόστηκε καθ' όλη την πειραματική διαδικασία. Πιο συγκεκριμένα, η πεπτική αποδοτικότητα υπολογίστηκε σε ιδεατές συνθήκες θερμοκρασίας, συχνότητας και ποιότητας τροφής, οι οποίες είναι απίθανο να ισχύουν στη φύση. Σε φυσικές συνθήκες το μέγεθος της λείας και η συχνότητα της διατροφής ποικίλλουν, ενώ η δίαιτα του ζώου διαφοροποιείται έντονα ανά εποχή, στάδιο ανάπτυξης και διαθεσιμότητα τροφής.

Συνεπώς, η θρεπτική αξία και το ποσοστό, με το οποίο τα μακρομόρια απαντώνται στη δίαιτα, μπορούν να διαφέρουν, προκαλώντας σημαντικές αποκλίσεις στην πεπτική αποδοτικότητα (Bouchard & Bjorndal 2006, Naya και συν. 2009, van Marken Lichtenbelt 1992). Με βάση τους παραπάνω περιορισμούς, που ελήφθησαν για τη διεξαγωγή των πειραμάτων, υποθέτουμε ότι οποιαδήποτε διαφορά παρατηρήθηκε στις τιμές ADE, οφείλεται στη διαδικασία της πέψης, αυτής καθαυτής, και στις προσαρμογές, που οι σαύρες των διαφορετικών οικοσυστημάτων έχουν αναπτύξει.

Στην περίπτωση της *L. trilineata*, οι νησιωτικοί πληθυσμοί παρουσιάζουν μια σαφώς αυξημένη πεπτική αποδοτικότητα, σε σύγκριση με τις σαύρες τις χέρσου και για τα τρία επιμέρους οργανικά συστατικά της τροφής (λιπίδια, πρωτεΐνες και σάκχαρα) (εικόνα 3.15). Όπως ήδη έχει αναφερθεί, δομικές (μήκος, τυφλικές βαλβίδες) και λειτουργικές (ενζυμική δραστηριότητα, συσπάσεις του εντέρου) αλλαγές του γαστρεντερικού σωλήνα, μπορούν να επηρεάσουν τη διεργασία της πέψης (Herrel και συν. 2008, Iglesias και συν. 2009, Skoczylas 1978, Vervust και συν. 2010). Από την στιγμή που δεν ανιχνεύθηκαν διαφορές στη δραστηριότητα των γαστρικών ενζύμων (πεπτιδάσες, γλυκοσιδάσες), οι αποκλίσεις που παρατηρήθηκαν στην απόδοση της πέψης, μεταξύ των πληθυσμών της *L. trilineata*, φαίνεται ότι πρέπει να αποδοθούν εξ' ολοκλήρου στη μορφολογική διαφοροποίηση του πεπτικού σωλήνα. Σε ανάλογα συμπεράσματα κατέληξαν και οι Vervust και συν. (2010), όπου διαπίστωσαν ότι η ανάπτυξη τυφλικών βαλβίδων στη γαστρεντερική οδό είναι υπεύθυνες για τη μεγαλύτερη φαινομενική πεπτική αποδοτικότητα που παρουσιάζουν οι σαύρες του είδους *P. sicula* από το νησί Pod Mrčaru, σε σύγκριση με εκείνες του γειτονικού νησιού Pod Korište.

Όσον αφορά τα λίπη, το πρώτο από τα τρία θρεπτικά συστατικά που μελετήθηκαν, αρχικά θα πρέπει να τονιστεί ότι η πεπτική αποδοτικότητα υπολογίστηκε για τα συνολικά λιπίδια που προσλαμβάνουν τα ζώα. Ως εκ τούτου, εάν η ανάλυση πραγματοποιηθεί ξεχωριστά για την κάθε κατηγορία λιπιδίων, οι τιμές ADE θα τροποποιηθούν.

Η ιδιότητα των λιπιδίων να μη διαλύονται στο νερό, δημιουργεί ιδιαίτερα προβλήματα στην πέψη και στην απορρόφηση τους στο υδατικό περιβάλλον του πεπτικού σωλήνα. Η διάσπαση τους αρχίζει στο στομάχι με τη δράση των λιπασών, οι οποίες διασπούν ένα πολύ μικρό μέρος αυτών (10 – 30%). Το υπόλοιπο 70% έως 90% των λιπών της τροφής διασπάται στο δωδεκαδάκτυλο με τη δράση των παγκρεατικών λιπασών. Η πέψη, επομένως, συντελείται κυρίως στο έντερο, αφού έχει προηγηθεί η μηχανική γαλακτωματοποίηση των λιπών στην περιοχή του στομάχου (Vander και συν. 2001). Κατά τη γαλακτωματοποίηση προκύπτουν μικρότερου μεγέθους σφαιρίδια, στην επιφάνεια των

οποίων μπορούν να δράσουν τα πεπτικά ένζυμα (Karason & Martinez Del Rio 2007). Παρ' όλα αυτά, αν και η πέψη επιτυγχάνεται με την γαλακτωματοποίηση, η απορρόφηση των δυσδιάλυτων στο νερό παραγομένων προϊόντων από τη δράση της λιπάσης θα εξακολουθούσε να είναι αργή, εάν τα χολικά άλατα δεν επανεπιδρούσαν περαιτέρω σχηματίζοντας μικκύλια (Vander και συν. 2001). Τελικά, τα λιπίδια απορροφώνται από την εσωτερική επιφάνεια (επιθηλιακά κύτταρα) του γαστρεντερικού σωλήνα (Vander και συν. 2001). Φαίνεται, δηλαδή, ότι τα λίπη υπόκεινται μια χρονοβόρα διαδικασία μέχρι την απορρόφησή τους. Στην περίπτωση της *L. trilineata* παρατηρήθηκε ότι η πεπτική αποδοτικότητα των λιπιδίων ήταν σημαντικά αυξημένη (κατά 14%) στις νησιωτικές σαύρες, σε σχέση με τις ηπειρωτικές ($ADE_{\text{ΛΙΠΙΔΙΩΝ}}$: ~78% έναντι ~68%, **εικόνα 3.15**). Η πιθανότερη αιτιολόγηση αυτού του φαινομένου θα πρέπει να αναζητηθεί στη διαφορετική μορφολογία του πεπτικού σωλήνα, που παρουσιάζουν οι σαύρες στα νησιά, η οποία αυξάνει την πεπτική αποδοτικότητα των λιπών για δύο λόγους. Πρώτον, μέσω της αύξησης του μήκους του γαστρεντερικού σωλήνα, αυξάνεται η επιφάνεια απορρόφησης και, επομένως, η ενέργεια που προσλαμβάνεται από μια δεδομένη μάζα τροφής είναι σημαντικά μεγαλύτερη (Harwood 1979, Zimmerman & Tracy 1989). Δεύτερον, η αύξηση του μήκους του πεπτικού σωλήνα, καθώς και η ανάπτυξη τυφλικών βαλβίδων, επιφέρουν σημαντική καθυστέρηση στο χρόνο διέλευσης της τροφής, με αποτέλεσμα τον παρατεταμένο χρόνο δράσης των λιπασών και την καλύτερη πέψη των λιπών (Pafilis και συν. 2007, Vervust και συν. 2010).

Η πέψη των σακχάρων, το δεύτερο οργανικό συστατικό που μελετήθηκε, πραγματοποιείται, ως επί το πλείστον, στο δωδεκαδάκτυλο, το ανώτερο τμήμα του λεπτού εντέρου, ύστερα από τη διάσπασή τους σε μονοσακχαρίτες, με τη δράση εξειδικευμένων πεπτικών ενζύμων (π.χ. μαλτάση, σουκράση, κυτταρινάση, κ.α) (Vander και συν. 2001). Στην παρούσα μελέτη, παρατηρήθηκε ότι η δραστηριότητα των γλυκοσιδασών δεν διαφέρει σημαντικά μεταξύ των πληθυσμών. Συνεπώς, σε συνέχεια με τα παραπάνω, οι αποκλίσεις που παρατηρήθηκαν στις $ADE_{\text{ΣΑΚΧΑΡΩΝ}}$, μεταξύ των ηπειρωτικών και νησιωτικών σαυρών (64% έναντι 75%, αντίστοιχα), πρέπει να αποδοθούν στο μεγαλύτερο μήκος του πεπτικού σωλήνα που έχουν οι σαύρες της Άνδρου και της Σκύρου. Άμεση συνέπεια του τελευταίου είναι η αύξηση του χρόνου διέλευσης της τροφής από την πεπτική οδό (~83 ώρες για τις νησιωτικές έναντι 69 για τις ηπειρωτικές σαύρες) και η αύξηση της πεπτικής αποδοτικότητας των σακχάρων ($ADE_{\text{ΣΑΚΧΑΡΩΝ}}$).

Τέλος, η πεπτική αποδοτικότητα των πρωτεϊνών ακολουθεί παρόμοιο πρότυπο με εκείνο των λιπιδίων και των σακχάρων, ήτοι αυξημένες τιμές ADE στις νησιωτικές

σαύρες, σε σχέση με τις ηπειρωτικές (~81% έναντι 70%, αντίστοιχα, **πίνακας 3.9**). Η πέψη αυτών των μακρομορίων τυπικά ξεκινά στο στομάχι, με τη βοήθεια της πεψίνης, που διασπά τις πρωτεΐνες σε μικρότερα πολυπεπτίδια (Karason & Martinez Del Rio 2007). Από εκεί συνεχίζει στο ανώτερο τμήμα του λεπτού εντέρου, όπου και τελικά προκύπτουν διπεπτίδια και λίγα αμινοξέα. Η ολοκλήρωση, επομένως, της διάσπασης των πρωτεϊνών απαιτεί χρόνο, προκειμένου τα ένζυμα να δράσουν. Το γεγονός αυτό συμφωνεί με τη μειωμένη πεπτική αποδοτικότητα των πρωτεϊνών στις ηπειρωτικές σαύρες, ως αποτέλεσμα της συρρίκνωσης του GPT. Σε ανάλογα συμπεράσματα έχουν καταλήξει και προηγούμενοι ερευνητές, οι οποίοι υποστήριζαν ότι όσο ο χρόνος διέλευσης της τροφής από την πεπτική οδό αυξάνεται, οι τιμές ADE θα αυξάνονται αντίστοιχα (*Caiman crocodilus*: da C. Diefenbach 1975, *Podarcis* spp.: Pafilis και συν. 2007, Vander και συν. 2001). Συνεπώς, πιθανολογούμε ότι αύξηση του μήκους του πεπτικού σωλήνα, που οδηγεί σε καθυστέρηση του GPT, έχει ως αποτέλεσμα την σημαντική αύξηση του χρόνου δράσης των πεπτιδασών. Έτσι, ο χρόνος απορρόφησης των πρωτεϊνών από τα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου αυξάνει, δικαιολογώντας τις υψηλότερες $ADE_{\text{ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ}}$ που καταγράφηκαν στις νησιωτικές σαύρες.

Όπως διαπιστώθηκε από την πειραματική μεθοδολογία, η πεπτική αποδοτικότητα διαφέρει ανά οργανικό υλικό, λόγω της ιδιαίτερης φύσης του καθενός. Τα επί μέρους οργανικά συστατικά χαρακτηρίζονται από διαφορετική θρεπτική αξία (Berg και συν. 2002) και απορροφώνται με διαφορετικούς ρυθμούς και σε διαφορετικά ποσοστά (Berne & Levy 1996). Συνεπώς, η πέψη τους πραγματοποιείται με διακριτή απόδοση. Στην προκειμένη περίπτωση, η *L. trilineata* φαίνεται να απορροφά πιο αποδοτικά τις πρωτεΐνες από ό,τι τα λίπη και τα σάκχαρα (**πίνακας 3.9** και **εικόνα 3.15 A**). Τα ευρήματα αυτά βρίσκονται σε έλλειψη συμφωνίας με ό,τι έχει αναφερθεί μέχρι τώρα σε άλλα Lacertidae, που υποστηρίζουν τη μεγαλύτερη ανάγκη για ενέργεια (χαμηλή $ADE_{\text{ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ}}$ και υψηλή $ADE_{\text{ΛΙΠΙΔΙΩΝ/ΣΑΚΧΑΡΩΝ}}$) (*Podarcis* spp.: Pafilis και συν. 2007, Vervust και συν. 2010). Το διαφορετικό αυτό πρότυπο, που παρατηρήθηκε, μπορεί να οφείλεται είτε στις διαφορετικές απαιτήσεις του κάθε οργανισμού σε οργανικά συστατικά ή στη διαφορετική δίαιτα που έχει υιοθετήσει το κάθε ζώο.

Η ομοιογένεια της ενζυμικής δραστηριότητας που παρατηρήθηκε μεταξύ των τεσσάρων πληθυσμών μελέτης, σε αντίθεση με την πεπτική αποδοτικότητα η οποία παρουσιάζει σημαντικές διαφορές, πιθανά να πρέπει να αποδοθεί στην συντηρητικότητα των ενζύμων, αλλά και στη φύση των πειραμάτων. Συγκεκριμένα, η πεπτική αποδοτικότητα υπολογίστηκε σε ζωντανούς οργανισμούς, με όλες τις αντισταθμιστικές

ρυθμίσεις και τους συμβιβασμούς που κάτι τέτοιο συνεπάγεται. Αντίθετα, η εκτίμηση της απόδοσης των πεπτικών ενζύμων πραγματοποιήθηκε *in vitro*, μελετώντας μεμονωμένα τμήματα της πεπτικής οδού. Ως εκ τούτου, η τιμή ADE αποτελεί τη συνισταμένη όλων των βιοχημικών διαδικασιών, που συντελούνται στο εσωτερικό των οργανισμών, δικαιολογώντας τις διαφορές που παρατηρήθηκαν.

3.4.4.4. Στοιχεία οικολογίας και πεπτική αποδοτικότητα της *L. trilineata*

Η τρέχουσα μελέτη τονίζει τις σημαντικές επιδράσεις των νησιωτικών οικοσυστημάτων, μέσω των πιέσεων επιλογής που δρουν σε αυτά, στη διεργασία της πέψης στην πράσινη σαύρα *L. trilineata*. Επιγραμματικά, βρήκαμε ότι οι σαύρες από τα νησιά Άνδρο και Σκύρο αποκλίνουν από τις ομόλογες ηπειρωτικές (Καρδίτσα και Στυμφαλία), παρουσιάζοντας σημαντική αύξηση του μήκους του γαστρεντερικού σωλήνα, της τάξης του 23%, αύξηση της συχνότητας εμφάνισης τυφλικών βαλβίδων (62% έναντι 19%), καθυστερημένο GPT (26% - 17%) και αύξηση της πεπτικής αποδοτικότητας για τα τρία οργανικά μακρομόρια (υδατάνθρακες, πρωτεΐνες και λίπη, ~15%). Παρ' όλα αυτά, δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά όσον αφορά τη δραστηριότητα των πεπτικών ενζύμων.

Πολλές από τις μορφολογικές και φυσιολογικές αλλαγές, που αναφέρθηκαν παραπάνω, υποθέτουμε ότι μπορούν να αποδοθούν στις ιδιαίτερες περιβαλλοντικές συνθήκες (βιοτικές και φυσικές), που επικρατούν στα νησιωτικά περιβάλλοντα. Προηγούμενες μελέτες έχουν αποδείξει την επίδραση της περιορισμένης τροφικής διαθεσιμότητας, του θερμικού περιβάλλοντος και της θηρευτικής πίεσης, τόσο στην οικολογία της διατροφής (Pérez-Mellado & Corti 1993, Rand 1978, Zimmerman & Tracy 1989) όσο και στην πεπτική αποδοτικότητα (Pafilis και συν. 2007, Zimmerman & Tracy 1989), δύο άρρηκτα συνδεδεμένες μεταξύ τους ιδιότητες των οργανισμών (Hailey 1998, Johnson 1966). Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών επιβεβαιώνονται με τα ευρήματα της παρούσας διατριβής και την επίδραση του νησιωτισμού σε πολλές πτυχές της βιολογίας της σαύρας *L. trilineata*.

Ο Sibly (1981) υποστήριξε ότι όταν η διαθεσιμότητα τροφής είναι αυξημένη, τα ζώα τείνουν να μεγιστοποιούν την απόδοση της πέψης, αλλά ταυτόχρονα να μειώνουν τον χρόνο διέλευσης της τροφής, με άλλα λόγια, μειώνουν την πεπτική τους αποδοτικότητα. Ωστόσο, σε σχέση με τον χρόνο, παρουσιάζουν μεγαλύτερο ρυθμό απορρόφησης ενέργειας και εξασφαλίζουν μεγαλύτερο κέρδος ενέργειας από την καταναλωμένη τροφή. Αντίθετα, σε οικοσυστήματα όπου η διαθεσιμότητα τροφής είναι περιορισμένη, όπως σε

εκείνα των νησιών (Cooper Jr & Vitt 2002), τα ζώα υποχρεούνται να αυξήσουν την πεπτική αποδοτικότητα, αυξάνοντας τον χρόνο διέλευσης της τροφής από τον γαστρεντερικό σωλήνα. Με τον τρόπο αυτό, μεγιστοποιείται η ενέργεια που προσλαμβάνεται από κάθε μονάδα μάζας τροφής, αλλά μειώνεται ο ρυθμός πέψης σε σχέση με τον χρόνο. Κάτι ανάλογο παρατηρήθηκε και στην περίπτωση της *L. trilineata*, όπου ο μεγαλύτερος σε μήκος και πολυπλοκότερος σε δομή (αύξηση της συχνότητας εμφανισής ειλεοκολικών βαλβίδων) γαστρεντερικός σωλήνας, οδηγεί σε σημαντική καθυστέρηση του GPT και τελικά αύξηση των ADE και για τα τρία οργανικά μακρομόρια (πίνακας 3.9 και εικόνα 3.15).

Η αύξηση του μήκους του πεπτικού σωλήνα, είναι μια προσαρμογή στο μεγαλύτερο εύρος τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου, που παρουσιάζουν οι νησιωτικές σαύρες. Όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 3.4.2.2, οι νησιωτικές σαύρες έχουν προσαρμοστεί στη μειωμένη τροφική διαθεσιμότητα των νησιών, αλλάζοντας το διατροφικό τους πρότυπο, μέσω της αύξησης του εύρους της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου, ενώ ταυτόχρονα στρέφονται σε μια δίαιτα αρκετά φυτοφαγική. Επομένως, υποθέτουμε ότι οι πιέσεις επιλογής, που δρουν στα ζώα των νησιών, λόγω της μεταβολής της δίαιτας, ευνοούν τη μορφολογική διαφοροποίηση του γαστρεντερικού σωλήνα, δηλαδή την αύξηση του μήκους του και την ανάπτυξη ειλεοκολικών βαλβίδων. Οι τελευταίες δομικές αλλαγές (προσαρμογές) επιτρέπουν στις νησιωτικές σαύρες να παρακρατούν την τροφή τους περισσότερο χρόνο στην πεπτική οδό, με άμεσο αποτέλεσμα την πιο παρατεταμένη δράση των πεπτικών ενζύμων πάνω στα τροφικά τεμάχια. Το τελευταίο φαινόμενο οδηγεί σε αύξηση της πεπτικής αποδοτικότητας (Bjorndal και συν. 1990, Sibly 1981). Επιπλέον, οι δομές αυτές δημιουργούν κατάλληλα μικροενδιαιτήματα για τη συνύπαρξη συμβιωτικών μικροοργανισμών, τα οποία επίσης διευκολύνουν την πέψη της φυτικής ύλης (Janzen 1973, Van Damme 1999, Zimmerman & Tracy 1989). Η τελευταία υπόθεση, η οποία δεν ελέγχθηκε στην παρούσα μελέτη, μια και δεν κατέστη δυνατόν να εξετάσουμε τη μικροχλωρίδα του εντέρου στα πλαίσια της έρευνας αυτής, αποτελεί μελλοντικό στόχο ο οποίος μένει να εξετασθεί.

Οι σαύρες στα νησιά υπόκεινται και σε μικρότερη πίεση θήρευσης (Pafilis και συν. 2008, Pérez-Mellado και συν. 1997), επειδή τα φίδια, τα πτηνά και τα θηλαστικά που αποτελούν βασικούς θηρευτές των σαυρών (Pafilis και συν. 2009a) δεν εντοπίζονται σε όλα τα νησιά του Αιγαίου (Valakos και συν. 2008, Watson 1964). Κάτι ανάλογο ισχύει και για τα νησιά Άνδρο και Σκύρο, όπου τα φίδια *Malpolon monspesulanus* και *Vipera amodytes*, αντίστοιχα, η κόκκινη αλεπού, το αγριογούρουνο και ο σκίουρος, που

αποτελούν θηρευτές της *L. trilineata* (Koshev 2010, Valakos και συν. 2008), απουσιάζουν από αυτά (Valakos και συν. 2008, Watson 1964). Ως εκ τούτου, μια στρατηγική παρατεταμένης πέψης, με σκοπό την αύξηση της πεπτικής αποδοτικότητας, ευνοείται, καθώς δεν επιφέρει την ταυτόχρονη αύξηση της πιθανότητας θήρευσης (Sibly 1981, Zimmerman & Tracy 1989) ή τουλάχιστον όχι στο βαθμό που μπορεί να ισχύει για τις σαύρες της χέρσου.

Τέλος, εκτός της ποιότητας τροφής και της θήρευσης, η θερμοκρασία σώματος αποτελεί έναν ακόμη καθοριστικό παράγοντα, που μπορεί να επηρεάσει την αποτελεσματικότητα της διεργασίας της πέψης (Harlow και συν. 1976, Huey 1982, McConnachie & Alexander 2004, Pafilis και συν. 2007, Stevenson 1985). Η θερμοκρασία σώματος στις σαύρες επηρεάζεται άμεσα από το θερμικό περιβάλλον της περιοχής διαβίωσης (Cowles & Bogert 1944, Porter & Gates 1969). Βασιζόμενοι στα αποτελέσματα της θερμικής βιολογίας, είδαμε ότι η ρυθμιστική επίδραση της θάλασσας συμβάλει στην ανάπτυξη πιο ήπιων κλιματικών συνθηκών στα νησιά, συγκρινόμενων με εκείνων που επικρατούν στη γειτονική χέρσο (Schwaner 1989). Το τελευταίο φαινόμενο έχει ως αποτέλεσμα οι σαύρες της Άνδρου και της Σκύρου να έχουν προσαρμοστεί στο ηπιότερο κλίμα των νησιών, μεταβάλλοντας το εύρος των επιλεγόμενων θερμοκρασιών, επιλέγοντας χαμηλότερες θερμοκρασίες σώματος, σε σχέση με τις ηπειρωτικές (Καρδίτσα και Στυμφαλία) (T_{set}). Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι αύξηση της θερμοκρασίας σώματος προκαλεί αύξηση της κινητικότητας του πεπτικού σωλήνα, συρρίκνωση του GPT και τελικά μείωση των ADE (Harlow και συν. 1976, McConnachie & Alexander 2004, Pafilis και συν. 2007, Qu και συν. 2011, Skoczylas 1978). Επομένως, δεν αποκλείεται ότι σε περιβάλλοντα όπου η διαθεσιμότητα τροφής είναι περιορισμένη, η επιλογή χαμηλότερων θερμοκρασιών σώματος παρέχει πλεονέκτημα στο ζώο, καθώς του επιτρέπει την παρακράτηση της τροφής για παρατεταμένο χρονικό διάστημα στον πεπτικό σωλήνα. Άμεση συνέπεια του τελευταίου είναι η αύξηση της πεπτικής αποδοτικότητας, μέσω της μεγιστοποίησης της ενέργειας που προσλαμβάνεται από κάθε μονάδα μάζας τροφής (Sibly 1981, Zimmerman & Tracy 1989).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΑΝΟΣΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΗΣ *LACERTA TRILINEATA*

4.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ - ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Πρόσφατα, το ενδιαφέρον της ερευνητικής κοινότητας για την κατανόηση του τρόπου δράσης της φυσικής επιλογής, οδήγησε στη μελέτη ανωτέρων επιπέδων οργάνωσης, όπως είναι το συστημικό και το οργανισμικό (Calsbeek και συν. 2008, Husak και συν. 2006). Ένα παράδειγμα συστηματικού επιπέδου οργάνωσης, αποτελεί το ανοσοποιητικό σύστημα, του οποίου η λειτουργία και η απόδοση επηρεάζονται από πληθώρα υποκείμενων γενετικών χαρακτήρων, φυσιολογικών διεργασιών, καθώς και από τη γενικότερη κατάσταση του οργανισμού (Eizaguirre και συν. 2012a, Fuxjager και συν. 2011, Kuo και συν. 2013, Olsson και συν. 2004, Sacchi και συν. 2007, Slos και συν. 2009). Ωστόσο, παρά την εκτεταμένη μελέτη που έχει πραγματοποιηθεί για το σύστημα αυτό, σε θηλαστικά και πτηνά, η λειτουργία του στα ερπετά παραμένει, ακόμη και σήμερα, σε μεγάλο βαθμό άγνωστη (Zimmerman και συν. 2010).

Η σημασία της μελέτης του ανοσοποιητικού συστήματος, έγκειται στο ρόλο του ως μηχανισμού άμυνας και προστασίας του οργανισμού απέναντι σε παθογόνα παράσιτα (Zuk & Stoehr 2002). Ξενιστές, που αδυνατούν να αναπτύξουν μια ισχυρή ανοσία, είναι περισσότερο ευαίσθητοι σε πιθανές μελλοντικές μολύνσεις (Schmid-Hempel 2003, Sheldon & Verhulst 1996), δημιουργώντας σημαντικά προβλήματα στην αρμοστικότητα τους στο περιβάλλον (Amo και συν. 2006, Beldomenico και συν. 2008, Beldomenico και συν. 2009), τα οποία μπορούν να οδηγήσουν ακόμη και στο θάνατο. Βέβαια, αποτελεί πλέον κοινή παραδοχή ότι, παρά τα πλεονεκτήματα που μπορεί να προσφέρει ένα καλά ανεπτυγμένο και λειτουργικό ανοσοποιητικό σύστημα, η ανοχή και η αντίσταση (δύο έννοιες που θα αναλυθούν παρακάτω, βλ. παράγραφο 4.1.2) σε παθογόνους μικροοργανισμούς, μπορεί να διαφέρουν μεταξύ διαφορετικών taxa ή να μεταβάλλονται χρονικά και χωρικά, εξαρτώμενα από την πίεση της κατευθύνουσας επιλογής (Råberg και συν. 2007, Schmid-Hempel 2003).

Η διαφοροποίηση της απόδοσης του ανοσοποιητικού συστήματος μπορεί, εκ πρώτης όψεως να φαίνεται παράδοξη, δεδομένης της καίριας σημασίας του στην αρμοστικότητα ενός οργανισμού, επειδή το αναμενόμενο θα ήταν η δράση της φυσικής επιλογής να εξασφαλίζει τη βέλτιστη λειτουργία του υπό οποιεσδήποτε συνθήκες. Ωστόσο, κάτι τέτοιο δεν φαίνεται να συμβαίνει. Η αιτιολόγηση του φαινομένου, θα πρέπει να αναζητηθεί σε τρεις κυρίως αιτίες: Η πρώτη αφορά τη γενετική ποικιλιότητα των παθογόνων μικροοργανισμών, η δεύτερη τη διαφορική παθογένειά τους, στην ικανότητα δηλαδή να

προσβάλουν ένα ζώο και η τρίτη την ετερογένεια του περιβάλλοντος (Alcaide και συν. 2010). Όσον αφορά την τελευταία αιτία, φαίνεται ότι οι χωρικές και χρονικές μεταβολές των βιοτικών και αβιοτικών συνθηκών των οικοσυστημάτων, ευνοούν την ύπαρξη διαφορετικών γονοτύπων ξενιστών (είτε αυτοί είναι διαφορετικοί πληθυσμοί του ίδιου taxon ή διαφορετικά taxa) (Lazzaro & Little 2009), καθένας με διαφορετική ευαισθησία σε δεδομένα παθογόνα παράσιτα. Όλα αυτά, υποδηλώνουν το δυναμικό χαρακτήρα της σχέσης ξενιστή-παρασίτου, γεγονός που περιπλέκει την επίδραση των πιέσεων φυσικής επιλογής στη λειτουργία του μηχανισμού άμυνας.

Πρόσφατες έρευνες έχουν αποδείξει, ότι η αντίσταση ενός ζώου σε λοιμογόνους μικροοργανισμούς, εξαρτάται από τρεις ικανότητές του: (α) την ικανότητα του σε πρώτη φάση να αποτρέπει την μόλυνση, (β) την ικανότητά του να ελέγχει την μολυσματικότητα των παθογόνων παρασίτων, εφόσον αυτά καταφέρουν να το προσβάλουν και (γ) την ικανότητά του να αντιμετωπίζει τη μετέπειτα λοίμωξη (Westerdahl και συν. 2013). Διαφοροποίηση της απόδοσης καθεμίας από τις τρεις αυτές ιδιότητες θα πρέπει να αποδοθεί είτε στο περιβάλλον διαβίωσης και στις οικολογικές συνήθειες του ξενιστή (Lazzaro & Little 2009, Schmid-Hempel & Ebert 2003) είτε στο γενετικό του υπόβαθρο (Košmrlj και συν. 2011, Råberg και συν. 2009, Savage & Zamudio 2011).

Όσον αφορά τον παράγοντα περιβάλλον, αξίζει να σημειωθεί ότι δεν αναφέρεται αποκλειστικά στις αβιοτικές συνθήκες που επικρατούν στην περιοχή διαβίωσης, αλλά και στις βιοτικές αλληλεπιδράσεις του ίδιου του ξενιστή μέσα σε αυτό. Συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί ότι το θερμικό προφίλ της περιοχής και η θερμική φυσιολογία του ζώου (Ardia 2005, Elliot και συν. 2003, Lazzaro και συν. 2008, Linder και συν. 2008), η τροφική διαθεσιμότητα του ενδαιτήματος και η οικολογία της διατροφής¹ (Fromont και συν. 2001, Lochmiller και συν. 1993, Norris & Evans 2000), καθώς και τα δημογραφικά στοιχεία του πληθυσμού και η κοινωνική συμπεριφορά των ατόμων του² (Combes 1995, Garrido & Pérez-Mellado 2013, Hasselquist 2007), μπορούν να οδηγήσουν σε σημαντικές αποκλίσεις στα ποσοστά έκθεσης και στην ανθεκτικότητα του ξενιστή σε παθογόνα παράσιτα. Πέραν των όσων αναφέρθηκαν, καθοριστικό ρόλο στην αντίσταση και ανθεκτικότητα του ζώου σε παθογόνα παράσιτα, διαδραματίζουν και οι χαρακτήρες ιστορίας-ζωής, όπως η

¹ Διατροφικό πρότυπο: Παραδείγματος χάριν, έχει αποδειχθεί ότι μια φυτοφαγική διαίτα οδηγεί σε συχνότερη έκθεση του ξενιστή σε παράσιτα, η οποία συνήθως συνοδεύεται και με αύξηση του παρασιτικού του φορτίου, ενώ μια διαίτα χαμηλή σε πρωτεΐνες μπορεί να επιφέρει σημαντική μείωση της απόδοσης της κυτταρομεσολαβούμενης ανοσολογικής απάντησης.

² Δημογραφικά στοιχεία: Με αυτόν τον όρο αναφερόμαστε στην πυκνότητα του πληθυσμού του ξενιστή. Έτσι, έχει αποδειχθεί ότι αύξηση της πυκνότητας ενός πληθυσμού, επιφέρει, συνήθως, συχνότερες και πιο έντονες κοινωνικές συμπεριφορές (ανταγωνισμός, ζευγάρωμα, κ.α.) μεταξύ των ατόμων του. Άμεση συνέπεια του τελευταίου, είναι η ευκολότερη και γρηγορότερη διάδοση των παρασίτων και των ασθενειών που αυτά μεταφέρουν, μέσα στον πληθυσμό.

απόδοση της αναπαραγωγής, η ενηλικίωση, κ.α. (Folstad & Karter 1992, Ilmonen *και συν.* 2000, Zuk & Stoehr 2002).

Ο δεύτερος παράγοντας που επίσης επηρεάζει τα επίπεδα ανοσολογικής απόκρισης, είναι το γενετικό υπόβαθρο του ζώου και συγκριμένα η γενετική ποικιλότητα και ο βαθμός πολυμορφισμού των MHC μορίων (Runemark 2012). Το σύστημα αυτό, συμμετέχει στην αναγνώριση ξένων πεπτιδίων και στην ενεργοποίηση της επίκτητης ανοσίας (Roitt 1997). Επομένως, μείωση της γενετικής του ποικιλότητας, μπορεί να επιφέρει σημαντική διαταραχή στην απόκριση της κυτταρικής ανοσίας (Alcaide *και συν.* 2010, Frankham 1997, Reid *και συν.* 2003, Whiteman *και συν.* 2006).

Στα νησιωτικά οικοσυστήματα το περιβάλλον και η γενετική ποικιλότητα των ζώων, παράγοντες που επηρεάζουν την ορθή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, συχνά αποκλίνουν από τους πληθυσμούς των μεγάλων ηπειρωτικών μαζών. Για το λόγο αυτό, δεν θα πρέπει να προξενεί εντύπωση το γεγονός, ότι η λειτουργία του μηχανισμού άμυνας και η αποτελεσματικότητα αντιμετώπισης παθογόνων μικροοργανισμών της νησιωτικής πανίδας, συχνά αποκλίνει από εκείνη της χέρσου (Alcaide *και συν.* 2010, De Belloq *και συν.* 2002, Matson 2006). Προηγούμενες μελέτες, που έγιναν σε πτηνά της οικογένειας Drepanididae (Hawaiian honeycreeper) και σε ορισμένους πληθυσμούς πτηνών των νησιών Galápagos, έχουν αποδείξει ότι η νησιωτική ορνιθοπανίδα, συγκρινόμενη με εκείνη των ηπειρωτικών μαζών, εμφανίζεται περισσότερο ευαίσθητη, σε συγκεκριμένες ασθένειες (Jarvi *και συν.* 2001, van Riper III & Scott 2001, Wikelski *και συν.* 2004).

Οι αιτίες της διαφοροποίησης της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος, μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών, είναι ακόμα και σήμερα ελάχιστα κατανοητές, καθώς μόλις πρόσφατα άρχισαν να διερευνώνται (Alcaide *και συν.* 2010, Lindström *και συν.* 2004, Scott *και συν.* 2001). Φαίνεται ωστόσο, ότι, σε αρκετές περιπτώσεις, οι αποκλίσεις αυτές αντιπροσωπεύουν μια πτυχή του Νησιωτικού Συνδρόμου (Adler & Levins 1994), όπου στις απλούστερες βιοκοινότητες των νησιών, οι μειωμένες διαειδικές αλληλεπιδράσεις (ξενιστή/παρασίτου, θηρευτή/θηράματος, ανταγωνιστικών ειδών) (Hochberg & Møller 2001, Steadman *και συν.* 1990, Super & Riper 1995) αποδυναμώνουν εκείνες τις εξελικτικές πιέσεις που ευνοούν τη διατήρηση της λειτουργίας του μηχανισμού άμυνας σε υψηλά επίπεδα (Jarvi *και συν.* 2001, Matson 2006, van Riper III & Scott 2001). Έτσι, η ενέργεια που θα εδωπανείτο για την ανάπτυξη, τη διατήρηση και λειτουργία ενός ισχυρού ανοσοποιητικού συστήματος (Hanssen *και συν.* 2004, Klasing *και συν.* 1987, Martin *και συν.* 2002, Råberg *και συν.* 1998), επενδύεται για άλλες ζωτικές

λειτουργίες του ξενιστή όπως η αναπαραγωγή και η ανάπτυξη (Lochmiller & Deerenberg 2000), ενώ το ίδιο φαίνεται να υπολειτουργεί.

Σε μικρότερο βαθμό, σε σχέση με τα όσα έχουν αναφερθεί μέχρι τώρα, οι διαφοροποιήσεις στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, μεταξύ διαφορετικών taxa, μπορούν να αντικατοπτρίζουν τα εξελικτικά οφέλη και κόστη που σχετίζονται με την ανάπτυξη και διατήρησή του (Sheldon & Verhulst 1996). Δύο κύριες συνιστώσες, που από εξελικτική σκοπιά μπορούν να εξηγήσουν τη διαφοροποίηση αυτή, αφορούν το χρόνο έκθεσης σε δεδομένα παθογόνα παράσιτα και τη φύση των αλληλεπιδράσεων ξενιστή-παρασίτου. Έτσι, η μακροπρόθεσμη έκθεση ενός ξενιστή σε ένα συγκεκριμένο στέλεχος/taxon παθογόνου παρασίτου, ενισχύει το όφελος του ζώου για την παραγωγή ειδικών αντισωμάτων και κυτταρικών αποκρίσεων (επίκτητη ανοσία). Ωστόσο, το ίδιο το ζώο μπορεί να είναι ευπαθές έναντι άλλων παθογόνων taxa (Gasparini και συν. 2001, Schmid-Hempel & Ebert 2003). Αντίθετα, η βραχυπρόθεσμη έκθεση σε μεμονωμένα στελέχη, καθώς και οι μακροχρόνιες αλληλεπιδράσεις του ξενιστή με πληθώρα διαφορετικών παθογόνων παρασίτων, οδηγούν σε ενίσχυση του φυσικού σκέλους της ανοσίας (Lindström και συν. 2004, Rynkiewicz και συν. 2013).

Από όλα τα παραπάνω και σε συνάρτηση με την υπάρχουσα βιβλιογραφία, προκύπτει ότι προκειμένου να κατανοήσουμε τον τρόπο λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος, είναι απαραίτητη η μελέτη της συνδυασμένης δράσης δύο παραγόντων: (α) του γονοτύπου του ξενιστή (γενετική ποικιλότητα του MHC) (Hochberg & Møller 2001, Rynkiewicz και συν. 2013) και (β) των συνθηκών που επικρατούν στο περιβάλλον διαβίωσης του ζώου (βιοτικές και φυσικές αλληλεπιδράσεις).

4.1.1. Γενετικό υπόβαθρο, παρασιτισμός και ανοσολογική απόκριση

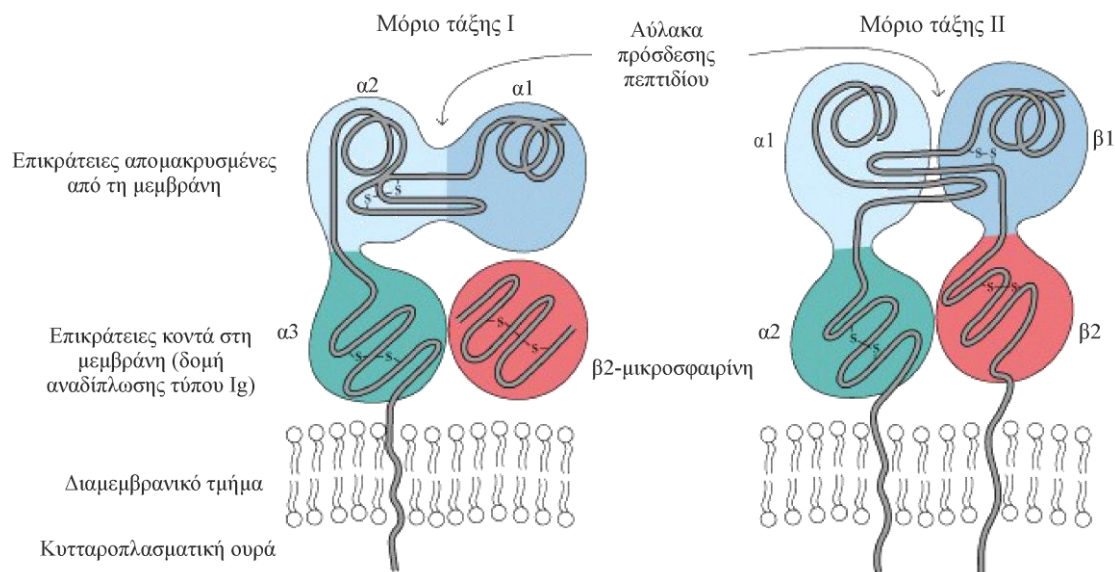
Σημαντικό μέρος της ετερογένειας της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος, όσον αφορά την εξειδίκευση και αποτελεσματικότητά του, οφείλεται στο γενετικό υπόβαθρο του ξενιστή (Bonneaud και συν. 2005, Lazzaro & Little 2009, Messaoudi και συν. 2002). Όπως ήδη αναφέρθηκε, η αντίσταση και η ευαισθησία των ερπετών και γενικότερα των σπονδυλωτών σε παθογόνα παράσιτα, καθώς και η ανάπτυξη αυτοανοσίας, καθορίζονται, σε μεγάλο βαθμό, από τον απλότυπο και τον βαθμό πολυμορφισμού του MHC (Benacerraf & McDevitt 1972, Edwards & Hedrick 1998, Hedrick & Kim 2000).

Η πολυγονιδιακή οικογένεια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας στα σπονδυλωτά κωδικοποιεί για γλυκοπρωτεΐνες της κυτταρικής επιφάνειας, ενώ είναι το περισσότερο πολυμορφικό σύμπλεγμα γονιδίων των σπονδυλωτών (Garrigan & Hedrick 2003). Η σημασία των MHC μορίων έγκειται στο ρόλο που διαδραματίζουν στην ενεργοποίηση της επίκτητης ανοσίας (Roitt 1997), μέσω της παρουσίας ξένων πεπτιδίων στα T κύτταρα (Klein 1986, Morrison και συν. 1986) και στη διακυτταρική αναγνώριση των μορίων του ιδίου του οργανισμού και στη διάκρισή τους από ξένα μόρια. Με άλλα λόγια, διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην επίκτητη ανοσία, συμμετέχοντας στην ανάπτυξη τόσο των χυμικών όσο και κυτταρομεσολαβητικών ανοσολογικών αποκρίσεων (Klein 1986, Piertney & Oliver 2006).

Στην πλειονότητα των σπονδυλωτών (ερπετά, θηλαστικά και πτηνά), τα γονίδια του MHC οργανώνονται σε περιοχές, που κωδικοποιούν για τρεις τάξεις μορίων: (α) τα γονίδια MHC τάξης I, που εκφράζονται στην επιφάνεια όλων των εμπύρηνων κυττάρων (**εικόνα 4.1**), (β) τα γονίδια MHC τάξης II, που εκφράζονται κυρίως στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (**εικόνα 4.1**) και (γ) τα γονίδια MHC τάξης III, που κωδικοποιούν εκκριτικές πρωτεΐνες με ανοσολογικές λειτουργίες, όπως συστατικά του συστήματος του συμπληρώματος που σχετίζονται με τη φλεγμονή (Campbell & Trowsdale 1993, Hedrick και συν. 1987, Hughes & Yeager 1998b). Από αυτές τις τρεις τάξεις, μόνο τα MHC μόρια τάξης I και II παρουσιάζουν πεπτιδικά αντιγόνα στα T λεμφοκύτταρα (Morrison και συν. 1986). Τα πρώτα, τα οποία εκφράζονται στην επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης όλων των εμπύρηνων κυττάρων, συμμετέχουν στην αναγνώριση ενδογενών αντιγόνων από τα T-κυτταροτοξικά κύτταρα (CD8⁺) (Zinkernagel & Doherty 1974). Αντίθετα, τα MHC τάξης II εκφράζονται στην επιφάνεια των B-λεμφοκυττάρων και συμμετέχουν στην αναγνώριση εξωγενών αντιγόνων από τα T-βοηθητικά (CD4⁺) και T-ρυθμιστικά/κατασταλτικά (Rosenthal & Shevach 1973). Ο υποδοχέας των T λεμφοκυττάρων (TCR) μπορεί να αναγνωρίσει ένα αντιγόνο μόνο εάν αυτό παρουσιάζεται από ένα εαυτό MHC μόριο (εαυτός-MHC περιορισμός, self-MHC restriction).

Με βάση τα παραπάνω, γίνεται σαφές ότι ο MHC γονότυπος μπορεί να επηρεάσει, τόσο την ικανότητα του ξενιστή να ελέγξει μια λοίμωξη (Savage & Zamudio 2011, Wedekind και συν. 2005, Westerdahl και συν. 2013) όσο και την ικανότητά του για ίαση (Bensch και συν. 2009, Bonneaud και συν. 2005). Μείωση της γενετικής ποικιλότητας των MHC μορίων ενός taxon, μπορεί να προδιαθέσει το taxon αυτό έναντι μολυσματικών ασθενειών (Bollmer και συν. 2011a, Bollmer και συν. 2007), ενώ αντίθετα, αύξηση της γενετικής ποικιλότητας οδηγεί στην ανάπτυξη ποικίλων αντιγονοπαρουσιαστικών

κυττάρων και, συνεπακόλουθα, καλύτερη ανοσολογική απόκριση (Bonneau και συν. 2005, Wegner και συν. 2003b).



Εικόνα 4.1. Σχηματική απεικόνιση των MHC μορίων τάξης I και τάξης II στα θηλαστικά, που δείχνει τις εξωτερικές επικράτειες, το διαμεμβρανικό τμήμα και την κυτταροπλασματική ουρά. Η αύλακα πρόσδεσης του πεπτιδίου δημιουργείται από τις απομακρυσμένες από την κυτταρική μεμβράνη επικράτειες, τόσο στα τάξης I όσο και στα τάξης II μόρια. Οι κοντινές στη μεμβράνη επικράτειες έχουν τη βασική ανοσοσφαιρινική δομή. Έτσι, τα MHC μόρια τάξης I και τάξης II κατατάσσονται στα μέλη της υπεροικογένειας των ανοσοσφαιρινών. **(Α)** Τα MHC μόρια τάξης I αποτελούνται από μια α -αλυσίδα, η οποία συνδέεται μη ομοιοπολικά με ένα μόριο β_2 -μικροσφαιρίνης. Η α -αλυσίδα οργανώνεται σε τρεις εξωτερικές επικράτειες ($\alpha 1$, $\alpha 2$ και $\alpha 3$). Η β_2 -μικροσφαιρίνη δεν διαθέτει διαμεμβρανικό τμήμα και είναι μη ομοιοπολικά συνδεδεμένη με την $\alpha 3$ επικράτεια. Οι επικράτειες $\alpha 1$ και $\alpha 2$ αλληλεπιδρούν μεταξύ τους σχηματίζοντας μια πλατφόρμα από οκτώ αντιπαράλληλους β -κλώνους που εκτείνονται μεταξύ δύο μακρών τμημάτων α -έλικας. **(Β)** Τα MHC μόρια τάξης II αποτελούνται από δύο διαφορετικές πολυπεπτιδικές αλυσίδες, μια α -αλυσίδα και μια β -αλυσίδα, που συνδέονται μεταξύ τους με μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις. Κάθε αλυσίδα σε ένα μόριο τάξης II περιέχει δύο εξωτερικές περιοχές: τις επικράτειες $\alpha 1$ και $\alpha 2$ στη μια αλυσίδα, και τις επικράτειες $\beta 1$ και $\beta 2$ στην άλλη αλυσίδα. Το απομακρυσμένο από τη μεμβράνη τμήμα των μορίων τάξης II αποτελείται από τις επικράτειες $\alpha 1$ και $\beta 1$ και δημιουργεί την αύλακα πρόσδεσης του επεξεργασμένου αντιγόνου. Η εικόνα προέρχεται από το βιβλίο των Goldsby και συν. (2002).

Ανατρέχοντας κάποιος στη σύγχρονη βιβλιογραφία μπορεί να διαπιστώσει ότι μια σειρά από μελέτες έχουν αποδείξει ότι συγκεκριμένα αλληλόμορφα γονίδια, και όχι ο υψηλός βαθμός πολυμορφισμού, είναι εκείνα που μπορούν να εξασφαλίσουν ικανή ανοσοαπόκριση και αντίσταση ενός ζώου (ερπετό, θηλαστικό, πτηνό, ιχθύς) σε δεδομένες ασθένειες (Bonneaud και συν. 2005, Hill και συν. 1991, Langefors και συν. 1998, Lohm και συν. 2002, Meyer & Thomson 2001, Thursz και συν. 1995, Westerdahl και συν. 2013).

Το γεγονός αυτό σημαίνει ότι οργανισμοί με μικρό βαθμό MHC πολυμορφισμού μπορούν επίσης να παρουσιάζουν υψηλή κυτταρική ανοσολογική απόκριση (Boer & Perelson 1993, Wegner και συν. 2003a). Σύμφωνα με τα παραπάνω προκύπτει λοιπόν το ερώτημα: Πόσο πολυμορφικό μπορεί και/ή πρέπει να είναι το MHC σύστημα ενός ζώου, ώστε να εξασφαλίζεται ότι, ουσιαστικά, όλα τα παθογόνα ή τουλάχιστον η πλειονότητα αυτών θα αναγνωρίζονται από τουλάχιστον έναν κλώνο λεμφοκυττάρων;

4.1.1.1. Προέλευση και διατήρηση της γενετικής ποικιλότητας των MHC μορίων

Η προέλευση και η διατήρηση της γενετικής ποικιλότητας λειτουργικών γονιδίων σε φυσικούς πληθυσμούς ζώων και ο ρόλος των πιέσεων επιλογής σε αυτά, αποτελούν βασικούς άξονες έρευνας της εξελικτικής οικολογίας, που έχουν κεντρίσει το ενδιαφέρον πολλών επιστημών (De Eyto και συν. 2007, Hughes & Yeager 1998a, Klein & Figueroa 1986). Κλασικό παράδειγμα τέτοιων γονιδίων, αποτελεί η πολυγονιδιακή οικογένεια του MHC. Το σημαντικότερο χαρακτηριστικό της ομάδας γονιδίων του MHC είναι η γενετική της πολυπλοκότητα. Λαμβάνοντας σαν μοντέλο τα θηλαστικά, είναι γνωστό ότι τα γονίδια του MHC οργανώνονται σε πολλαπλούς, στενά συνδεδεμένους, γονιδιακούς τόπους, παρόμοιας δομής και λειτουργίας, κατά μήκος ενός μικρού τμήματος στο χρωμόσωμα, ενώ καθένας από τους τόπους αυτούς παρουσιάζει εκτεταμένο πολυμορφισμό (Garrigan & Hedrick 2003). Ο πολυμορφισμός των MHC μορίων είναι εξαιρετικής σημασίας για την κατανόηση των εξελικτικών μηχανισμών που δρουν στο γενετικό επίπεδο οργάνωσης, μια και είναι σημαντικά μεγαλύτερος από εκείνον που έχει καταγραφεί στις υπόλοιπες περιοχές του γονιδιώματος (Robinson και συν. 2000) και μπορεί να εκδηλωθεί, είτε με αύξηση του αριθμού των αλληλομόρφων γονιδίων ανά γονιδιακό τόπο (όπως παραδείγματος χάριν τα ανθρώπινα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας: HLA-A, B, DRB, <http://www.ebi.ac.uk/IMGT/HLA/stats.html>) είτε ως παρουσία μεγάλου αριθμού, πρόσφατα διπλασιασμένων και πιθανώς λειτουργικών, γονιδιακών τόπων (Bowen και συν. 2004, Otting και συν. 2005, Zagalska-Neubauer και συν. 2010).

Η κατανόηση των αιτιών και των δυνάμεων επιλογής, που δρουν για τη διατήρηση του εκτεταμένου βαθμού πολυμορφισμού των MHC μορίων (Edwards & Hedrick 1998, Klein & Figueroa 1986, Osborne και συν. 2013) και του υψηλού λόγου μη-συνώνυμων (d_N) προς συνώνυμων (d_S) αντικαταστάσεων βάσεων κατά μήκος των MHC αλληλουχιών (Garrigan & Hedrick 2003, Nei & Gojobori 1986), έχει αποτελέσει σημαντικό πεδίο έρευνας στις επιστήμες της οικολογίας και της εξέλιξης (Milinski 2006, Piertney & Oliver

2006, Sommer 2005b). Με αφετηρία αυτούς τους προβληματισμούς για την ερμηνεία των δύο παραπάνω φαινομένων έχουν διατυπωθεί πληθώρα υποθέσεων και μηχανισμών, με επικρατέστερη εκείνη της δράσης της σταθεροποιούσας επιλογής (balancing selection)¹ (Edwards & Hedrick 1998, Hedrick & Thomson 1983).

Ο μηχανισμός της σταθεροποιούσας επιλογής μπορεί να εμφανιστεί με δύο διαφορετικές μορφές: (α) την επικρατούσα (overdominant selection) (Doherty & Zinkernagel 1975) και (β) την εξαρτώμενη από την συχνότητα επιλογή (frequency-dependent selection, «minority advantage», Takahata & Nei 1990). Κάθε μια από τις πιέσεις αυτές οδηγεί σε αύξηση της διαφοροποίησης του ρεπερτορίου των περιφερειακών Τ-λεμφοκυττάρων, προσδίδοντας σημαντικό πλεονέκτημα στην αντιμετώπιση παθογόνων μικροοργανισμών και, κατά συνέπεια, στη γενικότερη επιβίωση του ζώου (Dyall και συν. 2000). Στην πρώτη περίπτωση, της επικρατούσας επιλογής, έχειδειχθεί ότι ευνοούνται τα ετερόζυγα άτομα για ένα γονιδιακό τόπο, καθώς εκείνα αποκτούν πλεονέκτημα έναντι των ομόζυγων ατόμων. Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι ορισμένα αλληλόμορφα γονίδια, όταν βρεθούν σε ομόζυγη κατάσταση, παρουσιάζουν θετική επιλογή για κλώνους αυτοδραστικών CD4⁺ Τ κυττάρων², με άμεση συνέπεια την ελάττωση της αρμοστικότητας του ζώου μέσα στο περιβάλλον διαβίωσης (Doherty & Zinkernagel 1975, Gemmell & Slate 2006). Η δεύτερη μορφή σταθεροποιούσας επιλογής, η εξαρτώμενη από τη συχνότητα επιλογή, οδηγείται από τα επιλεκτικά πλεονεκτήματα, που προσδίδουν νέα ή σπάνια αλληλόμορφα στον πληθυσμό. Έτσι, αλληλόμορφα γονίδια ενός δεδομένου γονιδιακού τόπου που εμφανίζονται σε μικρή συχνότητα στην πληθυσμιακή δεξαμενή, μπορούν να προσδώσουν μεγαλύτερη προστασία σε ένα ζώο έναντι των κοινών παθογόνων. Το γεγονός αυτό αποδίδεται στη δυναμική σχέση ξενιστή-παρασίτου (πίεση των παθογόνων μικροοργανισμών και μηχανισμός συνεξέλιξης³) (Hedrick 2002), η οποία αποτελεί έναν από τους βασικότερους μηχανισμούς διατήρησης της γενετικής

¹ Σταθεροποιούσα ή εξισορροπούσα πίεση επιλογή (balancing selection): Αποτελεί έναν τύπο φυσικής επιλογής, κατά την οποία η συχνότητα των ακραίων φαινοτύπων μειώνεται, ενώ ευνοούνται οι μέσοι φαινότυποι ενός πληθυσμού. Υπάρχουν άλλοι δύο τύποι φυσικής επιλογής η διασπαστική επιλογή ή διαφοροποιούσα, όπου ευνοούνται τα άτομα που βρίσκονται στα δύο άκρα της ποικιλομορφίας, προκαλώντας ασυνέχεια σε αυτή και η κατευθύνουσα επιλογή, όπου τείνει να ευνοεί φαινότυπους του ενός άκρου της σειράς ποικιλομορφίας (βλ. κεφάλαιο 1, Εισαγωγή).

² Αυτοδραστικά CD4⁺ Τ κύτταρα: Αποτελούν παρεκκλίνουσες «εκδόσεις» Τ-λεμφοκυττάρων που αναγνωρίζουν λανθασμένα τα κύτταρα του σώματος ως ξένα και επιτίθενται σε αυτά σαν να πρόκειται για κάποιο ξένο μόριο προκαλώντας αυτοανοσία. Τα κύτταρα αυτά ξεφεύγουν από τους μηχανισμούς ελέγχου και από τη διαδικασία της αρνητικής επιλογής. Τα Τ και Β λεμφοκύτταρα «εκπαιδεύονται» κατά το πρώτο στάδιο ανάπτυξης τους στο θύμο αδένα και στο μυελό των οστών, αντίστοιχα, έτσι ώστε να μην ενεργοποιούνται έναντι στοιχείων του ίδιου του οργανισμού (κεντρική ανοχή). Εκτός από την κεντρική ανοχή, παρόμοιοι μηχανισμοί υπάρχουν και στην περιφέρεια, δηλαδή στα δευτερογενή λεμφικά όργανα και συνιστούν την περιφερική ανοχή. Μέσω αυτών των δύο μηχανισμών, τα κύτταρα που έχουν την ειδικότητα/προδιάθεση να επιτίθενται έναντι του εαυτού, αναγνωρίζονται, εξουδετερώνονται ή αδρανοποιούνται.

³ Συνεξέλιξη: Ο όρος συνεξέλιξη χρησιμοποιείται για περιγράψει περιπτώσεις όπου δύο (ή περισσότερα) είδη επηρεάζουν αμοιβαία το ένα την εξέλιξη του άλλου. Η συνεξέλιξη είναι πιθανόν να συμβεί όταν διαφορετικά είδη έχουν στενές οικολογικές αλληλεπιδράσεις το ένα με το άλλο. Αυτές οι οικολογικές σχέσεις μπορούν να αφορούν τη σχέση θηρευτή/θήραμα, παράσιτο/ξενιστής, ανταγωνιστικά είδη, κ.α.

ποικιλότητας του MHC, σε φυσικούς πληθυσμούς ζώων (Bonneaud και συν. 2006b, Eizaguirre και συν. 2011, Ekblom και συν. 2007, Milinski 2006, Sommer 2005b). Ως εκ τούτου, όταν η συχνότητα ενός αλληλομόρφου γονιδίου αυξάνεται, η αρμοστικότητά του ελαττώνεται, ευνοώντας τον εναλλακτικό, σπάνιο, γονότυπο (Borghans και συν. 2004, Takahata & Nei 1990). Από τα παραπάνω φαίνεται ότι η εξαρτώμενη από την συχνότητα επιλογή μπορεί να διευκολύνει φαινόμενα όπως η γονιδιακή ροή, επειδή τα αλληλόμορφα εκείνα που προέρχονται από εισχώρηση γονιδιώματος είναι σπάνια και ως εκ τούτου, μπορεί να ευνοηθούν από πιέσεις επιλογής (Barton 2001).

Πρόσφατες μελέτες αποδεικνύουν ωστόσο ότι, παρά την πίεση της σταθεροποιούσας επιλογής για τη διατήρηση του εκτεταμένου πολυμορφισμού του MHC, η γενετική ποικιλότητα των μορίων αυτών μπορεί επίσης να επηρεαστεί αρνητικά από ορισμένους δημογραφικούς παράγοντες. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι μικροί, γεωγραφικά απομονωμένοι, πληθυσμοί ενός taxon, όπως εκείνοι των νησιών ή πληθυσμοί που έχουν υποστεί εξελικτική στενωπό (bottle-neck effect)¹ (Radwan και συν. 2010, Ujvari & Belon 2011), έχουν συνήθως σημαντικά ελαττωμένη ποικιλότητα στα MHC γονίδια. Το τελευταίο γεγονός, πρέπει να αποδοθεί στην επίδραση τουλάχιστον δύο γενετικών μηχανισμών εξέλιξης που δρουν στους πληθυσμούς αυτούς: τη μειωμένη γονιδιακή ροή, και τη τυχαία γενετική παρέκκλιση².

Από τις μέχρι τώρα μελέτες, φαίνεται ότι ο σχετικός ρόλος της φυσικής επιλογής έναντι της γενετικής παρέκκλισης και, συνεπακόλουθα, της γονιδιακής ροής, στην εξέλιξη του MHC συστήματος δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητός (Aguilar και συν. 2004, Alcaide 2010, Miller και συν. 2010, αλλά βλ. και Niskanen και συν. 2014, Osborne και συν. 2013, που απέδειξαν ότι παρά το μικρό μέγεθος πληθυσμού η πίεση της σταθεροποιούσας επιλογής σε ορισμένα taxa υπερισχύει εκείνης της γενετικής παρέκκλισης, με αποτέλεσμα τη σημαντικά υψηλή γενετική ποικιλότητα των MHC γονιδίων). Παρ' όλα αυτά, έχει δειχθεί ότι κάθε ένας από τους δύο τελευταίους εξελικτικούς μηχανισμούς μπορεί να δράσει με διαφορετική χρονική διάρκεια και ένταση, επηρεάζοντας διαφορετικά τη γενετική ποικιλότητα (Nadachowska-Brzyska και συν. 2012, Piertney & Oliver 2006, Radwan και συν. 2010). Για το λόγο αυτό, πληθυσμιακές μελέτες σε taxa με μεγάλη γεωγραφική εξάπλωση φαίνεται να είναι ιδιαίτερα χρήσιμες, καθότι

¹ Φαινόμενο εξελικτικής στενωπού (bottleneck effect): Η πληθυσμιακή στενωπός είναι η δραστική μείωση του μεγέθους ενός πληθυσμού εξαιτίας περιβαλλοντικών συνθηκών, όπως ξηρασία, φωτιά, σεισμοί, κ.α., ή λόγω ανθρώπινων παρεμβάσεων. Ωστόσο, η μεγάλη απώλεια των ατόμων του πληθυσμού έχει άμεση επίπτωση στη γονιδιακή δεξαμενή του, η οποία πλέον θα παρουσιάζει μικρότερη ποικιλία αλληλομόρφων, οδηγώντας σε μια μορφή γενετικής στενωπού.

² Γενετική παρέκκλιση: Η τυχαία (δεν οφείλεται σε φυσική επιλογή) αλλαγή της συχνότητας των αλληλομόρφων γονιδίων σε μικρού μεγέθους πληθυσμούς (μικρή γονιδιακή δεξαμενή) από γενεά σε γενεά. Η γενετική παρέκκλιση μαζί με τη φυσική επιλογή, τη μεταλλαγή και τη μετανάστευση αποτελούν τους βασικούς μηχανισμούς της εξέλιξης.

μπορούν να προσφέρουν σημαντικά στην κατανόηση για τον τρόπο/μηχανισμό, με τον οποίον διατηρείται η υψηλή γενετική ποικιλότητα των MHC μορίων. Ο ρόλος άλλων γενετικών μηχανισμών, όπως της μεταλλαγής, της γονιδιακής αναστροφής, και του ανασυνδυασμού, στη διατήρηση και εξέλιξη της γενετικής ποικιλότητας του MHC, είναι ακόμη αβέβαιος και λίγο μελετημένος (Castro-Prieto και συν. 2011, Richman και συν. 2003) και, επομένως, η ανάγκη για περαιτέρω έρευνα κρίνεται απαραίτητη.

Πέραν των γενετικών και δημογραφικών μηχανισμών, που περιγράφηκαν έως τώρα, πρόσφατες έρευνες υποστηρίζουν ότι στη διαμόρφωση του MHC γονότυπου, σε ορισμένα taxa, μεγάλο μέρος της γενετικής ποικιλότητας αυτών των μορίων οφείλεται στη διαδικασία επιλογής συντρόφου (Penn 2002b, Sommer 2005a). Έχει αποδειχθεί ότι τα θηλυκά άτομα επιλέγουν τον σύντροφό τους βάσει του γονότυπου του MHC, δείχνοντας προτίμηση για ετεροζυγώτες (Bonneaud και συν. 2006a, Doherty & Zinkernagel 1975, Landry και συν. 2001, McClelland και συν. 2003), ενώ αποφεύγουν εκείνα τα αρσενικά με τα οποία έχουν παρόμοια MHC αλληλόμορφα (Freeman-Gallant και συν. 2003, Penn & Potts 1998, Potts και συν. 1991). Άμεση συνέπεια του τελευταίου, είναι ότι οι απόγονοι τους παρουσιάζουν αυξημένη ποικιλότητα και διαφοροποίηση στα MHC γονίδια.

Παρόλο που η πίεση της φυσικής επιλογής μπορεί να δράσει στους MHC γονιδιακούς τόπους, ακόμα και για σύντομες χρονικές περιόδους, όπως για μερικές δεκάδες χρόνια, η επίδρασή της σε αυτούς μπορεί να ανιχνευτεί, μέσω των προτύπων γενετικής διαφοροποίησης, ακόμη και ύστερα από εκατομμύρια χρόνια (Garrigan & Hedrick 2003). Η επίδραση αυτή, συχνά, μπορεί να αποτυπωθεί στην ασυμφωνία του φυλογενετικού γονιδιακού δέντρου του MHC με το φυλογενετικό δέντρο των ειδών (κατασκευάζεται από ουδέτερους γενετικούς δείκτες) και συμφωνεί με τη θεωρία της διαμέσου των ειδών εξέλιξης (Klein 1989, Klein και συν. 1998). Σύμφωνα με την τελευταία θεωρία, οι MHC αλληλουχίες ενός taxon είναι περισσότερο όμοιες με εκείνες ενός άλλου συγγενικού του taxon, παρά με εκείνες που προέρχονται από την ίδια βιολογική ταξινομική μονάδα. Ο διαμέσου των ειδών πολυμορφισμός έχει παρατηρηθεί ευρέως στα θηλαστικά, συμπεριλαμβανομένων των πρωτευόντων (Go και συν. 2002, Huchard και συν. 2006, Luo & Pan 2013, Yao και συν. 2013), ενώ μόλις πρόσφατα επιβεβαιώθηκε και σε άλλες ομάδες ζώων, όπως στα γλαυκόμορφα (Τάξη: Strigiformes, Οικογένειες: Strigidae και Tytonidae) (Burri και συν. 2008), στην τάξη Κροκοδείλια (Alligatoridae, Crocodylidae και Gavialidae) (Jaratlerdsiri και συν. 2012, Jaratlerdsiri και συν. 2014), στα ωδικά πτηνά (*Acrocephalus* sp.) (Richardson & Westerdahl 2003) και στα Αμφίβια (τρίτωνες, *Lissotriton* sp.) (Nadachowska-Brzyska και συν. 2012). Όσον αφορά

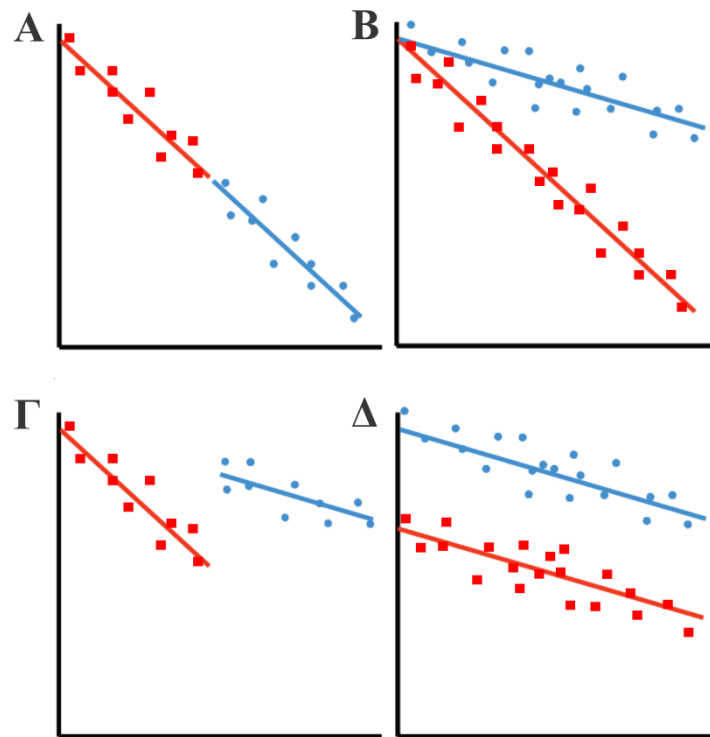
τα ερπετά, αν και τα ίδια θεωρούνται «οργανισμοί-πρότυπα» για μελέτες φυλογεωγραφίας και εξελικτικής οικολογίας (Camargo και συν. 2010), τα διαθέσιμα στοιχεία για την προέλευση και τη διατήρηση της γενετικής ποικιλότητας των MHC γονιδίων, είναι εξαιρετικά λίγα και περιορίζονται αποκλειστικά στα γένη *Iguana* (Iguanidae) (Glaberman & Caccone 2008b, Glaberman και συν. 2009) και *Sphenodon* (tuatara, Sphenodontidae) (Miller και συν. 2010, Miller και συν. 2008, Oliver & Pierny 2012), ενώ ουδεμία μελέτη έχει μέχρι σήμερα πραγματοποιηθεί σε Lacertidae, τα οποία, όπως ήδη αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 2, αποτελούν την επικρατέστερη ομάδα ερπετών στο χώρο της Ευρώπης - περιλαμβάνουν το 75% των ειδών της ευρωπαϊκής ερπετοπανίδας (Arnold 1987).

4.1.2. Σχέση ξενιστή-παρασίτου και ανοσολογική απόκριση

Τα παθογόνα παράσιτα (ενδο- και εξω-) μπορούν να επιφέρουν μια σειρά σημαντικών αλλαγών στη λειτουργία και απόδοση του ανοσοποιητικού συστήματος, μειώνοντας τα επίπεδα ανοσολογικής απόκρισης του ξενιστή (Pitala και συν. 2009), με δύο τρόπους: (α) απορροφώντας πόρους και ενέργεια από αυτόν (Potti και συν. 1999) και (β) επηρεάζοντας τη ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων που συμμετέχουν στον μηχανισμό άμυνας (Schoeler & Wikel 2001). Συνεπώς, η μελέτη της επίδρασης των παθογόνων παρασίτων στον τρόπο λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος, μας επιτρέπει να αποσαφηνίσουμε τις ευρύτερες οικολογικές συνέπειες της σχέσης αυτής (Bradley & Jackson 2008, Hawley & Altizer 2011, Pedersen & Fenton 2007, Råberg και συν. 2007), αλλά και να κατανοήσουμε τις εξελικτικές διαδικασίες που δρουν, μέσω των παθογόνων παρασίτων, στο μηχανισμό άμυνας (Reid και συν. 2003).

Για την κατανόηση της παραπάνω σχέσης έχουν προταθεί αρκετές υποθέσεις, με επικρατέστερη εκείνη των Simms & Triplett (1994), που προέρχεται από τη μελέτη της παθολογίας των φυτών (Fornoni και συν. 2004, Puustinen και συν. 2004). Η υπόθεση αυτή, που μόλις πρόσφατα άρχισε να εφαρμόζεται σε φυσικούς πληθυσμούς θηλαστικών και πτηνών (Bordes και συν. 2012, Råberg και συν. 2009, Råberg και συν. 2007), υποστηρίζει ότι ο ξενιστής μπορεί να υιοθετήσει δύο διακριτές στρατηγικές άμυνας ενάντια σε παθογόνους μικροοργανισμούς (εικόνα 4.2). Η πρώτη αναφέρεται στην αντίσταση (resistance) (Baucom & de Roode 2011, Råberg και συν. 2007) και είναι η ικανότητα ενός ζώου να αντιμετωπίζει τους παθογόνους μικροοργανισμούς, μειώνοντας το παρασιτικό του φορτίο (δηλαδή τον αριθμό παθογόνων παρασίτων ανά άτομο) και περιορίζοντας

παράλληλα την εξάπλωση τους στον πληθυσμό. Η δεύτερη στρατηγική άμυνας στην παρασιτική λοίμωξη, σε αντίθεση με την πρώτη, ως στόχο έχει τον περιορισμό των βλαβερών επιπτώσεων, που μπορούν να προκληθούν από τα παθογόνα παράσιτα στο ίδιο το ζώο, χωρίς την ταυτόχρονη μείωση του παρασιτικού του φορτίου, αλλά ούτε και του αριθμού των παθογόνων παρασίτων στον πληθυσμό. Η στρατηγική αυτή αναφέρεται ως ανοχή (tolerance) (Råberg και συν. 2009, Råberg και συν. 2007, Schneider & Ayres 2008).



Εικόνα 4.2. Σχηματική απεικόνιση των προτύπων ανοσολογικής απόκρισης δύο διακριτών γονότυπων/πληθυσμών/taxa (κλειστά τετράγωνα με κόκκινη γραμμή και κλειστοί κύκλοι με μπλε γραμμή) κατά μήκος μιας κλίμακας επιπέδων μόλυνσης. **(Α)** Οι δύο γονότυποι/πληθυσμοί/taxa είναι εξίσου ανεκτικοί, αλλά διαφέρουν ως προς το βαθμό αντίστασης σε παράσιτα. Συγκεκριμένα, ο κόκκινος γονότυπος/πληθυσμός/taxon έχει μικρότερο παρασιτικό φορτίο, δηλαδή είναι περισσότερο ανθεκτικός στην αύξηση του αριθμού των παρασίτων και, επομένως, η φυσική του κατάσταση παραμένει υψηλή ύστερα από έκθεση σε παράσιτα. **(Β)** Οι δύο γονότυποι/πληθυσμοί/taxa είναι εξίσου ανθεκτικοί, αλλά διαφέρουν στο βαθμό ανοχής, με τον κόκκινο γονότυπο/πληθυσμό/taxon να είναι λιγότερο ανεκτικός (τα επίπεδα φυσικής κατάστασης μειώνονται πιο γρήγορα με την παράλληλη αύξηση του παρασιτικού φορτίου). **(Γ)** Οι δύο γονότυποι/πληθυσμοί/taxa διαφέρουν αφενός στα επίπεδα ανθεκτικότητας και αφετέρου στο βαθμό ανοχής, με τον μπλε γονότυπο/πληθυσμό/taxon να είναι λιγότερο ανθεκτικός, με αποτέλεσμα οι πληθυσμοί αυτοί σε μια ενδεχόμενη μόλυνση να παρουσιάζουν παρόμοια ελάττωση της φυσικής τους κατάστασης. **(Δ)** Οι δύο γονότυποι/πληθυσμοί/taxa δεν διαφέρουν ούτε όσον αφορά τα επίπεδα ανθεκτικότητας (παρόμοιο παρασιτικό φορτίο) ούτε τα επίπεδα ανοχής (ίδια κλίση της καμπύλης παλινδρόμησης). Η εικόνα αποτελεί ανακατασκευή από την εργασία των Råberg και συν. (2007). Ο άξονας των x απεικονίζει την αντίσταση στα παράσιτα και ο άξονα των y την ανοχή.

Παρ' όλο που και οι δύο αυτές στρατηγικές άμυνας έχουν ως πρωταρχικό στόχο τη διατήρηση της υγείας και τη βελτίωση της αρμοστικότητας του ξενιστή στο περιβάλλον, είναι σημαντικό να διαχωρίσουμε τον τρόπο με τον οποίο εκείνες το επιτυγχάνουν. Σε αντίθεση με την ανοχή, η αντίσταση επιφέρει σημαντικές επιπτώσεις, τόσο στον πληθυσμό των παρασίτων όσο και στον ίδιο τον ξενιστή (Råberg και συν. 2009). Συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί ότι η αντίσταση είναι μια ενεργειακά δαπανηρή διαδικασία, η οποία περιορίζει άλλες ζωτικές λειτουργίες του ζώου, όπως την αναπαραγωγή και την ανάπτυξη (θεωρία των trades-off, βλ. σελ. 11) (Lochmiller & Deerenberg 2000). Επιπλέον, είναι γνωστό ότι, λόγω των υψηλών επιπέδων απόκρισης που παρουσιάζει το ανοσοποιητικό σύστημα, μπορεί να προκαλέσει και επαγωγή αυτοάνοσων αποκρίσεων (Graham και συν. 2010, Limaye και συν. 2008). Συνεπώς, η στρατηγική αυτή αναμένεται να ευνοείται από τη πίεση φυσικής επιλογής μόνο όταν το κόστος της υπερκαλύπτεται από τα οφέλη της (Råberg και συν. 2007). Στην αντίθετη περίπτωση, όταν δηλαδή ο ξενιστής ακολουθεί τη στρατηγική της ανοχής, η αρμοστικότητα του ζώου παραμένει υψηλή, παρά τις «βλάβες» που μπορούν να προκληθούν από τα παράσιτα (Stowe και συν. 2000), δηλαδή το ζώο είναι περισσότερο ανεκτικό στην αύξηση του παρασιτικού του φορτίου. Με βάση τα παραπάνω, γίνεται σαφές ότι κάθε μια από τις δύο αυτές στρατηγικές άμυνας επιδρά διαφορετικά στην οικολογία του ζώου και την εξέλιξη της σχέσης ξενιστή-παρασίτου (Fineblum & Rausher 1995, Råberg και συν. 2007, Roy & Kirchner 2000), με την ανοχή να περιορίζει την ανταγωνιστική συνεξέλιξη αυτών των δύο, σε αντίθεση με την αντίσταση που την ενισχύει (Rausher 2001).

4.1.3. Υποθέσεις και ερωτήματα κεφαλαίου

Για τη μελέτη της γενετικής ποικιλότητας των MHC μορίων τάξης I - αποτελεί το πλαίσιο στο οποίο θα στηριχθούν οι αναλύσεις της κυτταρικής ανοσίας - κρίθηκε σκόπιμη, πέραν της αλληλούχισης των MHC γονιδίων της *L. trilineata*, και η εξέταση του MHC γονοτύπου της *L. viridis*. Η δεύτερη επιλέχθηκε εξαιτίας της συμπάτριας κατανομής, που έχει στην κεντρική και στη βόρεια ηπειρωτική Ελλάδα με τη *L. trilineata*, και λόγω της εξελικτικής της συγγένειας με την πρώτη, γεγονός που θεωρήθηκε ότι θα επιτρέψει την καλύτερη κατανόηση των εξελικτικών μηχανισμών που έχουν δράσει στη διαμόρφωση και διατήρηση της γενετικής ποικιλότητας των MHC μορίων τάξης I στη *L. trilineata*.

Όσον αφορά τα είδη *L. viridis* και *L. trilineata*, είναι γνωστό ότι διαφέρουν μεταξύ τους, τόσο στο εύρος κατανομής όσο και στα χαρακτηριστικά των βιοτόπων, που επιλέγουν (Valakos και συν. 2008). Συγκεκριμένα, η *L. viridis* εμφανίζει μεγαλύτερη γεωγραφική κατανομή, καθώς εξαπλώνεται σε ολόκληρη την κεντρική και σε μεγάλο μέρος της νότιας Ευρώπης, ενώ προτιμά δασικά οικοσυστήματα με υψηλή υγρασία. Από την άλλη μεριά, η *L. trilineata* παρουσιάζει μικρότερο εύρος εξάπλωσης (νότια Βαλκάνια), ενώ εντοπίζεται σε πιο ξηρά οικοσυστήματα χαμηλότερου υψομέτρου. Μέχρι τώρα μελέτες έχουν αποδείξει, ότι είδη με μεγάλη ικανότητα διασποράς, παρουσιάζουν σημαντικά αυξημένη γενετική ποικιλότητα σε γονίδια που υπόκεινται σε πιέσεις επιλογής, όπως είναι τα MHC. Το γεγονός αυτό οφείλεται στους σημαντικά διαφορετικούς αβιοτικούς (θερμοκρασία, βλάστηση) και βιοτικούς (παράσιτα, θηρευτές) παράγοντες στους οποίους εκτίθενται και οι οποίοι θέτουν τις βάσεις για έναν υψηλό βαθμό προσαρμογής και διαφοροποίησης του είδους στις τοπικές συνθήκες της κάθε περιοχής (Miller και συν. 2001, Nadachowska-Brzyska και συν. 2012, Richardson & Westerdahl 2003). Επιπρόσθετα, τα δύο αυτά είδη αποκλίνουν και σε μια σειρά άλλων χαρακτήρων, όπως ιστορίας ζωής, φυσιολογικών, οικολογικών κ.α. (Valakos και συν. 2008), οι οποίοι μπορούν επίσης να επιφέρουν σημαντικές αλλαγές στο πρότυπο του MHC (Dionne και συν. 2007). Για τους λόγους αυτούς και στηριζόμενοι στην υπάρχουσα βιβλιογραφία, η πρώτη υπόθεση εργασίας που έγινε, ήταν ότι η γενετική ποικιλότητα, ο βαθμός πολυμορφισμού και ο MHC γονότυπος των δύο υπό μελέτη ειδών, θα παρουσιάζουν σημαντική συστηματική διαφοροποίηση.

Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι οι βιοτικές και αβιοτικές συνθήκες, και, συνεπακόλουθα, οι πιέσεις επιλογής που επικρατούν στα νησιά, τείνουν να διαφέρουν από εκείνες της χέρσου (για λεπτομέρειες βλ. παράγραφο 1.2 στο κεφάλαιο 1). Πέραν αυτών, η απομόνωση των νησιών από τις ηπειρωτικές μάζες, ενισχύει φαινόμενα τυχαίας γενετικής παρέκκλισης και μειωμένης γονιδιακής ροής, ενώ οι διαειδικές αλληλεπιδράσεις, που συνήθως υποστηρίζουν τα νησιωτικά οικοσυστήματα και μπορεί να αφορούν σχέσεις, όπως θηρευτή/θήραματος, ξενιστή/παρασίτου και ανταγωνιστικών ειδών, είναι σημαντικά μειωμένες (Hochberg & Møller 2001, Steadman και συν. 1990, Super & Riper 1995). Άμεση συνέπεια όλων των παραπάνω, είναι η μείωση της γενετικής ποικιλότητας γονιδίων που υπόκεινται σε πιέσεις επιλογής. Έτσι, όσον αφορά τη δεύτερη υπόθεση εργασίας, που αναφέρεται στη γεωγραφική διαφοροποίηση της γενετικής ποικιλότητας των MHC μορίων στη *L. trilineata* - εξαπλώνεται τόσο στα νησιωτικά όσο και ηπειρωτικά οικοσυστήματα της Ελλάδας -, αναμένουμε ότι οι νησιωτικές σαύρες θα έχουν μικρότερη γενετική

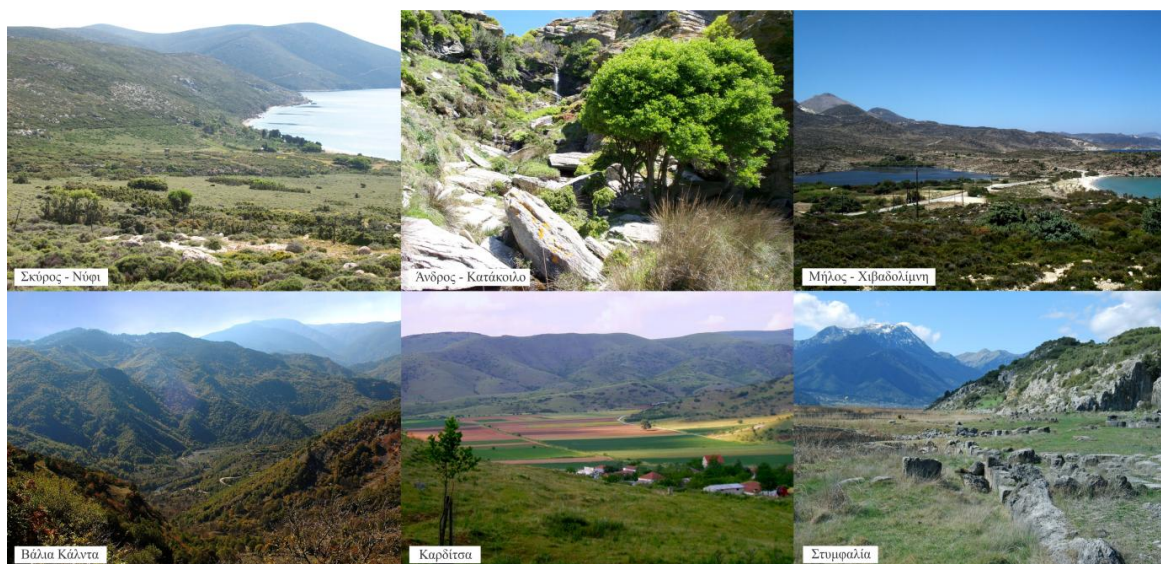
ποικιλότητα, σε σύγκριση με τους πληθυσμούς της ηπειρωτικής χώρας. Βέβαια, αναλογιζόμενοι ότι ο MHC γονότυπος όπως και πολλοί από τους παράγοντες που εξετάστηκαν έως τώρα, και οι οποίοι διαφέρουν μεταξύ των πληθυσμών (όπως η δίαιτα, το θερμορρυθμιστικό πρότυπο, το θερμικό περιβάλλον), επηρεάζουν τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και την ευαισθησία του ζώου σε μελλοντικές μολύνσεις (Ardia 2005, Combes 1995, Hasselquist 2007, Lazzaro και συν. 2008, Linder και συν. 2008, Lochmiller και συν. 1993), υποθέτουμε ότι οι νησιωτικές σαύρες της *L. trilineata* θα παρουσιάζουν επίσης σημαντικές αλλαγές στη λειτουργία και απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος.

Παρ' όλα αυτά, επειδή η σχέση των πιέσεων φυσικής επιλογής και της γενετικής παρέκκλισης δεν είναι πλήρως κατανοητή, επιχειρήθηκε η αποσαφήνιση της σχέσης αυτής για τη *L. trilineata*. Έτσι, θεωρήσαμε ότι εάν η πίεση επιλογής που ασκείται από τους παθογόνους μικροοργανισμούς στα νησιωτικά ενδιαιτήματα είναι σημαντικά μειωμένη, σε συνδυασμό με το μηχανισμό της γενετικής παρέκκλισης που δρα στα νησιά, η νουκλεοτιδική διαφοροποίηση των εναπομεινασών MHC αλληλουχιών στις νησιωτικές σαύρες θα είναι επίσης ελαττωμένη και, συνεπακόλουθα, η κυτταρική ανοσία θα παρουσιάζει ανεπάρκεια (Reed και συν. 2003, Schrey και συν. 2011). Σε αντίθετη περίπτωση, εάν η πίεση των παθογόνων παρασίτων στα νησιά είναι μεγάλη και συγκρίσιμη με εκείνη της ηπειρωτικής χώρας, δηλαδή οι πιέσεις επιλογής υπερτερούν εκείνης που ασκείται από το μηχανισμό της γενετικής παρέκκλισης, αναμένουμε ότι οι νησιωτικές σαύρες θα εμφανίζουν μεγάλη νουκλεοτιδική διαφοροποίηση στις εναπομείνουσες MHC αλληλουχίες (Osborne και συν. 2013) και, τελικά, θα παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα κυτταρομεσολαβούμενης ανοσολογικής απόκρισης (Boer & Perelson 1993, Wegner και συν. 2003a).

Για την περαιτέρω διερεύνηση της απόδοσης της κυτταρικής ανοσίας και της στρατηγικής άμυνας που έχουν υιοθετήσει οι νησιωτικοί πληθυσμοί της *L. trilineata*, διατυπώθηκε μία ακόμη υπόθεση, στηριζόμενοι στα ευρήματα της οικολογίας της διατροφής και της θερμικής βιολογίας. Είναι πλέον τεκμηριωμένο ότι η έλλειψη θρεπτικών πόρων στα νησιά και μια δίαιτα χαμηλή σε περιεκτικότητα πρωτεϊνών, όπως εκείνη των νησιωτικών πληθυσμών της *L. trilineata*, καθώς επίσης και οι μικρότερες θερμοκρασίες του περιβάλλοντος, μπορούν να επιφέρουν μείωση της ισχύος της κυτταρικής ανοσίας (Ardia 2005, Combes 1995, Hasselquist 2007, Lazzaro και συν. 2008, Linder και συν. 2008, Lochmiller και συν. 1993). Για τους λόγους αυτούς, η τρίτη υπόθεση εργασίας υποστηρίζει ότι οι σαύρες από τα νησιά θα κατανέμουν την προσλαμβανόμενη από την

τροφή ενέργεια διαφορετικά από τις ηπειρωτικές σαύρες, επενδύοντας λιγότερο στην ανάπτυξη του ανοσοποιητικού τους συστήματος και υποστηρίζοντας άλλες σημαντικότερες βιολογικές λειτουργίες, με συνέπεια να εμφανίζουν μικρότερη αντίσταση και ανοχή στην αύξηση του παρασιτικού φορτίου.

Επιπλέον, λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι οι βιότοποι των πληθυσμών που μελετήθηκαν για τη διερεύνηση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος διαφέρουν μεταξύ των έξι πληθυσμών (για λεπτομέρειες βλ. παράγραφο 4.2.1.2, **εικόνα 4.3**), όσον αφορά τα επίπεδα τουρισμού και δόμησης, τη βόσκηση και τη βλάστηση, διατυπώθηκε μία ακόμα ερώτηση: Είναι οι ανθρώπινες παρεμβάσεις στο περιβάλλον των μελετώμενων πληθυσμών ικανές να επηρεάσουν την αρμοστικότητα και τη φυσική κατάσταση (υπό την έννοια του παρασιτικού φορτίου, και, συνεπακόλουθα, της ανοσολογικής απόκρισης) των σαυρών της *L. trilineata*; Αν εκείνες δεν οδηγούν σε σημαντική υποβάθμισή του, τότε αναμένεται οι νησιωτικοί πληθυσμοί της *L. trilineata* να εμφανίζουν μικρότερο παρασιτικό φορτίο και καλή αρμοστικότητα στο περιβάλλον διαβίωσης (De Bellocq και συν. 2002). Σε αντίθετη περίπτωση, οι πληθυσμοί θα πρέπει να διαφέρουν μεταξύ τους με βάση τον τρόπο αξιοποίησης της κάθε περιοχής (Αμο και συν. 2006). Δηλαδή, στην περίπτωση αυτή, η χρήση γης και όχι το περιβάλλον (αν τα ζώα προέρχονται από την ηπειρωτική ή νησιωτική χώρα) θα καθορίσει το μέγεθος του παρασιτικού φορτίου και την ισχύ της κυτταρικής ανοσίας του ζώου (φυσική κατάσταση).



Εικόνα 4.3. Τύπος βιοτόπου στις έξι τοποθεσίες δειγματοληψίας. Οι περιοχές από την Άνδρο και τα Ιωάννινα (Βάλια Κάλντα) υπόκεινται σε καθεστώς προστασίας και διαχείρισης.

4.2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.2.1. Βιολογικό υλικό και περιοχές μελέτης

4.2.1.1. Είδη που μελετήθηκαν και περιοχές μελέτης για την έρευνα της γενετικής ποικιλότητας των MHC μορίων τάξης I

Η συλλογή των δειγμάτων, η επιλογή και ο διαχωρισμός των «πληθυσμών», βασίστηκε στα αποτελέσματα των φυλογενετικών αναλύσεων του κεφαλαίου 2, καθώς και στην προσπάθεια κάλυψης της κατανομής των δύο υπό μελέτη taxa στο χώρο της Ελλάδας, με όσο το δυνατόν καλύτερη εκπροσώπηση, γεγονός ωστόσο που δεν κατέστη πάντοτε εφικτό. Συνολικά εξετάστηκαν 209 δείγματα (178 για τη *L. trilineata* και 31 για τη *L. viridis*) από 23 πληθυσμούς (18 για τη *L. trilineata* και 5 για τη *L. viridis*), καθένας εκ των οποίων αντιπροσωπεύτηκε με 1-24 άτομα (αναλυτικά το μέγεθος δείγματος για τον καθένα πληθυσμό δίνεται στον **πίνακα 4.2**). Η πλειονότητα των δειγμάτων, που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα έρευνα, είναι κατατεθειμένα στις συλλογές του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας του Πανεπιστημίου της Κρήτης (Natural History Museum of Crete, NHMC) - μέρος των δειγμάτων αυτών χρησιμοποιήθηκε και για τη μελέτη της φυλογένεσης του γένους *Lacerta* στην Ελλάδα (κεφάλαιο 2) -, ενώ ορισμένα δείγματα συλλέχθηκαν από το πεδίο. Επιπλέον, 4 δικτυακές αλληλουχίες (2 για καθένα εξώνιο), που ανακτήθηκαν από τη βάση γενετικών δεδομένων GenBank, για τα είδη *Ameiva ameiva* και *Anolis carolinensis*, χρησιμοποιήθηκαν ως παραομάδα για την κατασκευή του φυλογενετικού δέντρου των εξωνίων 2 & 3 των MHC μορίων τάξης I.

4.2.1.2. Επιλογή και περιγραφή βιοτόπων για τη μελέτη της ανοσολογικής απόκρισης

Στη μελέτη της κυτταρικής ανοσίας εξετάστηκαν έξι πληθυσμοί της *L. trilineata*, από το σύνολο των 18 στους οποίους μελετήθηκε η γενετική ποικιλότητα των MHC μορίων τάξης I, λαμβανομένων υπ' όψιν των φυλογενετικών τους σχέσεων (Garland και συν. 2005, Garland & Adolph 1994b), το μέγεθος δείγματος, αλλά και με προσπάθεια κάλυψης της κατανομής του είδους, με όσο το δυνατόν καλύτερο τρόπο. Βάσει των προαναφερθέντων, εκτός των πληθυσμών της Άνδρου (Παλαιόπολη, Κατάκοιλο και γύρω περιοχές), της Σκύρου (περιοχή Νύφι), της Καρδίτσας και της Στυμφαλίας, που μελετήθηκαν στην ενότητα της φυσιολογίας και οικολογίας, εξετάστηκαν επιπλέον, οι

πληθυσμοί της Μήλου (περιοχή Χιβαδολίμνης) και των Ιωαννίνων (περιοχή Βάλια Κάλντα) (χάρτης 4.1 και εικόνα 4.3). Εκτός του νησιωτικού χαρακτήρα που παρουσιάζουν τα οικοσυστήματα της Άνδρου, Μήλου και Σκύρου, οι έξι υπό μελέτη βιότοποι διαφέρουν μεταξύ τους όσον αφορά το βαθμό δόμησης, τα επίπεδα τουρισμού, τη βόσκηση και το φυσικό τους περιβάλλον (χρήσεις γης). Όπως και στις προηγούμενες έρευνες έτσι και εδώ, η μελέτη εστιάστηκε μόνο σε πληθυσμούς που κατανέμονται δυτικά του φράγματος του Αιγαίου.



Χάρτης 4.1. Οι περιοχές δειγματοληψίας δυτικά του φράγματος του Αιγαίου, με τον αριθμό ατόμων που μελετήθηκαν σε κάθε μια από αυτές. Κάτω αριστερά δίνεται ο χάρτης κατανομής του είδους *L. trilineata*.

Τα νησιά Σκύρος και Μήλος φέρουν τυπική Μεσογειακού τύπου βλάστηση, με μακκία και φρύγανα να συνιστούν τον κυρίαρχο τύπο κάλυψης. Το νησί της Άνδρου, εξαιτίας της ορεινής τοπογραφίας του, παρουσιάζει μια τελείως διαφορετική γεωμορφολογία. Ξεχωριστό στοιχείο του φυσικού περιβάλλοντος του νησιού είναι ο πλούτος των φυσικών υδροτόπων, με στάσιμα ή τρεχούμενα και υπόγεια νερά, που συνεισφέρουν πραγματικά, αφενός, στη διατήρηση της μεγάλης χλωριδικής και πανιδικής

βιοποικιλότητας και, αφετέρου, στις καταπράσινες κοιλάδες του νησιού (Κατσαδωράκης & Παραγκαμιάν 2006, Παπανικολάου 1978). Επιπλέον, τα νησιά αυτά διαφέρουν και ως προς τον τρόπο αξιοποίησης της γης - η οποία, στα νησιά Μήλο και Σκύρο, έχει επιφέρει σημαντική υποβάθμιση των βιοτόπων τους. Συγκεκριμένα, η Μήλος παρουσιάζει ιδιαίτερη ανάπτυξη στην γεωργία και στην εξόρυξη βιομηχανικών υλικών, ενώ αποτελεί ένα από τους πλέον δημοφιλείς τουριστικούς προορισμούς της Ελλάδας (Γκάγκα 2006, Χατζηνικολάου 2003). Η Σκύρος, έχει μεγάλη ιστορία υπερβόσκησης, η οποία έχει προκαλέσει σημαντική μεταβολή της βλάστησης (Snogerup & Snogerup 2004), αλλά και σημαντικές επιπτώσεις στους πληθυσμούς ασπονδύλων και σπονδυλωτών (Pafilis και συν. 2013). Από την άλλη μεριά, στο νησί της Άνδρου οι ανθρώπινες δραστηριότητες και παρεμβάσεις (δόμηση, γεωργία, κ.α.) είναι περιορισμένες, μια και δεν αποτελεί δημοφιλή τουριστικό προορισμό στην Ελλάδα (Δημαλέξης και συν. 2012), ενώ πρέπει να σημειωθεί ότι οι περιοχές γύρω από το Κατάκοιλο (δηλαδή στην περιοχή μελέτης) έχουν ενταχθεί στο Ευρωπαϊκό Οικολογικό Δίκτυο NATURA 2000.

Οι περιοχές της ηπειρωτικής Ελλάδας, παρουσιάζουν ανάλογα οικολογικά στοιχεία και διαφορές με εκείνα των νησιωτικών οικοσυστημάτων. Έτσι, η Καρδίτσα και η Στυμφαλία αποτελούν περιοχές με σημαντικά περιβαλλοντικά προβλήματα, που είναι αποτέλεσμα της επί σειρά πολλών ετών εντατικής διαχείρισης των πεδινών περιοχών από τον άνθρωπο και της αποψίλωσης των δασικών εκτάσεων. Η χρήση φυτοφαρμάκων, η σημαντική μείωση των δασικών εκτάσεων για τη δημιουργία γεωργικής γης και εκμετάλλευσης για κτηνοτροφία, έχουν οδηγήσει σε σημαντική μείωση ή εξαφάνιση πολλών πληθυσμών άγριων ειδών (Λιαρίκος και συν. 2012). Αντίθετα, η περιοχή της Βάλια Κάλντα (Ιωάννινα) εξασφαλίζει ιδανικές συνθήκες διαβίωσης για τους φυσικούς πληθυσμούς ζώων, ενώ θεωρείται μια από τις πιο πλούσιες σε αριθμό ειδών περιοχές της χώρας μας, έχοντας ενταχθεί στις «Ζώνες ειδικής προστασίας (SPA)» και στο Δίκτυο NATURA 2000.

4.2.2. Μέθοδοι

4.2.2.1. Εξαγωγή DNA και αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)

Η επιλογή του γενετικού τόπου των MHC μορίων τάξης I, και συγκεκριμένα των εξωνίων 2 & 3, δεν έγινε τυχαία. Η πολυγονιδιακή οικογένεια του MHC αντιπροσωπεύει το καλύτερο, μέχρι σήμερα, τεκμηριωμένο παράδειγμα για την πίεση επιλογής σε μοριακό

επίπεδο (Hughes & Yeager 1998a, Klein και συν. 2007) - είναι η ομάδα γονιδίων με το μεγαλύτερο βαθμό πολυμορφισμού στα σπονδυλωτά (Aranjuez και συν. 1997, Klein 1989) -, ενώ κατά μήκος της αλληλουχίας, τα εξώνια 2 & 3 αποτελούν τις περιοχές πρόσδεσης και παρουσίασης των αντιγονικών πεπτιδίων. Ως εκ τούτου, η πίεση της φυσικής επιλογής στα τμήματα αυτά είναι περισσότερο ισχυρή και, επομένως, πιο εύκολα ανιχνεύσιμη (Hughes & Nei 1989, Hughes & Yeager 1998b). Τέλος, ανάμεσα στα MHC μόρια τάξης I και II, εκείνο που παρουσιάζει τη μεγαλύτερη διαφοροποίηση και τον πιο εκτεταμένο βαθμό πολυμορφισμού είναι αδιαμφισβήτητα, με εξαίρεση στον άνθρωπο, το MHC τάξης I (Penn 2002a).

Το σύνολο των εργαστηριακών πειραμάτων, πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας του Τμήματος Εξελικτικής Οικολογίας του Πανεπιστημίου Lund της Σουηδίας. Η απομόνωση του συνολικού γενετικού υλικού πραγματοποιήθηκε από τον ιστό της γλώσσας ή από τον μυ της ουράς της σαύρας, ακολουθώντας το πρωτόκολλο των Richardson και συν. (2001). Η συγκέντρωση του DNA και η ποιότητα των δειγμάτων ποσοτικοποιήθηκαν με τη χρήση φασματοφωτομέτρου Bechman DU64 (Bechman Coulter Inc., Brea, CA, USA), ενώ το γενετικό υλικό αραιώθηκε σε τελική συγκέντρωση 10 ng/μl.

Για τον πολλαπλασιασμό τμήματος των εξωνίων 2 & 3 του MHC τάξης I, σχεδιάστηκαν, αρχικά, 14 διαφορετικά ζεύγη εκκινητών, ύστερα από στοίχιση τεσσάρων MHC αλληλουχιών τάξης I, που ανακτήθηκαν από τη βάση γενετικών δεδομένων GenBank και αφορούν: 1) μία πρόδρομη DNA αλληλουχία της θαλάσσιας ιγκουάνας των Galapagos (*Amblyrhynchus cristatus*) (GenBank accession number: EU839664.1), 2) μία mRNA αλληλουχία (EU839663.1) της θαλάσσιας ιγκουάνας των Galapagos (*Amblyrhynchus cristatus*), καθώς και τμήμα DNA αλληλουχίας 3) της πράσινης anoles (*A. carolinensis*, AnoCar2.0:GL343084.1, βάσεις 594929-595452) και 4) της κοινής όρνιθας (*Gallus gallus*, χρωμόσωμα: WASHUC2:16, βάσεις: 289139-289558). Οι εκκινητές αυτοί, των οποίων οι πληροφορίες δεν δίνονται στην παρούσα μελέτη και των οποίων οι αλληλουχίες διέφεραν μεταξύ τους σε ορισμένες εκφυλισμένες νουκλεοτιδικές θέσεις, εξετάστηκαν για την ικανότητά τους να πολλαπλασιάζουν τα επιθυμητά τμήματα των εξωνίων 2 & 3 του MHC τάξης I γενετικού τύπου σε διαφορετικά taxa σαυρών της οικογένειας Lacertidae (όπως *Podarcis gaigeae*, *P. g. weigandii*, *P. erhardii*, *P. taurica*, *P. peloponnesiaca*, *P. milensis*, *P. leventis*, *P. cretensis*, *L. trilineata*, *L. viridis*, *L. agilis* και *Hellenolacerta graeca*).

Η αντίδραση PCR πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του Qiagen Multiplex kit (Qiagen, Hilden, Germany), με τον όγκο της κάθε αντίδρασης PCR να ορίζεται στα 10 μl

και με τελική συγκέντρωση DNA τα 25 ng/ml. Οι συνθήκες της PCR, που χρησιμοποιήθηκαν για τον πολλαπλασιασμό των εξονίων 2 & 3 των MHC μορίων τάξης I, δίνονται στον **πίνακα 4.1**. Ο προσδιορισμός των αλληλουχιών έγινε σε αυτοματοποιημένο αναλυτή αλληλούχισης, μοντέλου ABI 3730XL, ακολουθώντας τις οδηγίες του κατασκευαστή και με τη χρήση του Big - Dye Terminator Cycle Sequencing kit (v3.1).

Πίνακας 4.1. Δίνονται τα εξόνια-στόχοι του MHC τάξης I της παρούσας εργασίας, τα ζεύγη των εκκινητών που σχεδιάστηκαν, το μέγεθος του προϊόντος που παράγουν, καθώς και οι συνθήκες της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) που χρησιμοποιήθηκαν για τον πολλαπλασιασμό των εξονίων αυτών.

Εξόνιο	Όνομα	Αλληλουχία Εκκινητή (5' - 3')	Μέγεθος	Συνθήκες PCR (touch-down)
Εξόνιο 2	MHCC1E2F	CAC TCC CTG CGC TAC TT	~228 bp	94°C/30sec, 59/53°C/90sec, 72°C/1min
	MHCC1E2R	RCT YAC CTY YRC TBT KGT TGT AGC GA		94°C/30sec, 53°C/90sec, 72°C/1min x 30 cycles
Εξόνιο 3	MHCC1E3F	ACR YKK CAG WRG ATG TWY GGC TGT GA	~200 bp	94°C/30sec, 59/53°C/90sec, 72°C/1min
	MHCC1E3R	CCT TCC CRT RST CCA GGT ATC TCT		94°C/30sec, 53°C/90sec, 72°C/1min x 30 cycles

Οι αλληλουχίες που ελήφθησαν, διορθώθηκαν με τη χρήση του προγράμματος Codon-Code Aligner (v. 4.1.1, Codon Code Corporation), ενώ, στη συνέχεια, με τη βοήθεια του διαδικτυακού εργαλείου BLAST, της βάσης γενετικών δεδομένων του NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), ελέγχθηκε η αυθεντικότητα των αποκτηθεισών αλληλουχιών καθώς και η ομολογία τους με τα γονίδια-στόχους. Δεδομένου ότι τα εξόνια 2 & 3 κωδικοποιούν για πρωτεΐνες που περιλαμβάνουν τις περιοχές α1 (εξόνιο 2) και α2 (εξόνιο 3) των MHC μορίων τάξης I, δηλαδή τις θέσεις που συμμετέχουν στη πρόσδεση και παρουσίαση των αντιγόνων (βλ. Miller και συν. 2006, Wallny και συν. 2006, αντίστοιχα), αφού μεταφράστηκαν σε αμινοξέα, πραγματοποιήθηκε επιπλέον έλεγχος, αφενός, για την απουσία κωδικονίων λήξης εντός του ανοικτού πλαισίου ανάγνωσης της αλληλουχίας και, αφετέρου, για την ομολογία της πρωτεΐνης με τις κατατεθειμένες αλληλουχίες στη βάση δεδομένων. Στη συνέχεια, χρησιμοποιώντας τις αλληλουχίες, που παρήχθησαν από τους αρχικούς εκκινητές, σχεδιάστηκαν εκ νέου εκκινητές, ειδικοί αυτοί τη φορά, για τα τμήματα των εξονίων 2 & 3 του MHC τάξης I γενετικού τόπου για σαύρες της οικογένειας Lacertidae. Τα ζεύγη των εκκινητών που σχεδιάστηκαν και το μέγεθος του προϊόντος που παράγουν δίνονται αναλυτικά στον **πίνακα 4.1**.

4.2.2.2. Βαθμός πολυμορφισμού της πολυγονιδιακής οικογένειας του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας τάξης I (MHC I)

4.2.2.2.1. Γονοτύπηση του MHC τάξης I και τεχνολογία αλληλούχισης νέας γενιάς (next generation sequencing)

Ο πολλαπλασιασμός των εξωνίων 2 & 3 του MHC τάξης I, πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της τεχνολογίας αλληλούχισης Roche 454 FLX, που εντάσσεται στις μαζικές μεθόδους αλληλούχισης νέας γενιάς (massive parallel next-generation sequencing, NGS) (Margulies και συν. 2005, Meyer και συν. 2008), σε αναλυτή 454 GS FLX Titanium Series (Roche) του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Lund. Η ιδιαιτερότητα της πολυγονιδιακής οικογένειας του MHC να εκφράζεται, σε έναν οργανισμό, σε περισσότερους του ενός γονιδιακούς τόπους, καθέναν εκ των οποίων εμφανίζει διαφορετικό ρυθμό διαφοροποίησης και μεγάλο βαθμό πολυμορφισμού, καθώς και η παρουσία ψευδογονιδίων, καθιστούν ιδιαίτερα δύσκολη τη γονοτύπηση της (Babik και συν. 2009, Galan και συν. 2010). Για τον λόγο αυτό, παραδοσιακές τεχνικές ενίσχυσης αλληλουχιών συγκεκριμένων γονιδιακών τόπων, όπως η τεχνική Sanger, δεν αποτελούν τις καλύτερες ενδεδειγμένες μεθόδους, εξαιτίας της περιορισμένης ικανότητάς τους να διακρίνουν και να αλληλουχίσουν όλους τους διαφορετικούς γονιδιακούς τόπους, οδηγώντας σε απόκρυψη της πραγματικής γενετικής ποικιλότητας των MHC μορίων ενός ατόμου (Galan και συν. 2010). Η ανάπτυξη της τεχνολογίας NGS (Margulies και συν. 2005), η οποία διαφέρει από τις παλαιότερες τεχνικές, επειδή μπορεί να επεξεργάζεται παράλληλα χιλιάδες ή και εκατομμύρια αλληλουχίες βάσεων DNA του ιδίου ή διαφορετικών ατόμων, καθίσταται η καλύτερη μέχρι στιγμής μέθοδος γονοτύπησης του MHC (Babik 2010, Galan και συν. 2010, Lind και συν. 2010, Longeri και συν. 2002, Promeronά και συν. 2012). Η μέθοδος NGS επιτρέπει την αλληλούχιση ενισχυμένων κλωνοποιημένων προϊόντων, που προέρχονται από ένα μόριο, σε ένα σύστημα ελεύθερο από κύτταρα. Ως εκ τούτου, αποφεύγονται λάθη που μπορεί να οφείλονται στη διαδικασία δημιουργίας κλώνων βακτηρίων (Longeri και συν. 2002).

Λόγω της παράλληλης επεξεργασίας των αλληλουχιών, που γίνεται με τη χρήση της τεχνικής NGS, έχουν προταθεί διάφορες λύσεις προκειμένου να επιτραπεί η εκ των υστέρων κατανομή των αλληλουχιών που παράγονται στα αντίστοιχα δείγματα που τις φέρουν. Η επικρατέστερη από τις λύσεις αυτές, προκειμένου το αρχικό δείγμα να «ανακτήσει» τις αλληλουχίες του, είναι η χρήση του νουκλεοτιδικού «γραμμωτού κώδικα»

(nucleotide barcodes). Οι ολιγονουκλεοτιδικές αυτές αλληλουχίες σήμανσης (tags, 3 - 6 βάσεις), ενσωματώνονται στο 5' άκρο του πρόσθιου και ανάστροφου εκκινήτη, με αποτέλεσμα την παραγωγή ενός μοναδικού barcode για κάθε δείγμα (Babik και συν. 2009, Binladen και συν. 2007, Meyer και συν. 2008).

Στην παρούσα μελέτη, προκειμένου να μελετήσουμε τον βαθμό πολυμορφισμού του MHC τάξης I, δηλαδή να βρούμε τον αριθμό αλληλουχιών των εξωνίων 2 & 3 που έχει κάθε σαύρα, κρίθηκε σκόπιμος ο σχεδιασμός 15 tags. Με τον τρόπο αυτόν παρήχθησαν 225 ζεύγη συνδυασμών (15×15), κάθε ένας από τους οποίους ταυτοποιούσε ένα συγκεκριμένο άτομο.

4.2.2.2. Επιλογή των πραγματικών αλληλουχιών

Είναι πλέον ευρέως αποδεκτό ότι στη διαδικασία της PCR (Lenz & Becker 2008) και της «πυροαλληλούχισης» (προσδιορισμός αλληλουχίας μέσω πυροφωσφορικού για την μαζική παράλληλη αλληλούχιση με τεχνικές NGS, pyrosequencing) (Huse και συν. 2007), η πλειονότητα των αλληλουχιών που παράγονται φέρουν τεχνικά σφάλματα. Προκειμένου να αποφύγουμε να συμπεριλάβουμε στις αναλύσεις μας λαθεμένες αλληλουχίες για τα εξώνια 2 & 3, εξαιτίας μεθοδολογικών τεχνικών σφαλμάτων (methodological artifacts), έγιναν αποδεκτές μόνο εκείνες οι οποίες, αφενός, ήταν παρούσες σε περισσότερα από δύο άτομα και με συχνότητα εμφάνισης, σε καθένα από αυτά, πάνω από 0,1 (coverage) (Galan και συν. 2010) και, αφετέρου, μόνον εκείνες που ανακτήθηκαν από δύο ανεξάρτητες PCR (two-PCR criterion) (Babik και συν. 2009, Sepil και συν. 2012). Με τον τρόπο αυτό, μειώθηκε δραστικά η πιθανότητα να συμπεριληφθούν λαθεμένες αλληλουχίες στις μετέπειτα αναλύσεις, δεδομένου ότι είναι αρκετά απίθανο αλληλουχίες με τα ίδια σφάλματα να παράγονται κατ' επανάληψη (Nadachowska-Brzyska και συν. 2012).

Οι εναπομείνουσες αλληλουχίες στοιχήθηκαν με τη χρήση του προγράμματος Codon-Code Aligner (v. 4.1.1, Codon Code Corporation) και ελέγχθηκαν για την απουσία κωδικονίων λήξης εντός του πλαισίου ανάγνωσης. Δεδομένου ότι τα εξώνια 2 & 3 κωδικοποιούν για πρωτεΐνες, η παρουσία κενών είναι απαγορευμένη. Συνεπώς, κριτήριο για την καλή ποιότητα της αλληλουχίας είναι η στοίχιση να είναι απόλυτη, δηλαδή να μη φέρουν ενθέσεις ή ελλείψεις βάσεων. Μόνο εκείνες οι αλληλουχίες, που πληρούσαν όλα τα παραπάνω τα κριτήρια, χρησιμοποιήθηκαν για τις περαιτέρω αναλύσεις.

4.2.2.2.3. Γενετική ποικιλότητα

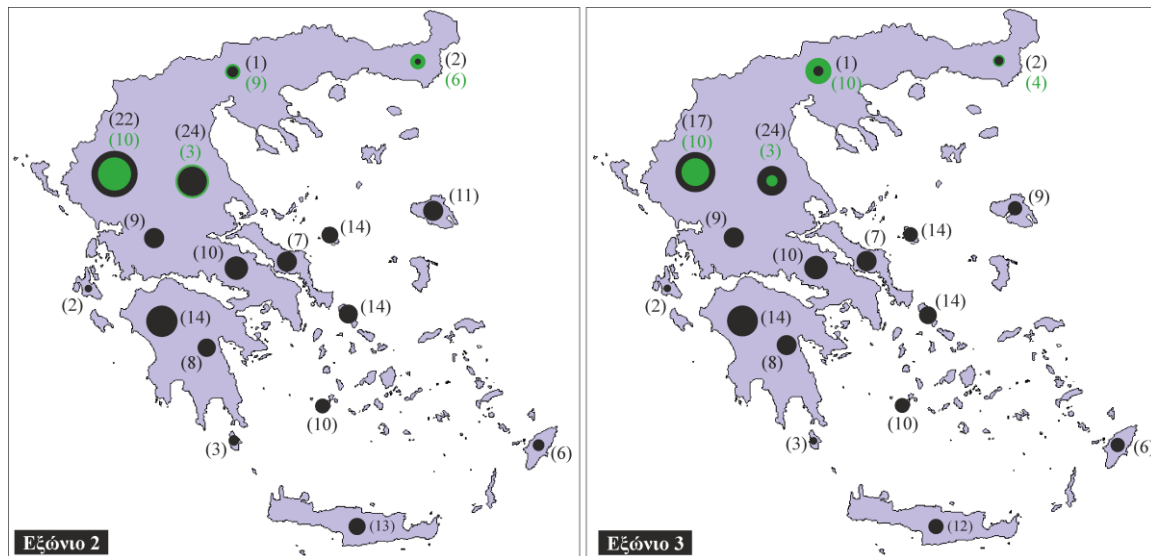
Προκειμένου να εκτιμηθεί η γενετική ποικιλότητα των *εξωνίων 2 & 3* στα είδη *L. trilineata* και *L. viridis*, η ηπειρωτική Ελλάδα διαιρέθηκε σε 8 μεγάλα διαμερίσματα (εφεξής πληθυσμοί) (Θράκη, Μακεδονία, Ήπειρος, Θεσσαλία, Ανατολική Στερεά, Δυτική Στερεά, Ανατολική Πελοπόννησος και Δυτική Πελοπόννησος), ενώ κάθε νησί που μελετήθηκε θεωρήθηκε ως διακριτός πληθυσμός (αναλυτικά το μέγεθος δείγματος ανά διαμέρισμα δίνεται στον **πίνακα 4.2** και απεικονίζεται σχηματικά στην **εικόνα 4.4**). Η διαίρεση και ομαδοποίηση των πληθυσμών πραγματοποιήθηκε με βάση τα αποτελέσματα των φυλογενετικών αναλύσεων και τη γεωγραφική κατανομή που παρουσιάζουν οι γενεαλογικές γραμμές των δύο ειδών (βλ. κεφάλαιο 2).

Για κάθε ένα εξώνιο χωριστά και για κάθε είδος και πληθυσμό, καθώς και για το σύνολο των νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών (ύστερα από ομαδοποίηση των πληθυσμών) υπολογίστηκαν: (α) ο συνολικός αριθμός των αλληλουχιών (Na), (β) ο μέσος αριθμός αλληλουχιών ανά άτομο (NaI) (εφεξής και βαθμός πολυμορφισμού), (γ) ο αριθμός πολυμορφικών θέσεων (S), (δ) η νουκλεοτιδική ποικιλότητα (π) και (ε) η μέση νουκλεοτιδική διαφοροποίηση (k), με τη χρήση του προγράμματος DnaSP v. 5.10 (Librado & Rozas 2009). Η σύγκριση μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών πραγματοποιήθηκε μόνο για τη *L. trilineata* - οργανισμός μελέτης της παρούσας διατριβής -, μια και η κατανομή της *L. viridis* περιορίζεται, σχεδόν, αποκλειστικά στην ηπειρωτική Ελλάδα (εξαίρεση αποτελεί ένας μικρός πληθυσμός στο νησί της Σαμοθράκης).

Προκειμένου να ελέγξουμε εάν η γενετική ποικιλότητα των MHC μορίων τάξης I διαφέρει μεταξύ των δύο ειδών και μεταξύ των πληθυσμών τους, πραγματοποιήθηκε πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης (multivariate analysis of variance, MANOVA). Για την ανάλυση αυτή χρησιμοποιήθηκαν ταυτόχρονα ο αριθμός των αλληλουχιών των *εξωνίων 2 & 3* ως εξαρτημένες μεταβλητές και το είδος ή το ενδιαίτημα (νησιωτικό ή ηπειρωτικό) ως σταθερές μεταβλητές. Τέλος, η ανάλυση αυτή επαναλήφθηκε για τις μεταβλητές NaI, π και k. Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του προγράμματος R (v. 2.15.3) (R Development Core Team 2011).

Πίνακας 4.2. Δίνονται τα γεωγραφικά διαμερίσματα (πληθυσμοί) όπως χωρίστηκαν για τις αναλύσεις της παρούσας μελέτης και οι μέσες τιμές των μεταβλητών, που εξετάστηκαν, οι οποίες αποτελούν δείκτες της γενετικής ποικιλότητας του *εξωνίου 3* (E3) και του *εξωνίου 2* (E2) για τα μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC) τάξης I, για τα είδη *L. trilineata* και *L. viridis*. N αναφέρεται στο μέγεθος δείγματος, Na στον συνολικό αριθμό διαφορετικών αλληλουχιών που βρέθηκαν σε κάθε πληθυσμό, NaI στον βαθμό πολυμορφισμού ή αλλιώς αριθμός MHC αλληλουχιών ανά άτομο, S στον αριθμό πολυμορφικών νουκλεοτιδικών θέσεων, π στη νουκλεοτιδική ποικιλότητα και k στη νουκλεοτιδική διαφοροποίηση.

	Πληθυσμός	Περιβάλλον	N (E2)	Na (E2)	NaI (E2)	S (E2)	π (E2)	k (E2)	N (E3)	Na (E3)	NaI (E3)	S (E3)	π (E3)	k (E3)
L. trilineata	Σερβία	H	8	29	7,29	103	0,133	30,305	6	24	8,33	95	0,163	32,500
	Θράκη	H	2	2	1,50	21	0,092	21,000	2	6	4,50	63	0,159	31,867
	Μακεδονία	H	1	8	8,00	62	0,111	25,250	1	7	7,00	64	0,153	30,667
	Ηπείρος	H	22	63	7,04	129	0,124	28,157	17	53	7,41	102	0,152	30,395
	Θεσσαλία	H	24	38	7,18	103	0,121	27,674	24	39	7,00	99	0,158	31,615
	Δ. Στερεά	H	9	24	5,33	87	0,112	25,702	9	23	6,00	87	0,145	29,083
	Α. Στερεά	H	10	29	4,70	80	0,112	25,591	10	28	5,60	85	0,144	28,762
	Α. Πελοπόννησος	H	8	15	4,60	77	0,127	29,000	8	20	5,92	87	0,154	30,774
	Δ. Πελοπόννησος	H	14	37	5,45	99	0,117	26,782	14	40	6,08	106	0,164	32,887
	Εύβοια	N	7	26	5,29	80	0,112	25,588	7	25	7,71	88	0,151	30,240
	Σκύρος	N	14	16	6,89	66	0,106	24,125	14	16	7,64	81	0,153	30,675
	Κύθηρα	N	3	7	3,67	61	0,125	28,333	3	6	3,67	68	0,168	33,533
	Κρήτη	N	13	21	3,77	84	0,132	30,014	12	17	4,17	83	0,166	33,279
	Άνδρος	N	14	21	6,08	80	0,111	25,195	14	19	5,07	91	0,166	33,111
	Μήλος	N	10	14	5,67	64	0,093	21,352	10	14	4,10	75	0,139	27,758
	Λέσβος	N	11	25	5,91	101	0,113	25,832	9	16	4,78	74	0,150	30,000
	Ρόδος	N	6	10	3,33	76	0,135	30,889	6	15	4,67	74	0,146	29,267
	Λευκάδα	N	2	5	3,00	82	0,124	29,957	2	6	4,00	63	0,131	31,525
L. viridis	Σερβία	H	3	17	6,00	88	0,119	27,191	2	10	6,00	74	0,166	33,511
	Θράκη	H	6	21	7,00	94	0,116	26,371	4	16	5,50	85	0,163	32,600
	Μακεδονία	H	9	22	6,78	103	0,134	30,589	10	34	6,60	100	0,167	33,426
	Ηπείρος	H	10	45	8,20	125	0,131	29,659	10	37	7,10	91	0,155	30,951
	Θεσσαλία	H	3	11	4,67	86	0,146	33,345	3	10	5,50	65	0,159	31,733



Εικόνα 4.4. Απεικόνιση των γεωγραφικών διαμερισμάτων (πληθυσμών), όπως χρησιμοποιήθηκαν στις αναλύσεις της παρούσας μελέτης και αφού λάβαμε υπ' όψιν τις γενεαλογικές γραμμές των κλάδων της *Lacerta trilineata* και *Lacerta viridis*, με βάση το κεφάλαιο 2. Οι αριθμοί στις παρενθέσεις δηλώνουν το μέγεθος δείγματος καθένα πληθυσμού, ενώ το μέγεθος του κάθε κύκλου υποδηλώνει τη γενετική ποικιλότητα του MHC τάξης I, βάσει τα στοιχεία του πίνακα 4.2. Με μαύρο χρώμα απεικονίζονται τα στοιχεία για τη *L. trilineata*, ενώ με πράσινο για τη *L. viridis*.

4.2.2.2.4. Επιλογή στις θέσεις πρόσδεσης των αντιγονικών πεπτιδίων (peptide-binding region, PBR)

Ο έλεγχος της επίδρασης των πιέσεων φυσικής επιλογής, για τις νουκλεοτιδικές θέσεις των εξωνίων 2 & 3, που συμμετέχουν στην αναγνώριση και παρουσίαση των αντιγονικών πεπτιδίων και σε εκείνες που δεν έρχονται σε επαφή με το αντιγόνο, διεξήχθη με τη δοκιμασία Z στο πρόγραμμα MEGA v. 5.0.5 (Tamura και συν. 2011). Συγκεκριμένα, εξετάστηκε εάν ο λόγος μεταξύ μη συνώνυμων (d_N) και συνώνυμων (d_S) υποκαταστάσεων¹ (d_N/d_S) διαφέρει από εκείνον που ορίζεται από την ουδέτερη θεωρία της μοριακής εξέλιξης ($d_N = d_S$) (Nei & Gojobori 1986). Το τυπικό σφάλμα εκτιμήθηκε με την τεχνική επαναδιατάξεων bootstrap με 10.000 επαναλήψεις. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε, ως συμπληρωματική προσέγγιση, η ανάλυση Tajima's D (Tajima 1989), όπως εφαρμόζεται στο λογισμικό DnaSP v. 5.10 (Librado & Rozas 2009), σε όλο το μήκος των αλληλουχιών των εξωνίων 2 & 3. Με την τελευταία στατιστική προσέγγιση, επιδιώχθηκε να εξακριβωθεί εάν τα εξώνια 2 & 3 του MHC τάξης I, εξελίσσονται με βάση

¹ Συνώνυμες και μη συνώνυμες υποκαταστάσεις βάσεων: Συνώνυμες νουκλεοτιδικές υποκαταστάσεις βάσεων είναι αυτές στις οποίες δεν προκύπτει αλλαγή στην αμινοξική ακολουθία (σιωπηλές μεταλλάξεις). Σε αντίθετη περίπτωση οι υποκαταστάσεις βάσεων χαρακτηρίζονται ως μη συνώνυμες.

την ουδέτερη πίεση επιλογής (δηλαδή τυχαία) ή με μη-τυχαίες διαδικασίες, αποκρινόμενες στις πιέσεις της κατευθύνουσας ή σταθεροποιούσας επιλογής.

Προκειμένου να αναγνωριστούν οι θέσεις πρόσδεσης αντιγονικών πεπτιδίων στα εξώνια 2 & 3, πραγματοποιήθηκε στοίχιση με γνωστές αλληλουχίες. Πιο συγκεκριμένα, όσον αφορά το εξώνιο 2, πραγματοποιήθηκε στοίχιση των παραγόμενων αλληλουχιών με εκείνη του tuatara *S. punctatus* (Sppu-U*01, GenBank accession number DQ145788) (Miller και συν. 2006) και λαμβάνοντας υπ' όψιν τις PBR νουκλεοτιδικές θέσεις που έχουν αναγνωριστεί στα ανθρώπινα HLA-A μόρια (Bjorkman και συν. 1987). Ανάλογα, η αναγνώριση των νουκλεοτιδίων που συνιστούν τις PBR του εξωνίου 3 πραγματοποιήθηκε ύστερα από στοίχιση με γνωστή αλληλουχία της κοινής όρνιθας *G. gallus* (B-F alpha chain, GenBank accession number T28149) (Kaufman και συν. 1999, Wallny και συν. 2006).

4.2.2.3. Μέθοδοι φυλογενετικής ανάλυσης και κατασκευή γονιδιακού δέντρου

Η ανασύσταση των φυλογενετικών σχέσεων των αλληλουχιών των εξωνίων 2 & 3 για τα είδη *L. viridis* και *L. trilineata* πραγματοποιήθηκε με τη χρήση των μεθόδων Σύνδεσης Γειτόνων (Neighbor-Joining)¹ και Μπεϋζιανής Συμπερασματολογίας (Bayesian Inference, BI) (για λεπτομέρειες για την ανάλυση αυτή βλ. κεφάλαιο 2).

Στην ανάλυση της Σύνδεσης-Γειτόνων (Neighbor-Joining, NJ) δοκιμάστηκαν διάφορες μέθοδοι εκτίμησης γενετικών αποστάσεων, από απλές (p-distance, Jukes-Cantor και Kimura-two-parameter) μέχρι πιο σύνθετες (Tamura-Nei με παράμετρο Γ, GTR, GTR+I+G), και για τα δύο εξώνια, με τη βοήθεια του προγράμματος MEGA v. 5.0.5 (Tamura και συν. 2011). Η αξιοπιστία των κλάδων ελέγχτηκε με δοκιμασία bootstrap, πραγματοποιώντας 10.000 επαναλήψεις (ψευδοαντίγραφα του πρωτότυπου συνόλου δεδομένων).

Για την ανάλυση της Μπεϋζιανής Συμπερασματολογίας, που πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του προγράμματος MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist 2001), εφαρμόστηκε αρχικά, για καθένα γονίδιο χωριστά, το μοντέλο νουκλεοτιδικής

¹ Ανάλυση Σύνδεσης Γειτόνων (Neighbor-Joining, NJ): Είναι μια αλγοριθμική μέθοδος, η οποία σε αντίθεση με τις αναλύσεις της Μέγιστης Φειδωλότητας (Maximum Parsimony), Μέγιστης Πιθανοφάνειας (Maximum Likelihood), και Μπεϋζιανής Συμπερασματολογίας (Bayesian Inference), δεν χρησιμοποιεί κάποιο κριτήριο βελτιστοποίησης για την ανακατασκευή των φυλογενετικών σχέσεων των αλληλουχιών. Θεωρητικά οι αλγοριθμικές μέθοδοι είναι υπολογιστικά πολύ ταχύτερες επειδή προχωρούν άμεσα στην τελική λύση, χωρίς να καθυστερούν συγκρίνοντας εναλλακτικά ανταγωνιστικά σενάρια. Εξαιτίας του ότι οι μέθοδοι αυτές στηρίζονται στην εκτίμηση της γενετικής απόστασης των αλληλουχιών ανά ζεύγη, είναι γνωστές και ως Μέθοδοι Αποστάσεων (Distance Methods). Ως εκ τούτου, το αποτέλεσμα τους επηρεάζεται από τον τρόπο που υπολογίζεται η γενετική απόσταση. Οι αλγοριθμικές μέθοδοι προχωρούν συνήθως ομαδοποιώντας τις δύο πιο όμοιες αλληλουχίες και στη συνέχεια λαμβάνοντας αυτές τις δύο αλληλουχίες ως μια ομάδα εκτιμών εκ νέου τις γενετικές αποστάσεις σε σχέση με τις υπόλοιπες αλληλουχίες και βρίσκουν το επόμενο πιο όμοιο γενετικά ζευγάρι κ.ο.κ.

υποκατάστασης που προτάθηκε από το υπολογιστικό πρόγραμμα Modeltest 3.7 (Posada & Crandall 1998) και το PAUP (v.4.0b10) (Swofford 2002), σύμφωνα με το κριτήριο της ελάχιστης πληροφορίας (Akaike Information Criterion, AIC) (Akaike 1974a). Όπως και στο κεφάλαιο 2, λόγω της έλλειψης υπολογιστικής ισχύος των μοντέλων να εκτιμήσουν αξιόπιστα τις παραμέτρους Γάμμα (Gamma, G) και Αμετάβλητων Νουκλεοτιδικών Θέσεων (Invariable, I), όταν αυτές χρησιμοποιούνται ταυτόχρονα (G+I μοντέλα), πραγματοποιήθηκε έλεγχος μόνο για μοντέλα που περιελάμβαναν την παράμετρο G (Yang 2006). Το επιλεγμένο μοντέλο για το εξώνιο 2 ήταν το μοντέλο μεταστροφών με παράμετρο Γ (TVMef+G, Posada 2003)¹, ενώ για το εξώνιο 3 το Kimura 3-parameter με παράμετρο Γ για μεταβλητές θέσεις (K3P+G, Kimura 1981)². Για καθένα εξώνιο πραγματοποιήθηκαν τέσσερις ανεξάρτητες εκτελέσεις, κάθε μια εκ των οποίων περιελάμβανε οκτώ αλυσίδες (chains). Σε κάθε ανάλυση, ο αριθμός των επαναλήψεων (γενεών) ορίστηκε σε 10^7 , ενώ για κάθε 100 γενεές αποθηκευόταν το τρέχον δέντρο, δημιουργώντας μια μήτρα 10^5 δέντρων. Ως μέση τυπική απόκλιση του διαχωρισμού των συχνοτήτων (average standard deviation of split frequencies) των τεσσάρων αναλύσεων, ορίστηκε η τιμή 0,01, το όριο της οποίας θεωρήθηκε ως το σημείο σταθεροποίησης της τιμής πιθανοφάνειας ($-\ln L$), επιβεβαιώνοντας ταυτόχρονα τη σύγκλιση μεταξύ διαφορετικών εκτελέσεων (για περισσότερες πληροφορίες βλέπε το εγχειρίδιο του προγράμματος MrBayes 3.1.2). Ως αποτέλεσμα αυτού, τα πρώτα $2,5 \times 10^4$ δέντρα που παρήχθησαν (25% επί του συνόλου), απερρίφθησαν (burn-in), ως ένα συντηρητικό μέτρο αποφυγής της πιθανότητας να συμπεριληφθούν στα αποτελέσματά μας τυχαία και ακατάλληλα δέντρα, μια και το διάστημα αυτό θεωρείται ότι απαιτείται μέχρι τη σταθεροποίηση της τιμής $-\ln L$. Από τα εναπομείναντα $7,5 \times 10^4$ δέντρα, κατασκευάστηκε το συναινετικό. Το συναινετικό δέντρο κατασκευάστηκε και εκτιμήθηκε με βάση την εκ των υστέρων κατανομή των δέντρων ακολουθώντας τον κανόνα του 50% πλειοψηφικής αποδοχής δέντρου (50% majority rule consensus tree), ενώ οι εκ των υστέρων πιθανότητες υπολογίστηκαν ως το ποσοστό των δέντρων που υποστηρίζουν έναν κλάδο (Huelsenbeck & Ronquist 2001). Πιθανότητες $\geq 95\%$ υποδεικνύουν σημαντική στατιστική υποστήριξη.

¹ *Transversion model with equal frequencies (TVMef)*: Το μοντέλο μεταστροφών υποστηρίζει ότι η συχνότητα των νουκλεοτιδίων είναι σε ισορροπία, ο ρυθμός υποκατάστασης μιας νουκλεοτιδικής θέσης τύπου μετάβασης είναι ίδιος για πουρίνες και πυριμιδίνες, ενώ ο ρυθμός υποκατάστασης τύπου μεταστροφής διαφέρει ανάλογα με την κατεύθυνση της αλλαγής και την βάση.

² *Kimura 3-parameter (K3P)*: Αυτό το μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης υποστηρίζει ότι η συχνότητα των νουκλεοτιδίων είναι σε ισορροπία, ο ρυθμός υποκατάστασης μιας νουκλεοτιδικής θέσης τύπου μετάβασης είναι ίδιος για πουρίνες και πυριμιδίνες, ενώ ο ρυθμός υποκατάστασης τύπου μεταστροφής διαφέρει ανάλογα με την κατεύθυνση της αλλαγής.

4.2.2.4. Καταμέτρηση παρασιτικού φορτίου

Οι σαύρες που συλλέχτηκαν στο πεδίο για τη μελέτη της λειτουργίας της κυτταρικής ανοσίας, μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο και ελέγχθηκαν για την παρουσία κροτώνων (τσιμπουριών) (οικογένεια Ixodidae) και ακάρεων (οικογένεια Trombiculidae). Η καταμέτρηση των εξωπαρασίτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση στερεοσκοπίου, ενώ υπολογίστηκε το μέσο παρασιτικό φορτίο (μέσος αριθμός εξωπαρασίτων ανά σαύρα, infestation levels) και τα ποσοστά προσβολής από παθογόνα παράσιτα (σχετική συχνότητα μολυσμένων σαυρών ανά πληθυσμό, ectoparasite prevalence) καθενός πληθυσμού (Amo και συν. 2006, Pafilis και συν. 2013).

Για την εκτίμηση του παρασιτικού φορτίου των σαυρών από αιμοπαράσιτα, της οικογένειας Haemogregarinidae, λήφθηκε δείγμα αίματος από κάθε ζώο αποκόπτοντας την άκρη της ουράς του. Το αίμα επιστρώθηκε σε αντικειμενοφόρο πλάκα (επίχρισμα, smear) και αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι να στεγνώσει. Στη συνέχεια, το επίχρισμα μονιμοποιήθηκε βυθίζοντάς το σε δοχείο με μεθανόλη για 5 min και σε χρωστική Giemsa (Sigma) (αραιωμένη με ddH₂O σε αναλογία 1:15) για 15 min. Η παρατήρηση των αιμοπαρασίτων έγινε με ελαιοκαταδυτικό φακό, σε μεγέθυνση 100×, με τη χρήση κεδρελαίου. Σε κάθε επίχρισμα εξετάστηκαν 2×10^3 κύτταρα αίματος, σαρώνοντας την πλάκα για την παρουσία αιμοπαρασίτων (Σίμου 2009). Όπως και προηγουμένως, εκτιμήθηκε η ένταση του ενδοπαρασιτικού φορτίου (ως αριθμός προσβεβλημένων ερυθροκυττάρων στο σύνολο των 2000 ερυθροκυττάρων) και τα ποσοστά μόλυνσης, από αιμοπαράσιτα, για καθένα πληθυσμό μελέτης.

4.2.2.5. Εξέταση της ισχύος της κυτταρικής ανοσίας

Η ποσοτικοποίηση της κυτταρομεσολαβούμενης ανοσολογικής απόκρισης πραγματοποιήθηκε με τη χρήση δύο προσεγγιστικών μεθόδων: (α) της *in vitro* τεχνικής της μικτής λεμφοκυτταρικής αντίδρασης (mixed lymphocyte reaction, MLR) και (β) της *in vivo* τεχνικής της ενέσεως ενός μιτογόνου. Δεδομένου ότι η δεύτερη τεχνική ενεργοποιεί το επίκτητο αλλά και μέρος του φυσικού σκέλους ανοσίας (βλ. παρακάτω), τα αποτελέσματα από την τεχνική της MLR απετέλεσαν μέτρο ελέγχου για την σύγκριση του πολλαπλασιασμού των T λεμφοκυττάρων μεταξύ των πληθυσμών μελέτης.

Εξαιτίας της επίδρασης του φύλου και της ηλικίας στην ανοσολογική απόκριση, στην παρούσα έρευνα χρησιμοποιήθηκαν μόνο ενήλικες αρσενικές σαύρες (Burnham και συν. 2005, Hasselquist 2007, Saad 1989). Επιπλέον, λόγω της επίδρασης της εποχικότητας

και του υψομέτρου στην ισχύ απόκρισης του ανοσοποιητικού συστήματος, οι σαύρες, πριν τη διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας, αφέθηκαν να εγκλιματιστούν στο εργαστήριο για μια περίοδο περίπου δύο εβδομάδων (Kaunisto & Suhonen 2013, Παρ και συν. 2010, Saad & El Ridi 1984, Smith & John-Alder 1999). Για κάθε σαύρα, που συλλέχθηκε στο πεδίο, καταγράφηκε το χρώμα του λαιμού (λευκό ή κίτρινο), η κατάσταση της ουράς (κομμένη, αναγεννημένη ή άθικτη), το μήκος και βάρος σώματος, με τη χρήση ηλεκτρονικού βερνιέρου (Silverline 380244, ακρίβειας 0,01 mm) και ηλεκτρονικού ζυγού (Ohaus, Scout-TM, ακρίβειας 0,01 g) (τα στοιχεία δίνονται στον **πίνακα 4.3**), αντίστοιχα, καθώς προηγούμενες μελέτες σε σαύρες έχουν αποδείξει ότι οι παράμετροι αυτοί μπορούν να επηρεάσουν και να ερμηνεύσουν τις διαφορές που είναι πιθανό να παρουσιάζουν τα επίπεδα της κυτταρικής ανοσίας (Folstad & Karter 1992, Kuo και συν. 2013, Olsson και συν. 2004, Sacchi και συν. 2007, Slos και συν. 2009).

Παρ' όλο που, για τη μελέτη του ανοσοποιητικού συστήματος σε μη μοντέλα οργανισμούς, έχουν αναπτυχθεί αρκετές μεθοδολογικές προσεγγίσεις, η τεχνική της MLR δεν αποτελεί μια από της πλέον διαδεδομένες. Η μέθοδος αυτή, ωστόσο, έχει σημαντικές κλινικές εφαρμογές, όπως είναι ο έλεγχος της ιστοσυμβατότητας (δηλαδή έλεγχος της καταλληλότητας ενός μοσχεύματος) και η τυποποίηση των HLA αντιγόνων (William 2008). Ο λόγος που αποφεύγεται η MLR έγκειται στην πολυπλοκότητα της μεθόδου, στο κόστος αυτής και στον χρόνο, που απαιτείται για την παραγωγή των αποτελεσμάτων, αλλά και, σε ορισμένες περιπτώσεις, στην ανάγκη θανάτωσης του πειραματόζωου. Παρ' όλα αυτά, η προσέγγισή της θεωρείται ιδανική προκειμένου να εξετασθεί η ανοσολογική απόκριση των λεμφοκυττάρων σε εξωκυτταρικά επιφανειακά αντιγόνα, χωρίς προηγούμενη ευαισθητοποίησή τους σε αυτά (Wilson & Nowell 1970, Wilson και συν. 1967). Το τελευταίο γεγονός παρέχει σαφές πλεονέκτημα στην MLR, έναντι άλλων τεχνικών, οι οποίες είναι είτε ανοσολογικά μη ειδικές (όπως η διέγερση με φυτοαιμαγλουτινίνη και κονκαναβαλίνη A) (Goto και συν. 1978, Martin και συν. 2006) ή απαιτούν προηγούμενη ενεργοποίηση με αντιγόνα (Mangi & Kantor 1975).

Η MLR έχει γίνει γνωστή σαν το *in vitro* σύστημα που απεικονίζει πιστότερα από κάθε άλλο την κατάσταση του ανοσοποιητικού συστήματος *in vivo* (Lightbody και συν. 1971). Η ρύθμιση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος, μέσω της MLR, διαιρείται σε τρία στάδια (Bergholtz και συν. 1977, Gottlieb και συν. 1979, Palacios & Möller 1981, Romain και συν. 1984). Επιγραμματικά, στο πρώτο στάδιο δημιουργούνται τα εκτελεστικά επαγωγικά T λεμφοκύτταρα (TEE λεμφοκύτταρα), μια διαδικασία που γίνεται σταδιακά: Αρχικά, πρόδρομα επαγωγικά T (TΠΕ) αναγνωρίζουν τα MHC μόρια (ή

HLA, όπως ονομάζονται στον άνθρωπο) σε αυτόλογα (στην αυτόλογη MLR) ή σε ετερόλογα (στην ετερόλογη MLR) μονοκύτταρα. Στη συνέχεια, εξαιτίας της επίδρασης της ιντερλευκίνης-1 (IL-1), που παράγεται και εκκρίνεται από τα μονοκύτταρα, τα ΤΠΕ διαφοροποιούνται σε δέκτες επαγωγικά Τ (ΤΔΕ) λεμφοκύτταρα. Τελικά, εκείνα έρχονται στο τελευταίο στάδιο διαφοροποίησής τους (ΤΕΕ λεμφοκύτταρα) ύστερα από την επίδραση της IL-1, αλλά και της IL-2 που παράγεται από τα ίδια τα ΤΔΕ λεμφοκύτταρα. Στο δεύτερο στάδιο της MLR σχηματίζονται τα Τ εκτελεστικά κατασταλτικά (ΤΕΚ) λεμφοκύτταρα, τα οποία διαδραματίζουν ρόλο ανταγωνιστικό προς εκείνο των ΤΕΕ στη ρύθμιση της ανοσοαπόκρισης. Όπως και προηγουμένως, έτσι και εδώ η δημιουργία των ΤΕΚ γίνεται σταδιακά. Συγκεκριμένα, αναγνωρίζονται τα ΜHC μόρια πάνω σε μονοκύτταρα (αναγνωρίζονται διαφορετικοί τύποι, σε σχέση με εκείνους για το σχηματισμό των ΤΕΕ) από πρόδρομα κατασταλτικά Τ λεμφοκύτταρα (ΤΠΚ), τα οποία μέσω της επίδρασης της IL-1 διαφοροποιούνται σε δέκτες κατασταλτικά κύτταρα (ΤΔΚ). Τελικά, με την παραγωγή IL-2 από τα ΤΔΕ, που σχηματίστηκαν στο πρώτο στάδιο, τα ΤΔΚ διαφοροποιούνται σε ΤΕΚ. Συνεπώς, γίνεται σαφές ότι η δημιουργία των ΤΕΕ επηρεάζει τη δημιουργία των ΤΕΚ. Τέλος, στο τρίτο στάδιο, τα ΤΕΚ και ΤΕΕ ρυθμίζουν ανταγωνιστικά όλες τις λειτουργίες του ανοσοποιητικού συστήματος. Η αναγνώριση των αυτόλογων ΜHC τάξης II αντιγόνων επιφανείας στο *in vivo* σύστημα, συντελεί στην ομαλή λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, καθώς ανεπάρκεια της διαδικασίας αυτής μπορεί να οδηγήσει σε ανοσολογικές διαταραχές (π.χ. αυτοάνοσα νοσήματα) (Farrar και συν. 1986, Theophilopoulos 1985). Αυτή η διαταραχή της ομοιόστασης στο *in vitro* σύστημα της MLR, η οποία επιτρέπει τη δημιουργία ανοσοαπόκρισης ενάντια στα εαυτά μόρια και οφείλεται στην παρουσία πολλών αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (μονοκύτταρα) στην καλλιέργεια, μας επιτρέπει να μετρήσουμε τον πολλαπλασιασμό των Τ κυττάρων σε μια MLR (Lightbody και συν. 1971).

Σε αντίθεση με την παραπάνω τεχνική, η τεχνική της ενέσεως ενός μιτογόνου (π.χ. φυτοαιμαγλουτινίνη, PHA) χρησιμοποιείται ευρύτατα σε μελέτες οικο-ανοσολογίας, διότι μπορεί να πραγματοποιηθεί εύκολα στο πεδίο, είναι γρήγορη, ανέξοδη και η παραγωγή του αποτελέσματος είναι άμεση (εντός 24 ωρών). Το σημαντικότερο όμως πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι ότι δεν απαιτεί τη θυσία του ζώου. Ωστόσο, η ένεση με μιτογόνο θεωρείται μη ειδική μέθοδος ανοσοαπόκρισης, καθότι διακρίνεται σε δύο ξεχωριστές φάσεις, στις οποίες λαμβάνουν χώρα διακριτά γεγονότα και ενεργοποιούνται διαφορετικά συστατικά του ανοσοποιητικού συστήματος (δηλαδή σκέλη της ανοσίας) (Martin και συν. 2006, Smits και συν. 1999). Συγκεκριμένα, στην πρώτη φάση, που λαμβάνει χώρα 12 με

16 ώρες μετά την ένεση π.χ. της PHA, δημιουργείται οίδημα στη γύρω περιοχή λόγω της εξαγγείωσης πλάσματος από τα αγγεία της περιοχής. Με άλλα λόγια, στην πρώτη φάση ενεργοποιείται το σκέλος της φυσικής ανοσίας, που κατά κύριο λόγο περιλαμβάνει τη «στρατολόγηση» βασεόφιλων και μακροφάγων κυττάρων (Elgert 1996). Στη δεύτερη φάση, καταφθάνουν στην περιοχή και συσσωρεύονται T λεμφοκύτταρα, τα οποία ευαισθητοποιούνται από την PHA. Η δεύτερη φάση ολοκληρώνεται 24 ώρες μετά την ένεση, στιγμή όπου το οίδημα είναι μέγιστο (Goto και συν. 1978, McCorkle και συν. 1980, Stadercker και συν. 1977). Συνεπώς, είναι σαφές ότι η PHA επηρεάζει πλήθος κυτταρικών τύπων και δεν είναι παράλογο που προηγούμενοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι οι διαφορές στα οίδημα που παρατηρούνται μεταξύ διαφορετικών ατόμων θα πρέπει να αντικατοπτρίζουν τη γενικότερη φυσική κατάσταση και υγεία του ζώου, παρέχοντας παράλληλα πληροφορία και για την ισχύ της απόκρισης της κυτταρικής ανοσίας (Kennedy & Nager 2006, Martin και συν. 2006, Smits και συν. 1999).

4.2.2.5.1. Μικτή λεμφοκυτταρική αντίδραση (*in vitro*)

Η τεχνική βασίζεται στη μέτρηση και τον υπολογισμό της ικανότητας των παρθένων T λεμφοκυττάρων του δέκτη να πολλαπλασιάζονται, μετά την αναγνώριση των ετερόλογων αντιγόνων στην επιφάνεια των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων του δότη. Στην παρούσα μελέτη, ελεγχόταν, με την MLR, η ικανότητα των λεμφοκυττάρων της *L. trilineata* (δέκτης), που προέρχονται από τον σπλήνα, να πολλαπλασιάζονται μετά τη διέγερσή τους με ετερόλογα/αλλογενή αντιγόνα (MHC μόρια) που εκφράζονται στην επιφάνεια των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων της *Podarcis erhardii* (δότης). Ανάλογη μελέτη έχει πραγματοποιηθεί από τους Valakos και συν. (2007) σε είδη του γένους *Podarcis*.

Για την πραγματοποίηση της κυτταρομεσολαβούμενης ανοσολογικής απόκρισης, με τη χρήση της τεχνικής της MLR, χρησιμοποιήθηκε ένα μόνο υποσύνολο των σαυρών του κάθε πληθυσμού (5 - 7 άτομα, το μέγεθος δείγματος δίνεται αναλυτικά στον **πίνακα 4.3**), λόγω της ανάγκης θανάτωσης των ζώων. Η τεχνική της MLR βασίζεται στην *in vitro* ενεργοποίηση και διέγερση των λεμφοκυττάρων ενός ζώου ύστερα από έκθεσή τους σε αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα τα οποία εκφράζουν αλλογενή MHC μόρια.. Όπως συμβαίνει και σε άλλα taxa (θηλαστικά, πτηνά και αμφίβια) (βλ. παραπάνω) έτσι και στα ερπετά ο βασικός αποκρινόμενος τύπος κυττάρων στη δοκιμασία της MLR είναι τα T βοηθητικά λεμφοκύτταρα (Th, CD4+) (Burnham και συν. 2005, Farag & El Ridi 1985).

Επιγραμματικά, η πειραματική διαδικασία περιλαμβάνει τρία στάδια. Σε πρώτο στάδιο τα σπληνοκύτταρα κάθε ζώου απομονώνονται και τοποθετούνται σε πλήρες θρεπτικό υλικό (complete medium, CM) [περιέχει: RPMI-1640 medium (Gibco, Grand Island, NY, USA), εμπλουτισμένο 1% ορό βοδιού (fetal calf serum, FCS, Gibco), που αποτελεί πηγή πρωτεϊνών για την βιωσιμότητα των κυττάρων, 2 mM L-γλουταμίνη (Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA), 10 mM ρυθμιστικό διάλυμα Hepes (Gibco), 5×10^{-5} M 2-μερκαπτοαιθανόλη (Gibco) and 1% πενικιλίνη-στρεπτομυκίνη (Gibco) (Valakos και συν. 2007)]. Έπειτα, 100 μl από τα κύτταρα του δέκτη σε συγκέντρωση 1×10^5 σπληνοκύτταρα/ml αναμειγνύονται με ίσο όγκο ελαιώδη σπληνοκυττάρων δότη σε αναλογία 1:1. Κάθε δείγμα τοποθετείται, εις τριπλούν, σε πλάκα καλλιέργειας 96 κοίλων φρεατίων (Costar, Cambridge, MA, USA). Ως μάρτυρες της αντίδρασης, χρησιμοποιούνται σπληνοκύτταρα δέκτη και δότη, που δεν έχουν αναμιχθεί μεταξύ τους, ώστε να μετρηθεί ο φυσιολογικός πολλαπλασιασμός τους. Τα κύτταρα επωάζονται για πέντε μέρες στους 37°C, σε περιβάλλον 5% CO₂ και 95% υγρασίας. 18 ώρες πριν την συλλογή τους (τέλος της επώασης) προστίθενται, σε κάθε φρεάτιο, 50 μl πλήρους θρεπτικού υλικού που περιέχει 1 μCi τριτιωμένης θυμιδίνης (³H-Thy, Amersham, UK) (Valakos και συν. 2007). Η θυμιδίνη ενσωματώνεται στο νεοσυντιθέμενο DNA των λεμφοκυττάρων που πολλαπλασιάζονται και η μέτρηση του ποσοστού ενσωμάτωσής της αποτελεί δείκτη του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Τα λεμφοκύτταρα, που πολλαπλασιάζονται, περισυλλέγονται σε ειδικό διηθητικό χαρτί με ίνες γυαλιού, με τη χρησιμοποίηση μιας ημιαυτόνομης συσκευής συλλογής κυττάρων και διαποτίζονται με υγρό σπινθηρισμού (Dx-Base).

Ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων ή αλλιώς τα επίπεδα διέγερσης των λεμφοκυττάρων του δέκτη, ποσοτικοποιούνται, με τη μέτρηση της εκπεμπόμενης, από το τρίτιο, β-ακτινοβολίας, δηλαδή της ενσωματωμένης ραδιενέργειας στο DNA των κυττάρων στόχων, σε ειδικό μετρητή και υπολογίζονται από τον ακόλουθο τύπο (οι τιμές εκφράζονται ως δείκτης διέγερσης, stimulation index, S.I.):

$$S.I. = \frac{cpm \text{ δειγμάτων } MLR}{\Sigma(cpm \text{ μάρτυρα})}$$

όπου, cpm (counts per minute) δειγμάτων είναι οι κρούσεις, ανά λεπτό, που μετριοούνται ύστερα από ενεργοποίηση των κυττάρων δέκτη από τα κύτταρα του δότη και $\Sigma(cpm \text{ μάρτυρα})$ είναι το άθροισμα των τιμών κρούσεων ανά λεπτό, που καταγράφεται από τους μάρτυρες.

Πρέπει να τονιστεί, ότι, στην παρούσα έρευνα, τα κύτταρα δότη επωάστηκαν παρουσία μιτομυκίνης c (mitomycin c, mit-c) (Mangi & Kantor 1975). Η mit-c συνδέεται στη μεγάλη και μικρή αλυσίδα του DNA, σχηματίζοντας σύμπλοκο με αυτό, αποτρέποντας τον διαχωρισμό των συμπληρωματικών ελίκων. Άμεση συνέπεια του τελευταίου, είναι η αναστολή της αντιγραφής του DNA και, συνεπακόλουθα, ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων (Rink και συν. 1996, Tomasz και συν. 1987). Παρ' όλα αυτά, δεν χάνεται η αντιγονοπαρουσιαστικότητά τους. Συνεπώς, στην περίπτωση της μονόδρομης MLR, τα κύτταρα του δότη αποτελούν απλά διεγέρτες της όλης αντίδρασης, εκφράζοντας αλλοαντιγόνα τα οποία είναι ξένα για τα κύτταρα του δέκτη.

4.2.2.5.2. Καθυστερημένη δερματική αντίδραση υπερευαισθησίας (*in vivo*)

Η μιτογόνο ουσία που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα έρευνα είναι η φυτοαιμαγλουτινίνη (phytohaemagglutinin, PHA). Η PHA αποτελεί μία ένωση που παράγεται από τα κόκκινα φασόλια (*Phaseolus vulgaris*) και πιστεύεται ότι χρησιμεύει ως άμυνα αυτών έναντι των φυτοφάγων ζώων. Όπως και άλλες λεκτίνες, έτσι και η PHA διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων και των T λεμφοκυττάρων (Elgert 1996).

Η καθυστερημένη δερματική αντίδραση υπερευαισθησίας (Belliere και συν. 2004, Orpliger και συν. 2004), όπως αλλιώς ονομάζεται, ποσοτικοποιήθηκε με την έγχυση 100 μ l διαλύματος PHA (Sigma Lectin from *Phaseolus vulgaris*, Lyophilized powder, L- 8754) συγκέντρωσης 2,5 mg/ml φωσφορικού ρυθμιστικού διαλύματος (PBS) pH 7,4 (López & Martín 2005). Το πάχος του αριστερού ποδιού, μετά την δεύτερη άρθρωση, μετρήθηκε πριν και 24 ώρες μετά την ένεση, με τη χρήση μικρομέτρου (ακρίβειας 0,1 mm). Ανάλογη διαδικασία ακολουθήθηκε και για το δεξί πόδι, το οποίο χρησίμευσε ως μάρτυρας της όλης αντίδρασης. Για το λόγο αυτό, σε αντίθεση με το αριστερό πόδι, στο δεξί πόδι χορηγήθηκαν 100 μ L PBS. Ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων στην περιοχή της ενέσεως, υπολογίστηκε ως η μεταβολή του πάχους στο πόδι που εγχύθηκε PHA μείον τη μεταβολή του πάχους στο πόδι που εγχύθηκε PBS (Belliere και συν. 2004, López & Martín 2005). Μεγαλύτερο εντοπισμένο οίδημα, αποτέλεσε ένδειξη ισχυρότερης κυτταρικής ανοσολογικής απόκρισης.

Τέλος, θα πρέπει να σημειωθεί και πάλι ότι, σε αντίθεση με την προηγούμενη τεχνική, όπου χρησιμοποιήθηκε ένα υποσύνολο των σαυρών του κάθε πληθυσμού, για την

τεχνική της PHA χρησιμοποιήθηκαν όλα τα άτομα των πληθυσμών (το μέγεθος δείγματος που χρησιμοποιήθηκε σε κάθε μια τεχνική δίνεται αναλυτικά στον **πίνακα 4.3**).

4.2.3. Στατιστικές αναλύσεις

Για κάθε μια από τις μεταβλητές, που εξετάστηκαν, διεξήχθη έλεγχος κανονικότητας και ετερογένειας με τη χρήση της ανάλυσης Kolmogorov-Smirnov και Lilliefors. Εφόσον όλες οι μεταβλητές ακολουθούσαν κανονική κατανομή, πραγματοποιήθηκαν παραμετρικά τεστ. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε one-way ANOVA χρησιμοποιούμενου του μήκους σώματος (SVL) καθώς και του αριθμού εξω- και αιμο- παρασίτων, ως εξαρτημένων μεταβλητών, ενώ η τοποθεσία προέλευσης των σαυρών απετέλεσε την ανεξάρτητη μεταβλητή. Αντίστοιχα, χρησιμοποιήθηκε δοκιμασία two-way ANOVA, προκειμένου να ελεγχθεί, εάν οι πληθυσμοί της *L. trilineata* διαφέρουν μεταξύ τους, όσον αφορά τα επίπεδα ανοσολογικής απόκρισης (ελήφθησαν με τις τεχνικές PHA και MLR). Η ανάλυση αυτή πραγματοποιήθηκε τρεις φορές λαμβανομένης υπ' όψιν της συνδυασμένης δράσης του περιβάλλοντος (νησιωτικό ή μη) με: (α) το καθεστώς προστασίας (ανθρώπινη παρέμβαση στο περιβάλλον) της περιοχής (προστασία ή μη), (β) την κατάσταση της ουράς (κομμένη, άθικτη) και (γ) το χρώμα του λαιμού. Για την κατά ζεύγη σύγκριση των εξεταζόμενων πληθυσμών, χρησιμοποιήθηκε έλεγχος post-hoc Tukey HSD. Επιπλέον, λόγω της επίδρασης του μεγέθους σώματος στα επίπεδα πολλαπλασιασμού των Τ λεμφοκυττάρων - σχέση η οποία εξακριβώθηκε με την πραγματοποίηση ανάλυσης παλινδρόμησης, μεταξύ του SVL και των τιμών διέγερσης των λεμφοκυττάρων - η παραπάνω ανάλυση επαναλήφθηκε, χρησιμοποιούμενου του μήκους σώματος ως συμμεταβλητής (two-way ANCOVA) (βλ. παρακάτω).

Για τον έλεγχο των διαφορών που παρατηρήθηκαν στην απόδοση της κυτταρικής ανοσίας, μεταξύ των πληθυσμών μελέτης της *L. trilineata*, η ανάλυση ANOVA επαναλήφθηκε λαμβάνοντας υπ' όψιν τις φυλογενετικές σχέσεις των πληθυσμών (phyloANOVA) (Garland και συν. 1993). Για να το επιτύχουμε αυτό, κατασκευάστηκε το φυλογενετικό δέντρο των έξι πληθυσμών μελέτης, στηριζόμενοι στα αποτελέσματα των φυλογενετικών αναλύσεων. Οι φυλογενετικές σχέσεις των πληθυσμών δημιουργήθηκαν με τη χρήση του πακέτου APE (Paradis και συν. 2004), ενώ η ανάλυση της φυλογενετικής ANOVA (Garland και συν. 1993) πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του πακέτου GEIGER (Harmon και συν. 2008) σε συνδυασμό με έλεγχο Bonferroni για τη σύγκριση κατά ζεύγη.

Επιπλέον, διεξήχθη one-way ANOVA, προκειμένου να ελεγχθεί, εάν ο βαθμός πολυμορφισμού των MHC μορίων τάξης I, διαφέρει μεταξύ των έξι πληθυσμών μελέτης. Ωστόσο, δεδομένου ότι τα εξώνια 2 & 3 αποτελούν μεταγραφόμενες περιοχές και λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι ο γενετικός κώδικας είναι εκφυλισμένος, η ανάλυση ANOVA πραγματοποιήθηκε τόσο σε νουκλεοτιδικό όσο και αμινοξικό επίπεδο. Ακόμη, εφαρμόστηκε ανάλυση παλινδρόμησης, σε κάθε έναν πληθυσμό μελέτης, ώστε να αποσαφηνισθεί η σχέση του βαθμού πολυμορφισμού των MHC μορίων τάξη I - όπως αυτός εκφράζεται από τον αριθμό των αμινοξικών αλληλουχιών των εξωνίων 2 & 3 - με την ισχύ της κυτταρικής ανοσίας. Δεδομένης, όμως, της επίδρασης της γενετικής ποικιλότητας των MHC μορίων τάξης I στον πολλαπλασιασμό των T λεμφοκυττάρων, διεξήχθη, επιπρόσθετα, one-way ANOVA, χρησιμοποιούμενου του αριθμού των αμινοξικών αλληλουχιών των εξωνίων 2 & 3 ως ανεξάρτητων μεταβλητών και του πάχους του οιδήματος, καθώς και του αριθμού εξω- και αιμο- παρασίτων ως εξαρτημένων μεταβλητών. Οι δύο τελευταίες αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν τόσο σε πληθυσμιακό (αφού λάβαμε υπ' όψιν την περιοχή προέλευσης) όσο και ατομικό (χωρίς να ληφθεί υπ' όψιν η περιοχή προέλευσης) επίπεδο.

Τέλος, προκειμένου να αποσαφηνισθεί ο τρόπος, με τον οποίο η αύξηση του παρασιτικού φορτίου επηρεάζει τον πολλαπλασιασμό των T λεμφοκυττάρων (δηλαδή την ισχύ απόκρισης της κυτταρικής ανοσίας) και, συνακόλουθα, τη φυσική κατάσταση του ζώου, χρησιμοποιήθηκαν τρεις στατιστικές αναλύσεις. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε ανάλυση συσχέτισης, ώστε να διερευνηθεί η επίδραση της αύξησης του αριθμού των εξω- και αιμο- παρασίτων στον πολλαπλασιασμό των T λεμφοκυττάρων. Έπειτα, προκειμένου να αποσαφηνισθεί ο τρόπος με τον οποίο τα επίπεδα κυτταρομεσολαβούμενης ανοσολογικής απόκρισης μεταβάλλονται με την αύξηση του παρασιτικού φορτίου, διεξήχθη ανάλυση παλινδρόμησης σε καθέναν από τους έξι πληθυσμούς ξεχωριστά. Τέλος, εφαρμόστηκε στα δεδομένα μας έλεγχος χ^2 , ώστε να εξετασθεί η επίδραση του περιβάλλοντος στα ποσοστά προσβολής των σαυρών από εξω- και αιμο- παράσιτα. Όλες οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του προγράμματος R (v. 2.15.3) (R Development Core Team 2011).

4.2.3.1. Κριτήριο πληροφoρίας Akaike

Στοχεύοντας στην επιλογή ενός μοντέλου το οποίο θα εφαρμόζει καλύτερα στα δεδομένα μας (με τον όρο μοντέλο αναφερόμαστε στην συνδυασμένη δράση των

μεταβλητών που μελετήθηκαν), πραγματοποιήθηκε το διορθωμένο κριτήριο πληροφορίας του Akaike (Akaike Information Criterion, AIC_C) (Burnham & Anderson 2002).

Με τον όρο επιλογή μοντέλων, γίνεται προσπάθεια ουσιαστικά να συνδυαστούν δύο αλληλοσυγκρουόμενα «συμφέροντα». Πρώτον, η όσο το δυνατόν καλύτερη προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα μας, γεγονός που, συνήθως επιτυγχάνεται με την εισαγωγή νέων μεταβλητών σε αυτό και, δεύτερον, η μείωση της πολυπλοκότητας αυτού, που επιτυγχάνεται με τη φειδωλή χρήση μεταβλητών, προκειμένου το μοντέλο να είναι εύκολα ερμηνεύσιμο. Η κύρια ιδέα της μεθόδου, έγκειται στην κατάλληλη ποινικοποίηση της μέγιστης πιθανοφάνειας¹ κάθε μοντέλου, με σκοπό την επιλογή του καταλληλότερου. Το AIC, επομένως, αποτελεί ένα κριτήριο πληροφορίας, δηλαδή ένα μηχανισμό που χρησιμοποιεί τα δεδομένα του προβλήματος, δίνοντας σε κάθε υποψήφιο μοντέλο μια τιμή που το χαρακτηρίζει (Akaike 1974b). Τελικά, όσο μικρότερη η τιμή του κάθε μοντέλου τόσο πιο κατάλληλο κρίνεται. Λόγω της αδυναμίας του κριτηρίου AIC να αυξάνει την τιμή της μέγιστης πιθανοφάνειας ενός μοντέλου όσο το μέγεθος δείγματος αυξάνεται, στην παρούσα έρευνα χρησιμοποιήθηκε το σταθμισμένο κριτήριο πληροφορίας του Akaike (AIC_C) (Burnham & Anderson 2002), που λαμβάνει υπ' όψιν αυτήν την εγγενή τάση.

Στην περίπτωση του είδους *L. trilineata*, προκειμένου να βρεθεί το καταλληλότερο μοντέλο, που εφαρμόζει στα δεδομένα μας και ερμηνεύει καλύτερα τις διαφορές που παρατηρήθηκαν στην ισχύ της κυτταρικής ανοσίας, μεταξύ των πληθυσμών μελέτης, χρησιμοποιήθηκαν όλες εκείνες οι μεταβλητές, που εξετάσθηκαν στην παρούσα εργασία και που έχουν αποδειχθεί ότι επηρεάζουν τον πολλαπλασιασμό των T λεμφοκυττάρων. Με τον τρόπο αυτό, δημιουργήθηκαν και συγκρίθηκαν 64 διαφορετικά μοντέλα. Η μεταβλητή πάχος οιδήματος (τεχνική PHA) απετέλεσε την εξαρτημένη μεταβλητή, ενώ οι μεταβλητές: αριθμός εξω- και αιμο- παρασίτων, αριθμός αλληλουχιών για τα εζώνια 2 & 3, περιβάλλον (νησιωτικό ή μη), χρώμα λαιμού, ανθρώπινες παρεμβάσεις (ναι ή όχι), κατάσταση ουράς (άθικτη, κομμένη, αναγεννημένη) και περιοχή μελέτης, χρησιμοποιήθηκαν ως ανεξάρτητες μεταβλητές. Προκειμένου να αξιολογήσουμε την καταλληλότητα των μοντέλων, χρησιμοποιήθηκε ανάλυση ANOVA, με επίδραση τυχαίων παραγόντων (random-effects, χρησιμοποιήθηκαν οι μεταβλητές: περιβάλλον και περιοχή

¹ Ποινικοποίηση της μέγιστης πιθανοφάνειας: Η ανάγκη ποινικοποίησης της μέγιστης πιθανοφάνειας εξυπηρετεί την αρχή της φειδωλότητας που πρέπει να διέπει μια στρατηγική επιλογής μοντέλου. Έχει αποδειχθεί ότι η μεταβλητότητα και άρα η διασπορά της μεταβλητής απόκρισης μειώνεται όταν έχουμε μικρό αριθμό παραμέτρων προς εκτίμηση, ενώ η μεροληψία των επεξηγηματικών μεταβλητών αυξάνεται, καθιστώντας το μοντέλο πιο «άκαμπτο», πράγμα που δεν βοηθάει στη γενίκευση του μοντέλου σε όλο τον πληθυσμό. Αντίθετα, προσθέτοντας παραμέτρους στο μοντέλο παλινδρόμησης, τότε αυξάνεται ο βαθμός μεταβλητότητας αλλά μειώνεται η μεροληψία μοντελοποίησης. Με βάση τα παραπάνω, εάν χρησιμοποιούσαμε σαν μέτρο σύγκρισης των επιλεγμένων μοντέλων μόνο τη μέγιστη πιθανοφάνεια, μοιραία θα επιλέγαμε το πολυπλοκότερο μοντέλο ως καταλληλότερο, το οποίο είναι δύσκολο, αφενός, να προσαρμοστεί στα δεδομένα και, αφετέρου, να εξαχθούν χρήσιμα συμπεράσματα από αυτό.

προέλευσης) ενώ τα μοντέλα κατατάχθηκαν με βάση την τιμή ΔAIC_C και τον συντελεστή στάθμισης του Akaike (weight Akaike). Η ανάλυση AIC_C πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του προγράμματος R (v. 2.15.3) (R Development Core Team 2011).

4.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

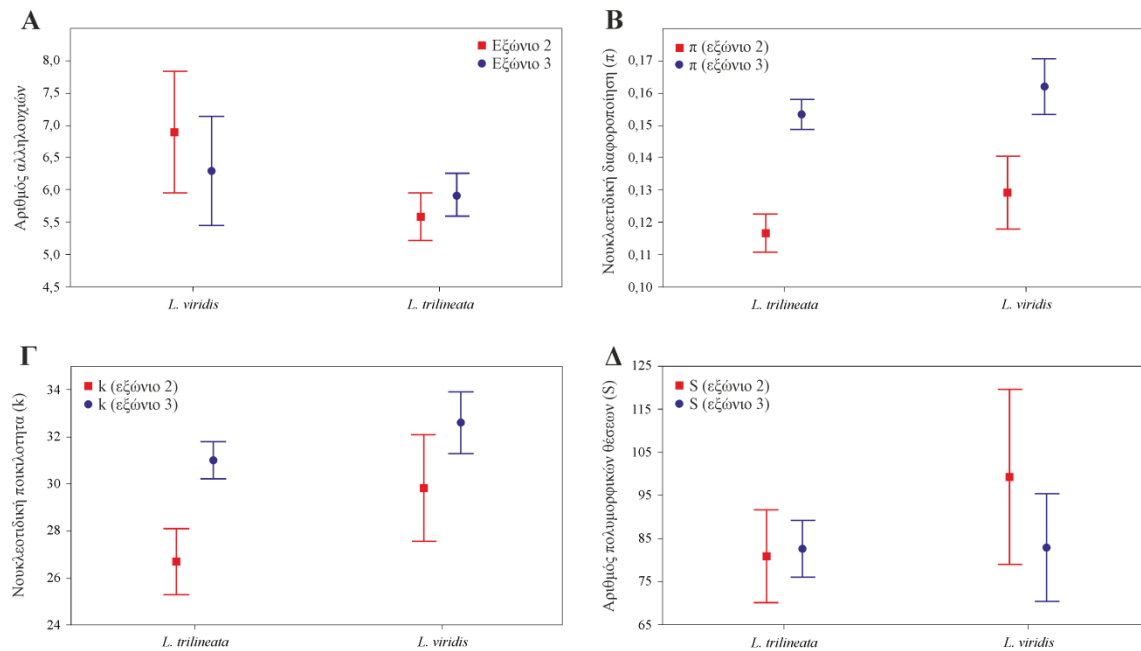
4.3.1. Ανοσογενετική

4.3.1.1. Γενετική ποικιλότητα των MHC μορίων τάξης I

Από το σύνολο των αλληλουχιών που παρήχθησαν, με τη μέθοδο NGS (περίπου 3×10^6 αλληλουχίες για καθένα εξώνιο), εκείνες οι οποίες πληρούσαν όλα τα κριτήρια προκειμένου να χαρακτηριστούν ως «πραγματικές» (βλ. παράγραφο 4.2.2.2) ήταν 210 αλληλουχίες για το εξώνιο 2 (73 για τη *L. viridis* και 184 για τη *L. trilineata*) και 184 αλληλουχίες για το εξώνιο 3 (71 για τη *L. viridis* και 147 για τη *L. trilineata*) (αναλυτικά ο αριθμός των αλληλουχιών ανά πληθυσμό δίνεται στον **πίνακα 4.2** και αναπαριστάται σχηματικά στην **εικόνα 4.4**). Συνολικά ευθυγραμμίστηκαν 228 ζεύγη βάσεων για το εξώνιο 2 και 200 ζεύγη βάσεων για το εξώνιο 3, από το σύνολο των 206 και 200 δειγμάτων, αντίστοιχα.

Στη σύγκριση μεταξύ των δύο ειδών *Lacerta*, ο στατιστικός έλεγχος ANOVA έδειξε ότι ο μέσος αριθμός αλληλουχιών, ανά άτομο, ήταν σημαντικά μεγαλύτερος στην *L. viridis*, σε σχέση με τη *L. trilineata*, τόσο για το εξώνιο 2 ($F_{1,204} = 6,99$ $P < 0,01$) όσο και για το εξώνιο 3 ($F_{1,198} = 5,76$ $P < 0,05$) (**πίνακας 4.2**). Όταν η παραπάνω ανάλυση επαναλήφθηκε σε επίπεδο MHC μορίου, με τη χρήση της δοκιμασίας MANOVA, τα ευρήματα ήταν σε συμφωνία με τα παραπάνω. Φαίνεται δηλαδή ότι, τα άτομα της *L. viridis* έχουν σημαντικά περισσότερες MHC αλληλουχίες, σε σύγκριση με εκείνα της *L. trilineata* (MANOVA, Wilks lambda = 0,97, $F_{2, 197} = 3,46$, $P < 0,05$, **εικόνα 4.5 Α**). Οι διαφορές οι οποίες παρατηρήθηκαν μεταξύ των ειδών *L. trilineata* και *L. viridis*, όσον αφορά τον αριθμό των MHC αλληλουχιών, αποτυπώθηκαν και στις μικρότερες τιμές της μέσης νουκλεοτιδικής διαφοροποίησης (π) (MANOVA, Wilks lambda = 0,82, $F_{2, 20} = 4,56$, $P < 0,05$, **εικόνα 4.5 Β**), και νουκλεοτιδικής ποικιλότητας (k) (MANOVA, Wilks lambda = 0,82, $F_{2, 20} = 5,09$, $P < 0,05$, **εικόνα 4.5 Γ**) των MHC αλληλουχιών της *L. trilineata*. Παρ' όλα αυτά, η γενετική ανάλυση αποκάλυψε ότι ο αριθμός των πολυμορφικών νουκλεοτιδικών θέσεων (S) (εξώνιο 2: 150 στη *L. trilineata* και 133 στη *L. viridis*, εξώνιο

3: 128 στη *L. trilineata* και 112 στη *L. viridis*), σύμφωνα με το κριτήριο της φειδωλότητας (parsimony), δεν παρουσιάζει σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ειδών (εικόνα 4.5 Δ). Το γεγονός αυτό μπορεί να δικαιολογηθεί από το σημαντικά μικρότερο μέγεθος δείγματος της *L. viridis*, που χρησιμοποιήθηκε στις αναλύσεις της παρούσας μελέτης (31 άτομα *L. viridis* έναντι 178 *L. trilineata* και, αντίστοιχα, 73 και 184 αλληλουχίες για το εξώνιο 2 και 71 και 147 αλληλουχίες για το εξώνιο 3).

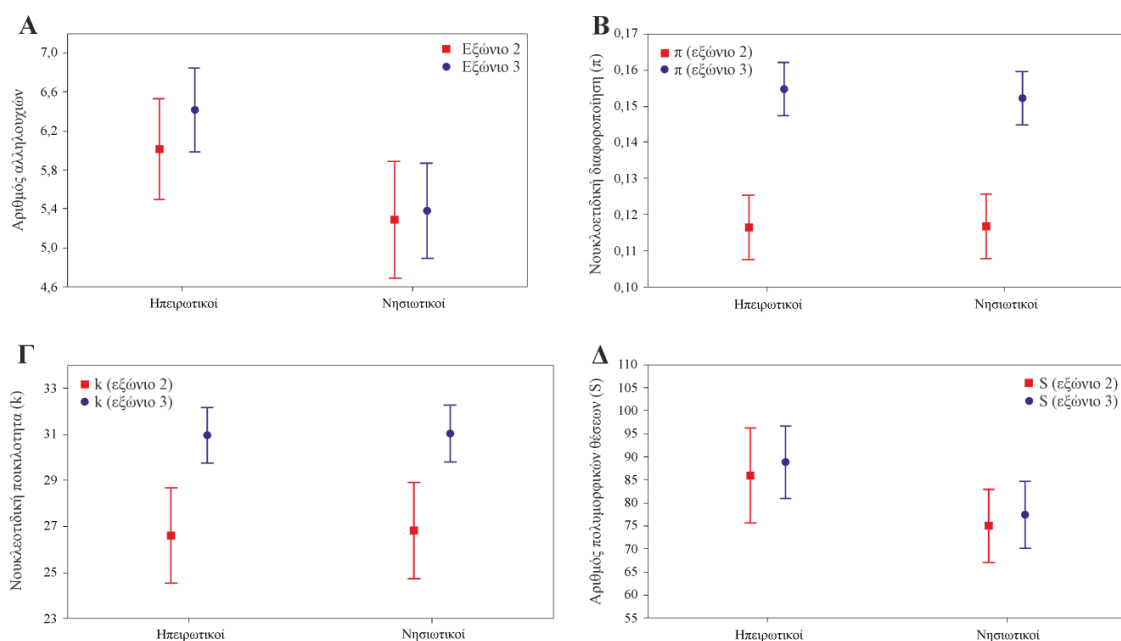


Εικόνα 4.5. Απεικόνιση των διαφορών στις μεταβλητές που εξετάστηκαν (όπως δίνονται στον πίνακα 4.2) και οι οποίες αποτελούν δείκτες της γενετικής ποικιλότητας των εξωνίων 2 & 3 για τα μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC) τάξης I, για τα είδη *L. trilineata* και *L. viridis*, με τη χρήση του στατιστικού ελέγχου MANOVA. Α) Μέσος αριθμός MHC αλληλουχιών ανά άτομο, Β) Μέση νουκλεοτιδική διαφοροποίηση (π) των MHC αλληλουχιών, Γ) Μέση νουκλεοτιδική ποικιλότητα (k) των MHC αλληλουχιών και Δ) Μέσος αριθμός πολυμορφικών νουκλεοτιδικών θέσεων (S), σύμφωνα με το κριτήριο της φειδωλότητας. Τα σημεία αντιπροσωπεύουν τις μέσες τιμές της κάθε μεταβλητής ενώ οι μπάρες το τυπικό σφάλμα.

Η σύγκριση μεταξύ των πληθυσμών της *L. trilineata*, με τη δοκιμασία ANOVA έδειξε σημαντικές αποκλίσεις στον αριθμό των αλληλουχιών και για τα δύο εξώνια (ANOVA, εξώνιο 2: $F_{17,157} = 3,42$, $P < 0,001$ και εξώνιο 3: $F_{17,156} = 5,26$, $P < 0,001$, **πίνακας 4.2**), με τις νησιωτικές σαύρες να φέρουν σημαντικά μειωμένο αριθμό αλληλουχιών από ό,τι οι ηπειρωτικές σαύρες (ANOVA, εξώνιο 2: $F_{1,173} = 3,90$, $P < 0,05$ και εξώνιο 3: $F_{1,172} = 10,02$, $P < 0,01$, **εικόνα 4.4**). Όπως και προηγουμένως, όταν η ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε επίπεδο MHC γονιδίων, βρήκαμε ότι οι σαύρες της *L.*

trilineata από τη χέρσο έχουν περισσότερες MHC αλληλουχίες, σε σύγκριση με εκείνες από τα νησιά (MANOVA, Wilks lambda = 0,52, $F_{34, 308} = 3,55$, $P < 0,001$, **εικόνα 4.6 Α**). Ανάλογη εικόνα παρατηρήθηκε και για τον αριθμό των πολυμορφικών νουκλεοτιδικών θέσεων (S) (**εξώνιο 2**: 139 στις ηπειρωτικές και 123 στις νησιωτικές και **εξώνιο 3**: 127 στις ηπειρωτικές και 105 στις νησιωτικές), σύμφωνα με το κριτήριο της φειδωλότητας (**εικόνα 4.6 Δ**). Αντίθετα, δεν βρέθηκε οποιαδήποτε απόκλιση μεταξύ των νησιωτικών και των ηπειρωτικών σαυρών, όσον αφορά στα μεγέθη k (νουκλεοτιδική διαφοροποίηση) και π (νουκλεοτιδική ποικιλότητα) (MANOVA, k: Wilks lambda = 0,99, $F_{2, 15} = 0,01$, $P > 0,05$ και π: Wilks lambda = 0,98, $F_{2, 15} = 0,13$, $P > 0,05$) (**εικόνα 4.6 Β και Γ**).

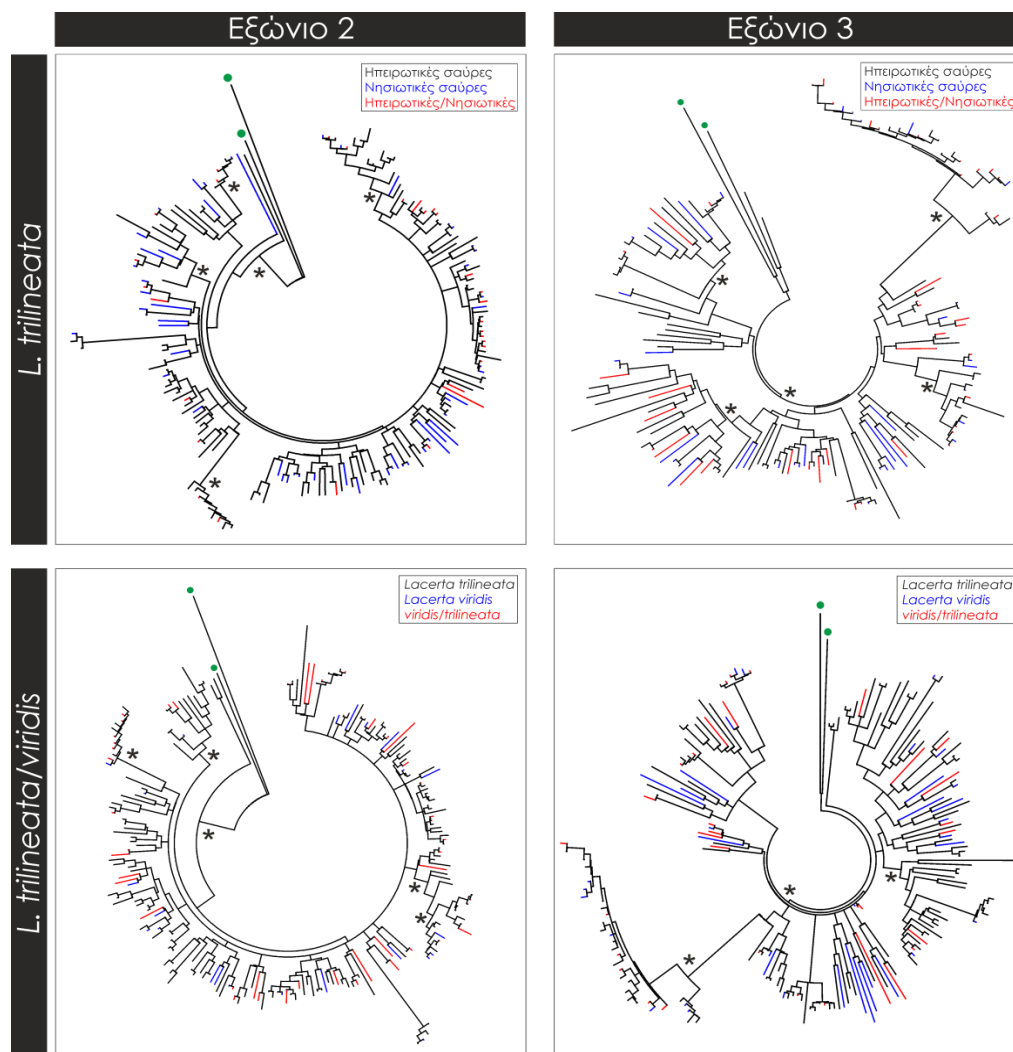
Τέλος, από την σύγκριση μεταξύ των πληθυσμών της *L. viridis* δεν βρέθηκε καμία διαφοροποίηση για οποιοδήποτε από τα μεγέθη που μετρήθηκαν, τόσο για το **εξώνιο 2** όσο και το **εξώνιο 3** (όλα τα $P > 0,05$, **πίνακας 4.2**).



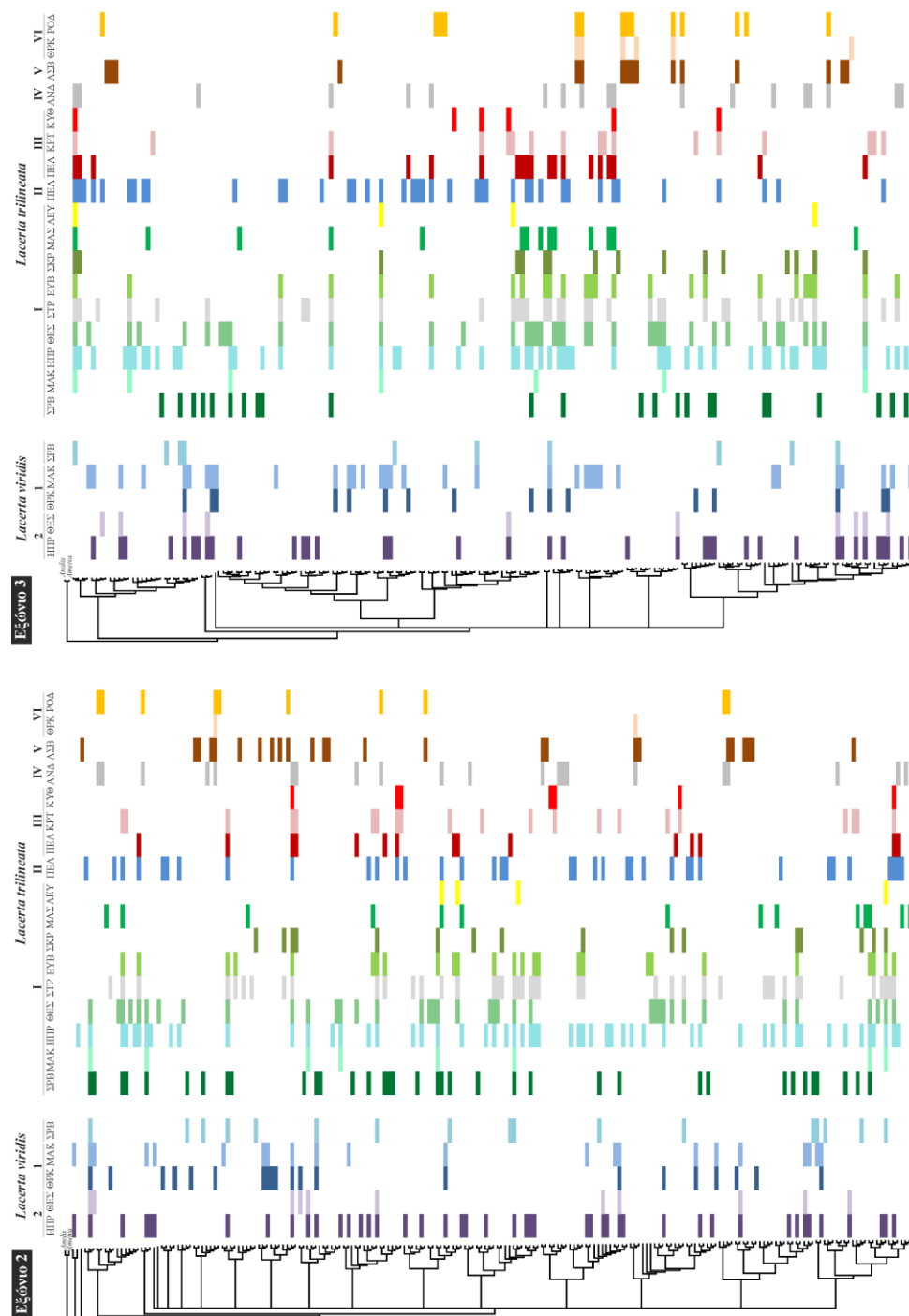
Εικόνα 4.6. Απεικόνιση των διαφορών στις μεταβλητές που εξετάστηκαν (όπως δίνονται στον πίνακα 4.2) και οι οποίες αποτελούν δείκτες της γενετικής ποικιλότητας των *εξωνίων 2 & 3* για τα μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC) τάξης I, για τους πληθυσμούς (νησιωτικούς και ηπειρωτικούς) του είδους *L. trilineata*, με τη χρήση του στατιστικού ελέγχου MANOVA. Α) Μέσος αριθμός MHC αλληλουχιών ανά άτομο, Β) Μέση νουκλεοτιδική διαφοροποίηση (π) των MHC αλληλουχιών, Γ) Μέση νουκλεοτιδική ποικιλότητα (k) των MHC αλληλουχιών και Δ) Μέσος αριθμός πολυμορφικών νουκλεοτιδικών θέσεων (S), σύμφωνα με το κριτήριο της φειδωλότητας. Τα σημεία αντιπροσωπεύουν τις μέσες τιμές της κάθε μεταβλητής, οι μπάρες το τυπικό σφάλμα.

4.3.1.2. Φυλογενετικές αναλύσεις και βιογεωγραφικό πρότυπο

Και οι δύο φυλογενετικές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν (NJ, BI), συγκλίνουν σε μια κοινή παραδοχή: Ότι η γενετική ποικιλότητα των MHC μορίων τάξης I της *L. trilineata* και *L. viridis* είναι εξαιρετικά μεγάλη και το πρότυπο φυλογενετικών σχέσεων ιδιαίτερα πολύπλοκο. Έτσι, μεταξύ της *L. trilineata* και *L. viridis*, υπάρχουν αλληλουχίες που εμφανίζουν μεγάλη ομοιότητα και αλληλουχίες με μεγάλη διαφοροποίηση (εικόνες 4.7 και 4.8). Άμεση συνέπεια του τελευταίου είναι ότι τα δέντρα που παρήχθησαν έχουν αρκετά χαμηλή στατιστική υποστήριξη σε κύριους κλάδους και μεγάλη σε εσωτερικούς.



Εικόνα 4.7. Απεικόνιση των φυλογενετικών δέντρων γονιδίων για τα εξώνια 2 & 3 για τα είδη *L. trilineata* και *L. viridis*. Φαίνεται η αδυναμία κατασκευής ενός αξιόπιστου φυλογενετικού δέντρου γονιδίων. Στην περίπτωση του δέντρου γονιδίων για τα είδη *L. viridis* και *L. trilineata* με κόκκινες γραμμές απεικονίζονται οι όμοιες αλληλουχίες τις οποίες μοιράζονται τα δύο είδη, φαινόμενο που συμφωνεί με τη διαμέσου των ειδών εξέλιξη. Οι αστερίσκοι στους κόμβους δηλώνουν σημαντική στατιστική υποστήριξη.



Εικόνα 4.8. Απεικόνιση των φυλογενετικών δέντρων των εξόνιο 2 & 3 με τη χρήση της μεθόδου Σύνδεσης Γειτόνων (Neighbor-Joining). Η κωδικοποίηση των χρωμάτων κάτω από κάθε σύντμηση πληθυσμού, υποδηλώνει την παρουσία των διαφορετικών αλληλομόρφων στον καθένα πληθυσμό (νησιωτικό και ηπειρωτικό) των ειδών *L. viridis* και *L. trilineata*. Παρατηρούμε ότι στην περίπτωση των ηπειρωτικών πληθυσμών η χρωματική ένδειξη είναι περισσότερο συνεχής, σε σύγκριση με εκείνη των νησιωτικών, υποστηρίζοντας το γεγονός ότι μεγαλύτερο υποσύνολο αλληλουχιών εντοπίζεται στους ηπειρωτικούς πληθυσμούς. Από την άλλη μεριά, οι νησιωτικοί πληθυσμοί της *L. trilineata* έχουν λιγότερα αλληλόμορφα, δημιουργώντας ένα περισσότερο διάσπαρτο χρωματικό πρότυπο κατανομής. Ωστόσο, η γενετική διαφοροποίηση των εναπομεινάντων αλληλουχιών είναι αρκετά μεγάλη, γεγονός που απεικονίζεται στη μεγάλη διασπορά αυτών στο φυλογενετικό δέντρο.

Βασιζόμενοι στην **εικόνα 4.8**, γίνεται σαφής η έλλειψη ενός διακριτού γεωγραφικού προτύπου, τόσο ανάμεσα στις διαφορετικές γενεαλογικές γραμμές όσο και μεταξύ πληθυσμών, των MHC αλληλουχιών, αλλά και το γεγονός ότι ορισμένες αλληλουχίες των *εξωνίων 2 & 3* από το ένα είδος εμφανίζονται περισσότερο όμοιες (συγγενικές) με εκείνες του άλλου είδους (**εικόνες 4.7 και 4.8**).

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η μέση γενετική απόσταση της *L. viridis* από τους βόρειους πληθυσμούς της *L. trilineata* είναι μικρότερη ($d = 8,4 \pm 1,0$), σε σύγκριση με εκείνη που παρατηρήθηκε με τους νότιους ηπειρωτικούς ($d = 11,9 \pm 1,0$) και νησιωτικούς πληθυσμούς της *L. trilineata* ($d = 13,1 \pm 0,9$). Σε συμφωνία με τα παραπάνω, βρέθηκε ότι τα άτομα της *L. trilineata* από την κεντρική και βόρεια Ελλάδα, μοιράζονται περισσότερες όμοιες αλληλουχίες, για τα *εξώνια 2 & 3*, με τη *L. viridis*, από ό,τι οι υπόλοιποι ηπειρωτικοί και νησιωτικοί πληθυσμοί του είδους (**εικόνα 4.8**). Τέλος, παρατηρήθηκε ότι η γενετική ποικιλότητα των πληθυσμών της *L. trilineata* από τη νότια (Ανατολική Στερεά Ελλάδα και Πελοπόννησος) και νησιωτική Ελλάδα ($d = 11,2 \pm 0,8$) είναι σημαντικά μικρότερη, σε σχέση με εκείνη των πληθυσμών που εξαπλώνονται στην κεντρική και βόρεια Ελλάδα (Δυτική Στερεά, Θεσσαλία, Ήπειρος, Μακεδονία και Θράκη) ($d = 13,8 \pm 1,9$) (MANOVA, Wilks lambda = 0,52, $F_{34, 308} = 3,55$, $P < 0,001$, **εικόνα 4.4, εικόνα 4.8 και πίνακας 4.2**).

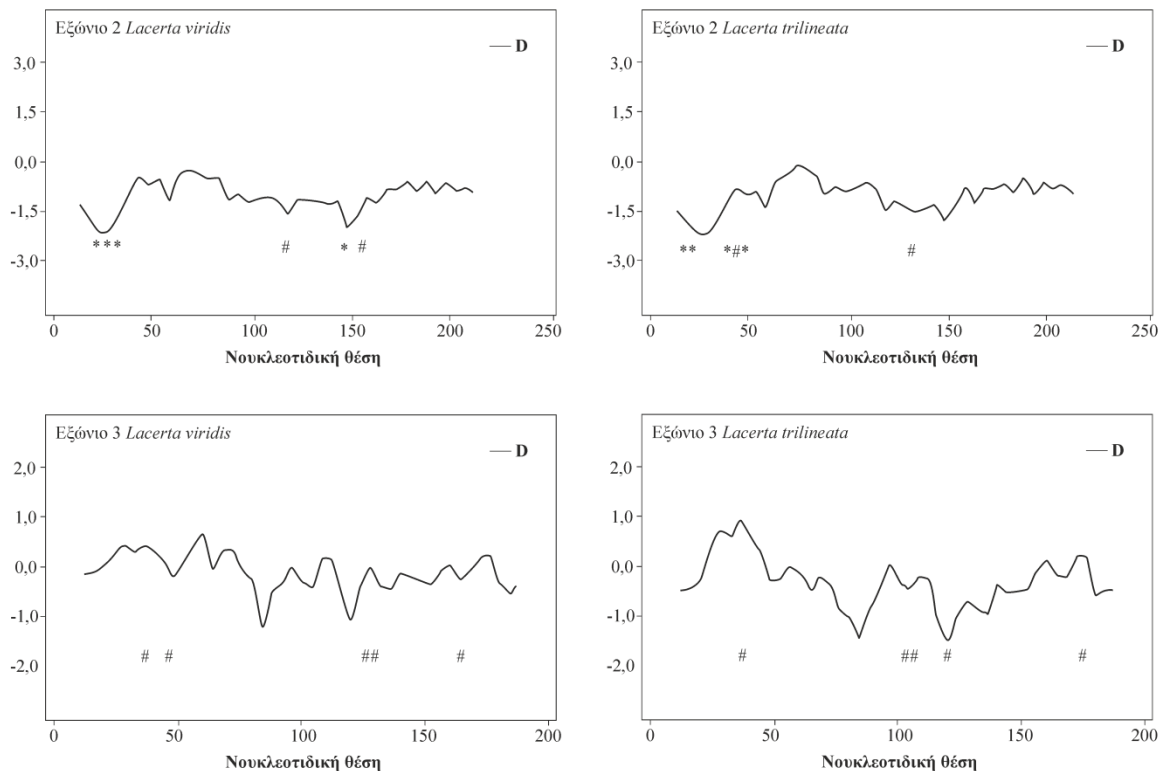
4.3.1.3. Επιλογή στις θέσεις πρόσδεσης των πεπτιδίων (PBR)

Για τη *L. trilineata* βρέθηκε ότι ο λόγος μη συνώνυμες προς συνώνυμες (d_N/d_S) νουκλεοτιδικές υποκαταστάσεις στις θέσεις πρόσδεσης των πεπτιδίων, για το *εξώνιο 2*, είναι 3,34, ενώ στην υπόλοιπη αλληλουχία 1,16. Αντίστοιχα, για το *εξώνιο 3* οι τιμές αυτές είναι 5,67 και 2,92. Επιπλέον, ο έλεγχος Z, για τις PBR, έδειξε ότι στην περίπτωση του *εξωνίου 2* η τιμή του d_N/d_S αποκλίνει από εκείνη που θα αναμενόταν από την ουδέτερη εξέλιξη (αντικαταστάσεις με τυχαίες διαδικασίες) ($t = 3,14$ $P = 0.002$). Παρ' όλα αυτά, δεν φάνηκε να ισχύει το ίδιο και για τις PBR του *εξωνίου 3* ($t = 1,933$ $P = 0.093$), αν και η διαφορά που παρατηρήθηκε ήταν κοντά στα όρια προκειμένου να χαρακτηριστεί σημαντική.

Ανάλογα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και για τη *L. viridis*, με την τιμή d_N/d_S στην PBR του *εξωνίου 2* (3,66 έναντι 1,24 στην υπόλοιπη αλληλουχία) να αποκλίνει σημαντικά από εκείνη που ορίζεται από τη δράση της ουδέτερης πίεσης επιλογής ($t = 2,77$ $P = 0.007$).

Όπως και προηγουμένως, δεν εντοπίστηκαν σημαντικές διαφορές στο λόγο d_N/d_S μεταξύ PBR και μη-PBR για το εξώνιο 3 (3,67 έναντι 2,66, $t = 1.98$ $P = 0.079$).

Σε συμφωνία με τα παραπάνω, η ανάλυση Tajima's D, φάνηκε να υποστηρίζει την πίεση της θετικής επιλογής κατά μήκος της αλληλουχίας των εξωνίων 2 & 3 του μορίου MHC τάξης I, και στα δύο είδη *Lacerta* (εικόνα 4.9).



Εικόνα 4.9. Απεικόνιση της ανάλυσης Tajima's D κατά μήκος της αλληλουχίας των εξωνίων 2 & 3 του μορίου MHC τάξης I, για τα δύο υπό μελέτη είδη (*L. trilineata* και *L. viridis*). Με δίεση σημαίνονται οι νουκλεοτιδικές θέσεις για τις οποίες υποστηρίχθηκε ότι βρίσκονται οριακά σε πίεση επιλογής, ενώ με αστερίσκο εκείνες οι θέσεις που υπόκεινται σε θετική πίεση επιλογής.

4.3.2. Κυτταρομεσολαβούμενη ανοσολογική απόκριση

4.3.2.1. Μέγεθος σώματος και βάρος σώματος

Το μέσο μήκος σώματος (SVL) των σαυρών διαφέρει μεταξύ των έξι πληθυσμών μελέτης, με τις σαύρες της Μήλου και της Σκύρου να εμφανίζονται σημαντικά μεγαλύτερες από ό,τι εκείνες των υπολοίπων πληθυσμών (ANOVA, $F_{5,95} = 3,44$, $P < 0,05$, **πίνακας 4.3**). Όσον αφορά το βάρος σώματος, δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ

των πληθυσμών, με μοναδική εξαίρεση τις σαύρες από το νησί της Σκύρου, οι οποίες ήταν σημαντικά βαρύτερες από εκείνες της Άνδρου και της Καρδίτσας (ANOVA, $F_{5,95} = 2,25$, $P = 0,056$, **πίνακας 4.3**).

Η ανάλυση παλινδρόμησης, μεταξύ του μήκους και βάρους σώματος έδειξε σημαντική θετική συσχέτιση των δύο τελευταίων μεγεθών ($r^2 = 0,58$, $F_{1,99} = 135,68$, $P < 0,001$). Επιπλέον, λόγω του γεγονότος ότι το μήκος ($r^2 = 0,14$, $F_{1,99} = 15,80$, $P < 0,001$) και βάρος ($r^2 = 0,13$, $F_{1,99} = 15,01$, $P < 0,001$) σώματος συσχετίζονται θετικά και με τα επίπεδα πολλαπλασιασμού των Τ-λεμφοκυττάρων στη *L. trilineata*, στις μετέπειτα αναλύσεις, προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί το εντός-ομάδας σφάλμα της ανοσολογικής απόκρισης, που μπορεί να οφείλεται στην επίδραση του μεγέθους σώματος, επιλέχθηκε να χρησιμοποιηθεί το μέγεθος SVL ως συμμεταβλητή.

Πίνακας 4.3. Δίνεται το μέσο μήκος (SVL) και το μέσο βάρος σώματος για τις σαύρες του κάθε πληθυσμού. Για κάθε μεταβλητή δίνονται η μέση τιμή ± 1 SD (τυπική απόκλιση, standard deviation), μέγεθος δείγματος (N) καθώς και η ελάχιστη – μέγιστη τιμή. Με έντονη γραμματοσειρά δίνονται οι τιμές για τις οποίες καταγράφηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των πληθυσμών ($P < 0.05$).

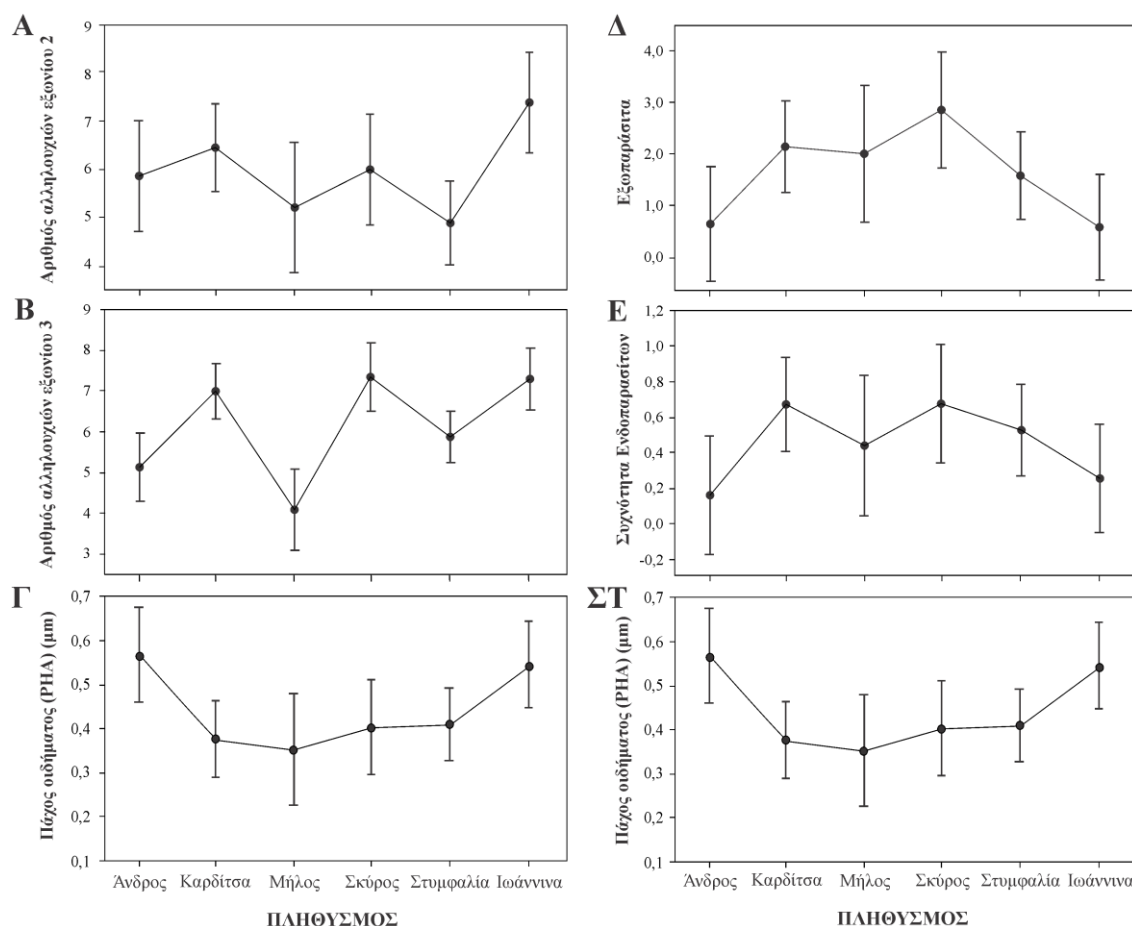
Τοποθεσία	SVL (cm)	Βάρος (mg)
Άνδρος (Α)	12,73 $\pm$ 1,54; (14) 10,36 – 16,06	61,09 $\pm$ 23,12; (14) 34,77 – 116,79
Μήλος (Μ)	13,78 $\pm$ 1,12; (10) 11,9 – 15,13	73,11 $\pm$ 10,50; (10) 51,10 – 82,14
Σκύρος (Σκ)	13,75 $\pm$ 2,13; (14) 8,70 – 15,30	77,93 $\pm$ 17,04; (14) 38,55 – 105,30
Ιωάννινα (Ι)	11,77 $\pm$ 1,72; (17) 9,40 – 16,10	68,89 $\pm$ 26,62 (17) 32,20 – 101,00
Καρδίτσα (Κ)	12,73 $\pm$ 1,51; (22) 10,67 – 16,20	63,09 $\pm$ 28,90; (22) 29,00 – 137,93
Στυμφαλία (Στ)	12,15 $\pm$ 1,88; (24) 9,18 – 17,40	56,02 $\pm$ 18,95; (24) 30,78 – 115,00
F statistics	$F_{5,95} = 3,44$	$F_{5,95} = 2,25$
P-value	0,007	0,056
Ομαδοποίηση	{Μ,Σκ} {Α,Ι,Κ,Στ}	{Α,Μ,Ι,Κ,Στ} {Μ,Σκ,Ι,Κ}

4.3.2.2. Αριθμός αλληλουχιών για τα εξώνια 2 & 3 των MHC μορίων τάξης I

Η ανάλυση διακύμανσης έδειξε σημαντικές διαφορές μεταξύ των έξι πληθυσμών της *L. trilineata*, όσον αφορά το βαθμό πολυμορφισμού των MHC μορίων τάξης I, σε επίπεδο γενετικού υλικού (DNA), όπως αυτός εκφράζεται από τον αριθμό των αλληλουχιών των εξωνίων 2 & 3. Αναλυτικά, παρατηρήθηκε ότι ο μέσος αριθμός αλληλουχιών, για το εξώνιο 2, είναι σημαντικά μεγαλύτερος στις σαύρες από τις περιοχές των Ιωαννίνων και της Καρδίτσας, σε σύγκριση με εκείνες των υπολοίπων περιοχών μελέτης (Μήλος, Άνδρος, Σκύρος και Στυμφαλία) (ANOVA, $F_{5,95} = 3,43$, $P < 0,05$, **πίνακας 4.4**). Όσον αφορά το εξώνιο 3, βρέθηκε ότι, τόσο οι σαύρες από τη Σκύρο όσο και εκείνες από τα Ιωάννινα και την Καρδίτσα, εμφανίζουν μεγαλύτερο πολυμορφισμό στα MHC μόρια τάξης I από ό,τι εκείνες από τα οικοσυστήματα της Άνδρου, της Μήλου και της Στυμφαλίας (ANOVA, $F_{5,95} = 9,53$, $P < 0,001$, **πίνακας 4.4**).

Παρ' όλα αυτά, λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι τα εξώνια 2 & 3 αποτελούν μεταγραφόμενες περιοχές, που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, και δεδομένου του εκφυλισμού του γενετικού κώδικα, όλες οι παραπάνω αναλύσεις επανελήφθησαν σε επίπεδο αμινοξικών αλληλουχιών. Τα αποτελέσματά μας δεν έδειξαν οποιαδήποτε απόκλιση από τις σχέσεις που προαναφέρθηκαν, με βάση τις νουκλεοτιδικές αλληλουχίες. Συμπερασματικά, οι σαύρες των Ιωαννίνων και της Καρδίτσας είχαν, κατά μέσο όρο, μεγαλύτερο αριθμό αμινοξικών αλληλουχιών στο εξώνιο 2 (**πίνακας 4.4** και **εικόνα 4.10 Α**), ενώ, συμπεριλαμβανομένων και εκείνων της Σκύρου, παρουσίασαν μεγαλύτερο βαθμό πολυμορφισμού και στο εξώνιο 3 (**πίνακας 4.4** και **εικόνα 4.10 Β**). Αξίζει να αναφερθεί ότι στην περίπτωση της Σκύρου, δύο άτομα παρουσίασαν εξαιρετικά μεγάλο αριθμό αλληλουχιών για το εξώνιο 3 (13 αλληλουχίες), μεγαλύτερο από κάθε άλλη σαύρα που μελετήθηκε στα πλαίσια της μελέτης της γενετικής ποικιλότητας του MHC (από το σύνολο των 209 δειγμάτων). Ως εκ τούτου, ο εκτεταμένος πολυμορφισμός που εμφανίζει ο πληθυσμός της Σκύρου οφείλεται τυπικά στην παρουσία αυτών των δύο ατόμων και, επομένως, δεν αντικατοπτρίζει τη γενικότερη εικόνα που παρουσιάζει ο πληθυσμός.

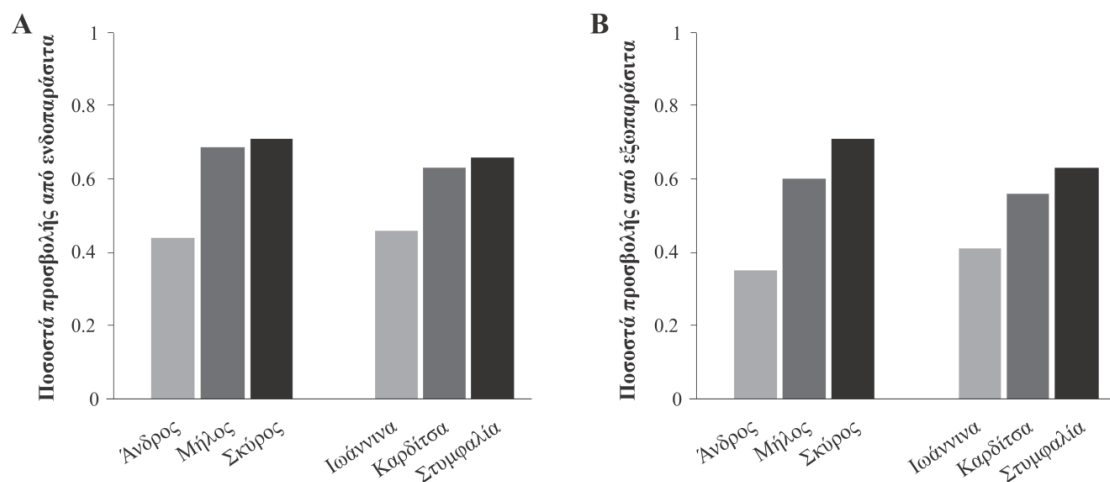
Με βάση όλα τα παραπάνω και δεδομένης της λειτουργίας των εξωνίων 2 & 3 στην αναγνώριση και πρόσδεση των αντιγόνων, στις μετέπειτα αναλύσεις, που επιδιώκουν την αποσαφήνιση των σχέσεων βαθμού πολυμορφισμού και κυτταρικής ανοσίας, καθώς και του βαθμού πολυμορφισμού και της αντίστασης σε παράσιτα (παρασιτικό φορτίο), χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα των αμινοξικών αλληλουχιών.



Εικόνα 4.10. Α/Β) Σχηματική απεικόνιση των αποτελεσμάτων της ανάλυσης ANOVA, μεταξύ των έξι πληθυσμών μελέτης, για το βαθμό πολυμορφισμού σε επίπεδο αμινοξικών αλληλουχιών, όπως αυτός εκφράζεται από τον αριθμό των αλληλουχιών για το (α) εξώνιο 2 και (β) εξώνιο 3. Γ/ΣΤ) Απεικόνιση των επιπέδων κυτταρικής ανοσίας με βάση την τεχνική της χορήγησης PHA (πάχος οιδήματος). Δ/Ε) Σχηματική απεικόνιση των αποτελεσμάτων της ανάλυσης ANOVA για τα επίπεδα προσβολής των σαυρών των έξι πληθυσμών μελέτης από (δ) εξωπαράσιτα (συνολικά: κρότωνα και ακάρεα) και (ε) αιμοπαράσιτα. Είναι σαφές, ότι αύξηση του αριθμού των παρασίτων προκαλεί παράλληλη μείωση της απόκρισης της κυτταρικής ανοσίας (Δ - ΣΤ). Η συχνότητα των ενδοπαράσιτων υπολογίστηκε με βάση τον αριθμό haemogregarines που βρέθηκαν σε σύνολο 2000 ερυθροκυττάρων. Τα σημεία αντιπροσωπεύουν τις μέσες τιμές, ενώ οι μπάρες το τυπικό σφάλμα.

4.3.2.3. Αντίσταση σε παράσιτα και παρασιτικό φορτίο

Υπάρχουν σημαντικές στατιστικές αποκλίσεις, ανάμεσα στις σαύρες των έξι περιοχών μελέτης, όσον αφορά το αιμο- και ενδο- παρασιτικό φορτίο (**πίνακας 4.4**). Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι οι σαύρες από τη Σκύρο και την Καρδίτσα εμφανίζουν σημαντικά αυξημένο αριθμό εξω- (ANOVA, $F_{5,95} = 2,28$, $P = 0,03$, **εικόνα 4.10 Δ**) και αιμο- (ANOVA, $F_{5,95} = 1,85$, $P = 0,11$, **εικόνα 4.10 Ε**) παρασίτων, σε σύγκριση με εκείνες των υπολοίπων περιοχών. Ωστόσο, εξαιτίας των μεγάλων αποκλίσεων που καταγράφηκαν ανάμεσα σε άτομα της ίδιας περιοχής (**πίνακας 4.4**), οι πραγματικές διαστάσεις των διαφορών αυτών αποκρύφτηκαν. Προκειμένου να ελεγχθεί, εάν το ποσοστό προσβολής των σαυρών από παράσιτα διαφέρει ανάμεσα στους έξι πληθυσμούς μελέτης, πραγματοποιήθηκε συμπληρωματικά έλεγχος χ^2 . Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι οι πληθυσμοί της Άνδρου και των Ιωαννίνων εμφανίζουν σημαντικά μειωμένα ποσοστά προσβολής από αιμο- και εξω- παράσιτα (για όλες τις ανά δύο συγκρίσεις: $df = 1$, $\chi^2 > 3,84$, $P < 0,05$, **πίνακας 4.4** και **εικόνα 4.11**), σε σύγκριση με τους υπολοίπους πληθυσμούς της νησιωτικής (Σκύρος και Μήλος) και ηπειρωτικής (Καρδίτσα, Στυμφαλία) Ελλάδας.



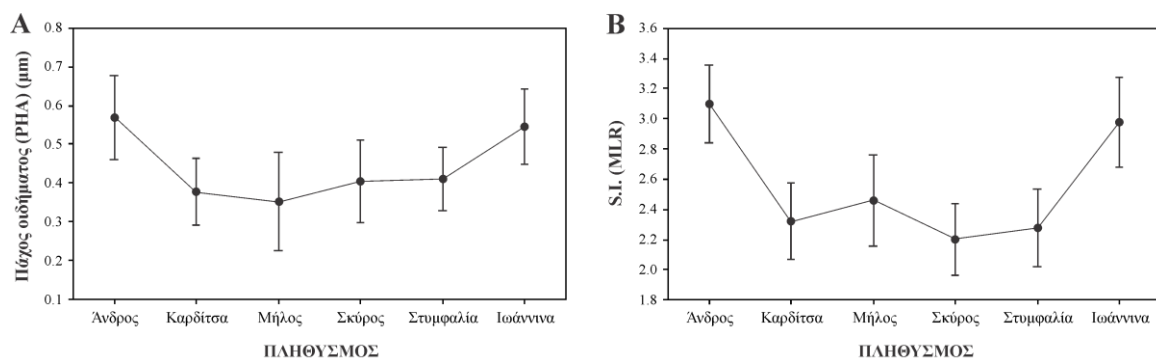
Εικόνα 4.11. Σχηματική απεικόνιση των ποσοστών (%) έκθεσης των σαυρών σε Α) αιμοπαράσιτα και Β) εξωπαράσιτα, για τους έξι πληθυσμούς μελέτης. Οι πληθυσμοί της Άνδρου και των Ιωαννίνων παρουσιάζουν σαφώς μειωμένα ποσοστά προσβολής από παράσιτα σε σχέση με τους υπολοίπους πληθυσμούς της νησιωτικής (Μήλος, Σκύρος) και ηπειρωτικής (Καρδίτσα, Στυμφαλία) Ελλάδας.

Πίνακας 4.4. Περιγραφική στατιστική για κάθε μια από τις μεταβλητές που εξετάσθηκαν. Για κάθε μεταβλητή δίνονται η μέση τιμή $\pm$ 1 SD (τυπική απόκλιση, standard deviation), καθώς και το μέγεθος δείγματος (N). Με έντονη γραμματοσειρά αναφέρονται οι τιμές για τις οποίες καταγράφηκαν σημαντικές αποκλίσεις μεταξύ των ξένι πληθυσμών ($P < 0.05$).

Χαρακτήρας	Άνδρος (Α)	Μήλος (Μ)	Σκύρος (Σκ)	Ιωάννινα (Ι)	Καρδίτσα (Κ)	Στυμφαλία (Στ)	F	P
Εξωπαράσιτα	3,21 $\pm$ 5,46; (14)	5,00 $\pm$ 6,06; (10)	7,36 $\pm$ 1,39; (14)	2,76 $\pm$ 3,99; (17)	6,71 $\pm$ 8,52; (24)	5,82 $\pm$ 7,05; (22)	1,242	0,295
Κρότωνες	0,64 $\pm$ 1,01; (14)	2,00 $\pm$ 2,26; (10)	2,86 $\pm$ 3,32; (14)	0,59 $\pm$ 0,94; (17)	2,14 $\pm$ 0,18; (22)	1,58 $\pm$ 1,82; (24)	2,728	0,024
% προσβολή (έξω-)	35%	60%	71%	42%	55%	63%		< 0,001
Αιμοπαράσιτα	1,62 $\pm$ 3,10; (14)	4,40 $\pm$ 5,60; (10)	6,79 $\pm$ 7,22; (14)	2,59 $\pm$ 4,09; (17)	6,73 $\pm$ 8,57; (22)	5,29 $\pm$ 6,11; (24)	1,856	0,109
% προσβολής (αίμο-)	45%	70%	72%	43%	64%	67%		< 0,001
Εξώνιο 2 (DNA)	6,36 $\pm$ 2,06; (14)	5,40 $\pm$ 2,46; (10)	6,00 $\pm$ 1,66; (14)	7,77 $\pm$ 2,39; (17)	6,19 $\pm$ 2,48; (22)	5,08 $\pm$ 2,24; (24)	3,432	0,007
Εξώνιο 2 (Αμινοξέα)	5,86 $\pm$ 2,11; (14)	5,20 $\pm$ 2,15; (10)	6,00 $\pm$ 1,66; (14)	7,41 $\pm$ 2,40; (17)	6,45 $\pm$ 2,30; (22)	4,87 $\pm$ 2,25; (24)	3,145	0,011
Εξώνιο 3 (DNA)	5,14 $\pm$ 1,70; (14)	4,10 $\pm$ 1,37; (10)	7,64 $\pm$ 1,50; (14)	7,41 $\pm$ 1,97; (17)	7,00 $\pm$ 1,38; (22)	5,92 $\pm$ 1,86; (24)	9,528	< 0,001
Εξώνιο 3 (Αμινοξέα)	5,07 $\pm$ 1,54; (14)	4,10 $\pm$ 1,37; (10)	7,36 $\pm$ 1,39; (14)	7,29 $\pm$ 1,72; (17)	7,00 $\pm$ 1,38; (22)	5,87 $\pm$ 1,75; (24)	9,157	< 0,001
Οίδημα (PHA)	0,57 $\pm$ 0,25; (14)	0,35 $\pm$ 0,20; (10)	0,40 $\pm$ 0,17; (14)	0,55 $\pm$ 0,21; (17)	0,37 $\pm$ 0,18; (22)	0,41 $\pm$ 0,20; (24)	3,038	0,014
S.I. (MLR)	3,10 $\pm$ 0,34; (7)	2,46 $\pm$ 0,19; (5)	2,36 $\pm$ 1,39; (7)	2,98 $\pm$ 0,43; (5)	2,32 $\pm$ 0,41; (7)	2,27 $\pm$ 0,28; (7)	8,949	< 0,001

4.3.3. Κυτταρομεσολαβούμενη ανοσολογική απόκριση

Τα επίπεδα διέγερσης των Τ λεμφοκυττάρων φάνηκε να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των έξι πληθυσμών, με τις σαύρες από τις περιοχές των Ιωαννίνων και της Άνδρου να επιτυγχάνουν ισχυρότερη κυτταρική ανοσολογική απόκριση, από ό,τι εκείνες των περιοχών της Μήλου, Σκύρου, Καρδίτσας και Στυμφαλίας (one-way ANOVA, PHA: $F_{5,95} = 3,04$, $P = 0,01$ και MLR.: $F_{5,33} = 8,95$, $P < 0,001$). Όταν το μέγεθος σώματος συμπεριελήφθη στην ανάλυση - εξαιτίας της θετικής συσχέτισης που παρουσιάζει το SVL με την κυτταρική ανοσία ($r^2 = 0,14$, $F_{1,99} = 15,80$, $P < 0,001$) - οι παραπάνω διαφορές παρέμειναν (one-way ANCOVA, PHA: $F_{5,94} = 6,41$, $P < 0,001$ και MLR.: $F_{5,32} = 10,13$, $P < 0,001$, **πίνακας 4.4** και **εικόνα 4.12**). Τέλος φαίνεται, ότι οι διαφορές που παρατηρήθηκαν δεν οφείλονται στις φυλογενετικές σχέσεις των πληθυσμών (phyloANOVA, PHA: $F = 26,45$, $P < 0,01$, MLR.: $F = 25,19$, $P < 0,01$, έλεγχος Bonferroni post-hoc).



Εικόνα 4.12. Σχηματική απεικόνιση της απόδοσης της κυτταρικής ανοσίας με βάση την τεχνική Α) της καθυστερημένης δερματικής αντίδρασης υπερευαισθησίας (χορήγηση PHA) και Β) της μικτής λεμφοκυτταρικής αντίδρασης (mixed lymphocyte reaction, MLR). Οι τιμές S.I. αντιστοιχούν στις τιμές της μέτρησης της εκπεμπόμενης β-ακτινοβολίας, ύστερα από τον πολλαπλασιασμό των Τ λεμφοκυττάρων. Τα σημεία αντιπροσωπεύουν τις μέσες τιμές ενώ οι κάθετες μπάρες το τυπικό σφάλμα.

Σημαντικό ήταν το γεγονός, ότι, μεταξύ των δύο ανοσολογικών τεχνικών (PHA και MLR), δεν παρατηρήθηκαν αποκλίσεις, ως προς το πρότυπο διαφοροποίησης των έξι πληθυσμών μελέτης. Ωστόσο, θα πρέπει να αναφερθεί, ότι, μεταξύ των δύο τεχνικών, οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στα επίπεδα διέγερσης των Τ λεμφοκυττάρων, μεταξύ των πληθυσμών, ήταν μεγαλύτερες με την χρήση της τεχνικής της MLR (**πίνακας 4.4** και **εικόνα 4.12**). Πιθανόν, η έλλειψη ειδίκευσης, που παρουσιάζει η τεχνική της PHA

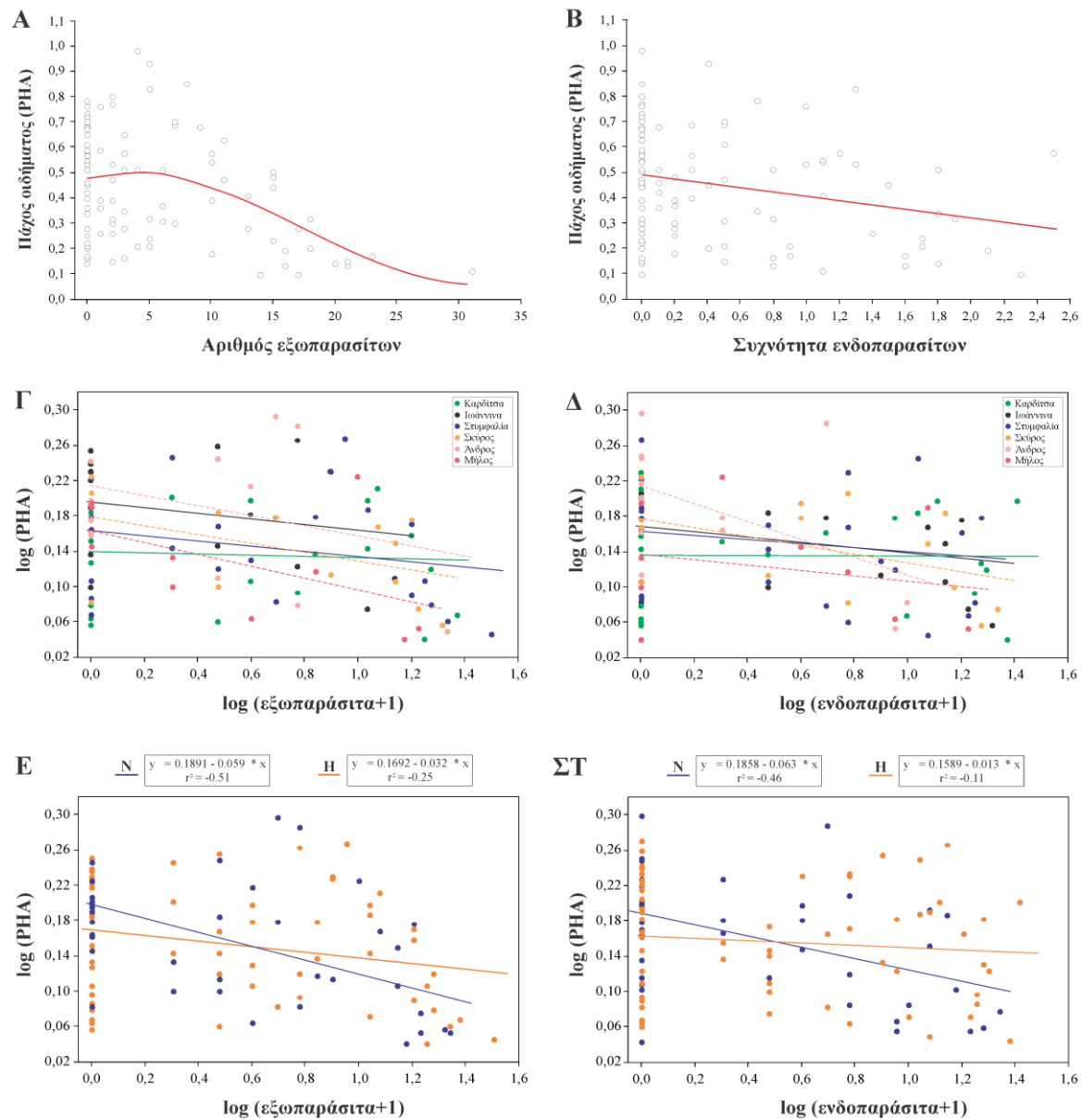
(εκτενής αναφορά έγινε στην παράγραφο 4.2.2.5.2), απέκρυψε σημαντικό μέρος της διαφοροποίησης αυτής. Παρ' όλα αυτά, δεδομένου ότι ο αριθμός των σαυρών, που χρησιμοποιήθηκε από τον κάθε πληθυσμό προκειμένου να ελεγχθούν τα επίπεδα κυτταρομεσολαβούμενης ανοσολογικής απόκρισης, με την μέθοδο της μικτής λεμφοκυτταρικής αντίδρασης ήταν περιορισμένος, στις μετέπειτα στατιστικές αναλύσεις χρησιμοποιήθηκαν μόνο εκείνα τα δεδομένα που παρήχθησαν από την τεχνική της PHA.

Όσον αφορά την επίδραση των φαινοτυπικών χαρακτήρων (χρώμα λαιμού και κατάσταση ουράς) στα επίπεδα διέγερσης των T λεμφοκυττάρων στη *L. trilineata*, δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική απόκλιση μεταξύ ατόμων με έντονο και άσπρο χρώμα λαιμού (two-way ANOVA, $F_{5,89} = 0,86$, $P = 0,51$), καθώς και με κομμένη και άθικτη ουρά (two-way ANOVA, $F_{5,89} = 1,75$, $P = 0,13$).

4.3.3.1. Σχέση των επιπέδων της κυτταρικής ανοσίας και του παρασιτικού φορτίου

Οι πληθυσμοί της *L. trilineata* των οποίων τα άτομα φέρουν αυξημένο αιμο- και ενδο- παρασιτικό φορτίο, δηλαδή οι σαύρες της Μήλου, Σκύρου, Καρδίτσας και Στυμφαλίας, παρουσιάζουν σημαντικά μειωμένη διέγερση των T λεμφοκυττάρων (ANOVA, $F_{5,95} = 3,04$, $P = 0,01$, **εικόνα 4.10**).

Η ανάλυση παλινδρόμησης ανάμεσα στα επίπεδα απόκρισης της κυτταρικής ανοσίας και το παρασιτικό φορτίο, έδειξε επίσης σημαντικές διαφορές για τους έξι πληθυσμούς μελέτης, τόσο για τα εξω- ($F_{2,98} = 7,68$, $P < 0,001$) όσο και τα αιμο- ($F_{2,98} = 5,58$, $P < 0,05$) παράσιτα (**εικόνα 4.13 Γ και 4.13 Δ**), με τους πληθυσμούς της νησιωτικής Ελλάδας να παρουσιάζουν μικρότερη ανοχή στην αύξηση του παρασιτικού φορτίου (μεγαλύτερη κλίση της καμπύλης παλινδρόμησης, ενδοπαράσιτα: $t = 21,91$, $df = 97$, $P < 0,01$ και εξωπαράσιτα: $t = 37,43$, $df = 97$, $P < 0,01$). Παρ' όλα αυτά, δεν βρέθηκε καμία διαφορά μεταξύ των τριών νησιωτικών πληθυσμών όσον αφορά τα επίπεδα ανοχής και αντίστασης, αλλά ούτε και μεταξύ των τριών ηπειρωτικών (για όλους τους ανά ζεύγη συνδυασμούς $P > 0,05$, **πίνακας 4.5**). Ως εκ τούτου, οι έξι πληθυσμοί μελέτης ομαδοποιήθηκαν σε δύο μεγάλες ομάδες (μια για τους νησιωτικούς και μια για τους ηπειρωτικούς πληθυσμούς).



Εικόνα 4.13. Σχηματική απεικόνιση της ανάλυσης συσχέτισης μεταξύ του Α) αριθμού των εξωπαράσιτων και Β) της συχνότητας των ενδοπαράσιτων, ως προς τα επίπεδα κυτταρικής ανοσολογικής απόκρισης σε επίπεδο ατόμων. Ανάλυση παλινδρόμησης για κάθε πληθυσμό ξεχωριστά και επίδραση της αύξησης του αριθμού των Γ) εξωπαράσιτων και Δ) ενδοπαράσιτων στα επίπεδα κυτταρικής ανοσίας των σαυρών. Ανάλυση παλινδρόμησης, ύστερα από ομαδοποίηση των πληθυσμών με βάση το περιβαλλον διαβίωσης (N: νησιωτικό και H: ηπειρωτικό), για τον έλεγχο της σχέσης Ε) του αριθμού των εξωπαράσιτων και ΣΤ) της συχνότητας των ενδοπαράσιτων, με τα επίπεδα κυτταρικής ανοσίας. Η συχνότητα των ενδοπαράσιτων υπολογίστηκε με βάση τον αριθμό haemogregarines που βρέθηκαν σε σύνολο 2000 ερυθροκυττάρων για κάθε σαύρα. Τα στοιχεία των καμπύλων παλινδρόμησης δίνονται στον πίνακα 4.5.

Στα νέα δεδομένα, τα οποία δημιουργήθηκαν ύστερα από ομαδοποίηση των νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών, διεξήχθη εκ νέου ανάλυση παλινδρόμησης. Η νέα ανάλυση έδειξε μια σαφή διαφοροποίηση, στα επίπεδα ανοχής, μεταξύ των σαυρών

από τα διαφορετικά περιβάλλοντα, με τις σαύρες από την ηπειρωτική χώρα να εμφανίζονται σαφώς περισσότερο ανεκτικές στην αύξηση του παρασιτικού φορτίου, σε σύγκριση με εκείνες της νησιωτικής Ελλάδας (αιμοπαράσιτα: $F_{2,98} = 5,58$, $P < 0,05$, εξωπαράσιτα: $F_{2,98} = 2,99$, $P = 0,045$, **εικόνα 4.13 Ε και 4.13 ΣΤ**).

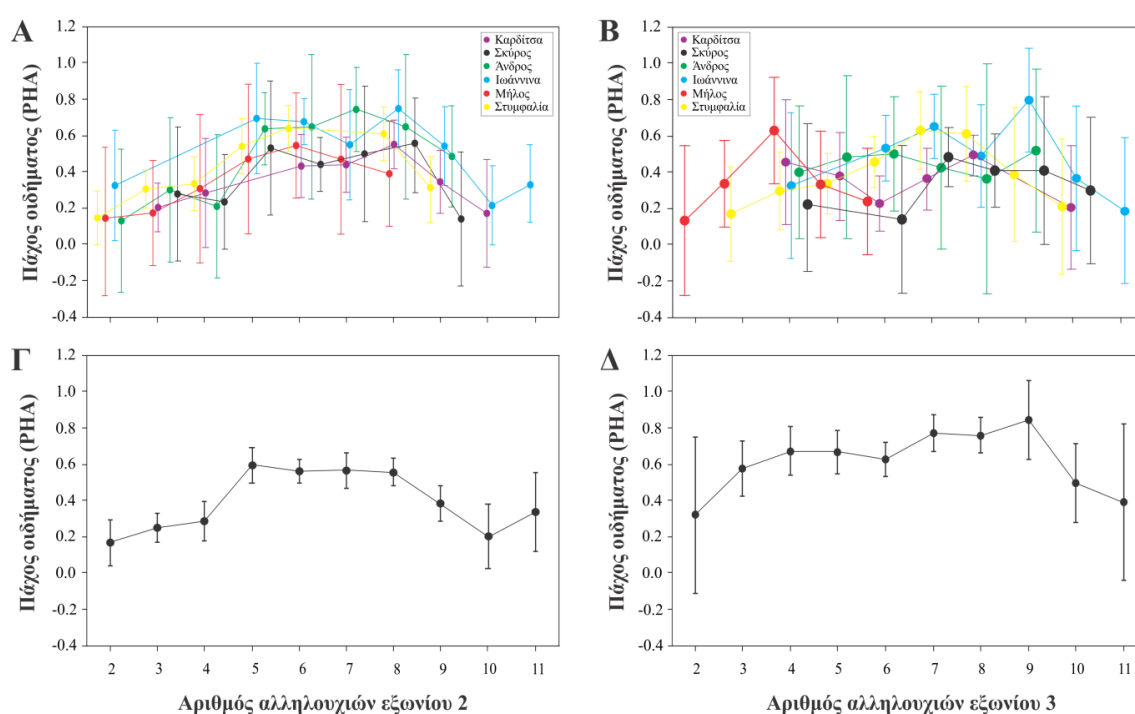
Τέλος, εξαιτίας της επίδρασης του παρασιτικού φορτίου στα επίπεδα διέγερσης των Τ λεμφοκυττάρων, πραγματοποιήθηκε επιπλέον ανάλυση συσχέτισης Spearman χωρίς, ωστόσο, να ληφθεί υπ' όψιν η περιοχή προέλευσης του ζώου. Η ανάλυση συσχέτισης έδειξε ότι όταν ο αριθμός των εξωπαρασίτων αυξάνεται, η κυτταρομεσολαβούμενη ανοσολογική απόκριση των σαυρών παραμένει υψηλή, σχεδόν αμετάβλητη. Ωστόσο, από έναν δεδομένο αριθμό παρασίτων και ύστερα η συνεχιζόμενη αύξηση των εξωπαρασίτων προκαλεί μια εκθετική μείωση των επιπέδων ανοσολογικής απόκρισης ($r = -0,40$, $P < 0,001$, **εικόνα 4.13 Α**). Όσον αφορά τη σχέση των αιμοπαρασίτων και της ανοσολογικής απόκρισης, τα αποτελέσματά μας έδειξαν μια μάλλον οριακή γραμμική συσχέτιση των δύο αυτών μεταβλητών, στην οποία αύξηση του αριθμού των αιμοπαρασίτων οδηγεί σε μικρή ελάττωση της διέγερσης των Τ λεμφοκυττάρων ($r = -0,24$, $P = 0,046$, **εικόνα 4.13 Β**).

Πίνακας 4.5. Περιγραφή των καμπύλων παλινδρόμησης (βάσει της εικόνας 4.13) από τη σχέση της ανοσολογικής απόκρισης και του παρασιτικού φορτίου (ενδο- και εξω- παράσιτα) για κάθε έναν πληθυσμό μελέτης και το σύνολο των ηπειρωτικών και νησιωτικών σαυρών.

Παράσιτα	Πληθυσμός	intercept	slope	r^2	F	P
εξωπαράσιτα	Ιωάννινα	0,203	-0,039	0,177	$F_{1,15} = 3,22$	0,092
	Καρδίτσα	0,139	-0,007	0,004	$F_{1,20} = 0,08$	0,778
	Στυμφαλία	0,163	-0,029	0,063	$F_{1,22} = 1,49$	0,235
	Μήλος	0,163	-0,066	0,263	$F_{1,8} = 2,84$	0,131
	Άνδρος	0,207	-0,515	0,061	$F_{1,12} = 0,77$	0,398
	Σκύρος	0,179	-0,051	0,238	$F_{1,12} = 3,75$	0,076
	Ηπειρωτικοί	0,169	-0,032	0,254	$F_{1,61} = 4,23$	0,043
	Νησιωτικοί	0,189	0,059	-0,513	$F_{1,36} = 7,85$	0,008
ενδοπαράσιτα	Ιωάννινα	0,173	-0,023	0,169	$F_{1,15} = 0,88$	0,424
	Καρδίτσα	0,135	0,006	3×10^{-6}	$F_{1,20} = 6 \times 10^{-5}$	0,994
	Στυμφαλία	0,171	-0,033	0,071	$F_{1,22} = 1,67$	0,209
	Μήλος	0,137	-0,042	0,028	$F_{1,8} = 0,23$	0,642
	Άνδρος	0,213	-0,101	0,278	$F_{1,12} = 4,62$	0,051
	Σκύρος	0,177	-0,049	0,219	$F_{1,12} = 3,36$	0,091
	Ηπειρωτικοί	0,159	0,013	-0,106	$F_{1,61} = 4,35$	0,041
	Νησιωτικοί	0,186	0,063	-0,456	$F_{1,36} = 9,46$	0,004

4.3.3.2. Σχέση του βαθμού πολυμορφισμού των MHC μορίων τάξης I με τα επίπεδα διέγερσης των T λεμφοκυττάρων και το παρασιτικό φορτίο

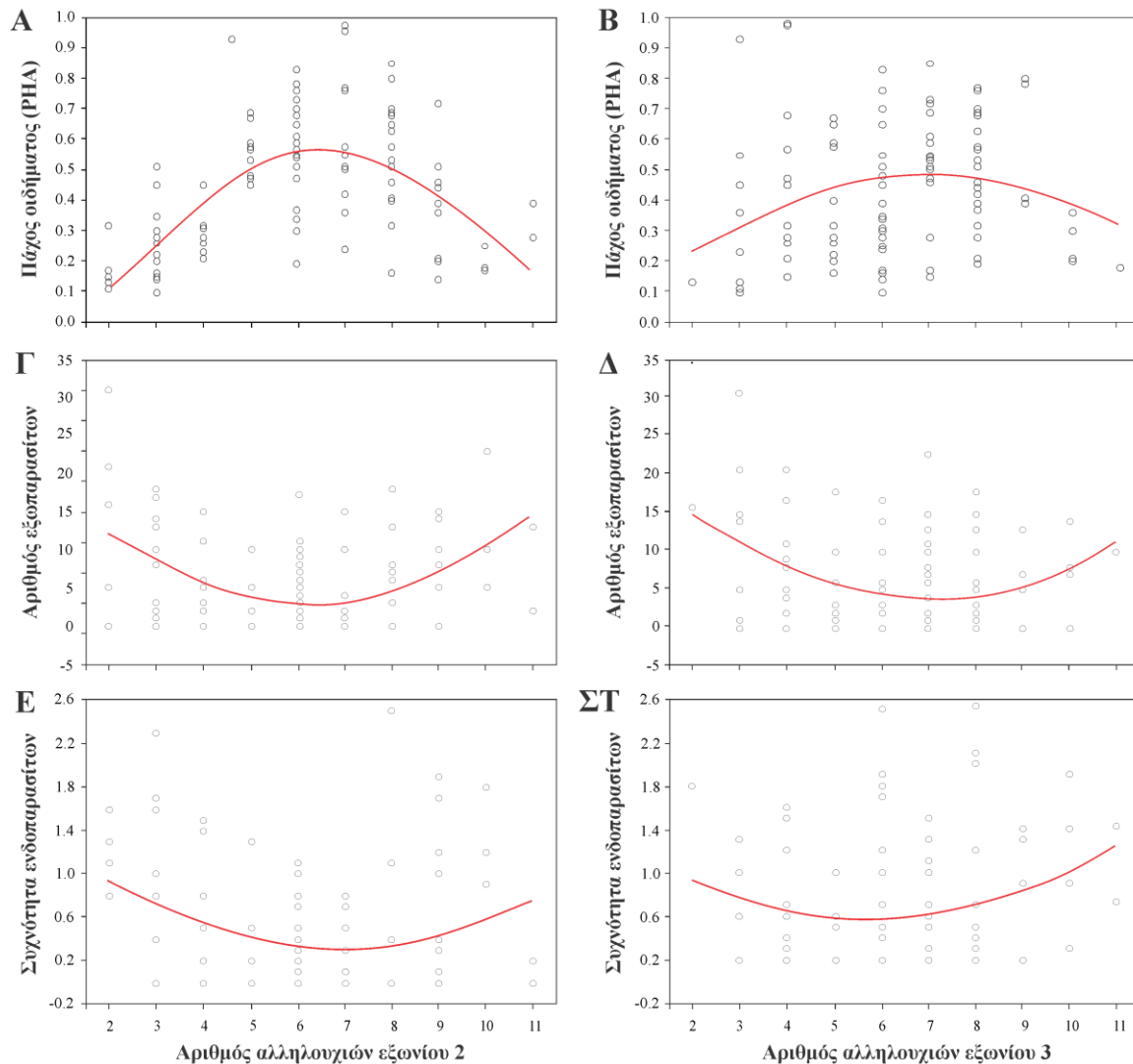
Η αύξηση του αριθμού των αλληλουχιών των εξωνίων 2 & 3, οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων διέγερσης των T λεμφοκυττάρων (one-way ANOVA, όλα τα $P < 0,05$). Ωστόσο, όταν ο βαθμός πολυμορφισμού του MHC προσεγγίσει ή ξεπεράσει ένα ανώτατο όριο, που στην προκειμένη περίπτωση φάνηκε να είναι 8 - 9 αλληλουχίες ανά σαύρα και στα δύο εξώνια, τότε παρατηρείται σημαντική πτώση της απόδοσης της κυτταρικής ανοσίας (one-way ANOVA, όλα τα $P < 0,05$). Το πρότυπο αυτό επιβεβαιώθηκε τόσο για τις σαύρες από τα νησιά όσο και από τη χέρσο (εικόνα 4.14 Α και 4.14 Β).



Εικόνα 4.14. Σχηματική απεικόνιση των αποτελεσμάτων της ανάλυσης ANOVA, για την επίδραση του αριθμού των αλληλουχιών των εξωνίων 2 & 3 στα επίπεδα κυτταρικής ανοσολογικής απόκρισης A/B) για κάθε πληθυσμό ξεχωριστά, και Γ/Δ) για το σύνολο των σαυρών, ανεξαρτήτως περιοχής προέλευσης.

Παρ' όλα αυτά, εξαιτίας των μεγάλων τυπικών αποκλίσεων που καταγράφηκαν στην απόδοση της κυτταρικής ανοσίας, λόγω του μικρού μεγέθους δείγματος των πληθυσμών μελέτης, η ανάλυση ANOVA επαναλήφθηκε ύστερα από ομαδοποίηση των δεδομένων μας. Η τελευταία ανάλυση, που μοναδικό στόχο είχε την αύξηση της ισχύος των αποτελεσμάτων, επιβεβαίωσε τα τελευταία αποτελέσματα. Δηλαδή, βρέθηκε, ότι τα επίπεδα διέγερσης των T λεμφοκυττάρων, είναι μέγιστα σε ενδιάμεσες τιμές

πολυμορφισμού, ενώ, αντίθετα, όσο πλησιάζουμε προς τα άκρα, ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων μειώνεται σημαντικά (one-way ANOVA, *εξώνιο 2*: $F_{9,91} = 10,86$, $P < 0,001$, *εξώνιο 3*: $F_{9,91} = 2,07$, $P = 0,04$, *εικόνα 4.14 Γ* και *4.14 Δ*, αντίστοιχα).



Εικόνα 4.15. Σχηματική απεικόνιση της ανάλυσης συσχέτισης, σε επίπεδο ατόμου, μεταξύ του Α/Β) αριθμού των αλληλουχιών για τα *εξώνια 2 & 3* και της απόδοσης της κυτταρικής ανοσίας (πολλαπλασιασμός των Τ λεμφοκυττάρων), καθώς και μεταξύ του αριθμού των αλληλουχιών για τα *εξώνια 2 & 3* και της έντασης του Γ/Δ) ενδο- και Ε/ΣΤ) εξω- παρασιτικού φορτίου. Η συχνότητα των ενδοπαρισμάτων υπολογίστηκε με βάση τον αριθμό haemogregarines που βρέθηκαν σε σύνολο 2000 ερυθροκυττάρων.

Σε συμφωνία με τα παραπάνω, είναι τα αποτελέσματα της ανάλυσης παλινδρόμησης, όπου παρατηρήθηκε ότι η σχέση της απόδοσης της κυτταρικής ανοσολογικής απόκρισης και του αριθμού των αλληλουχιών των εξωνίων 2 & 3 ερμηνεύεται καλύτερα από την τετραγωνική καμπύλη παλινδρόμησης (quadratic regression) και όχι από την απλή γραμμική παλινδρόμηση (linear regression). Το πρότυπο αυτό καταγράφηκε τόσο για το εξώνιο 2 (τετραγωνική: $r^2 = 0,43$, γραμμική: $r^2 = 0,09$, έλεγχος F , $F_{2,98} = 36,23$, $P < 0,001$, **εικόνα 4.15 Α**) όσο και για το εξώνιο 3 (τετραγωνική: $r^2 = 0,07$, γραμμική: $r^2 = 0,016$, έλεγχος F , $F_{2,98} = 3,16$, $P = 0,047$, **εικόνα 4.15 Β**) (αν και στην περίπτωση αυτή οι διαφορές ήταν μάλλον οριακές).

Λαμβάνοντας υπ' όψιν την επίδραση, πρώτον, του βαθμού πολυμορφισμού των MHC μορίων τάξης I και, δεύτερον, των επιπέδων διέγερσης των T λεμφοκυττάρων, με τα επίπεδα παρασιτικού φορτίου, επαναλήφθηκε η τελευταία ανάλυση, χρησιμοποιώντας τον αριθμό των αλληλουχιών των εξωνίων 2 & 3 ως εξαρτημένη μεταβλητή και τα επίπεδα ενδο- και εξω- παρασιτικού φορτίου ως ανεξάρτητη. Τα αποτελέσματα και σε αυτή την περίπτωση επιβεβαίωσαν την αρχική παρατήρηση ότι τα άτομα της *L. trilineata* με ενδιάμεσο αριθμό αλληλουχιών για τα εξώνια 2 & 3 των MHC μορίων τάξης I (5-8 αλληλουχίες), φέρουν σημαντικά μειωμένο αριθμό εξω- και αιμο- παρασίτων ($P < 0,05$, **εικόνες 4.15 Γ-ΣΤ**), ενώ αντίθετα σάυρες με μικρό ή αρκετά εκτεταμένο βαθμό πολυμορφισμού παρουσιάζουν μεγάλο παρασιτικό φορτίο.

4.3.3.3. Κριτήριο ελάχιστης πληροφορίας (AIC)

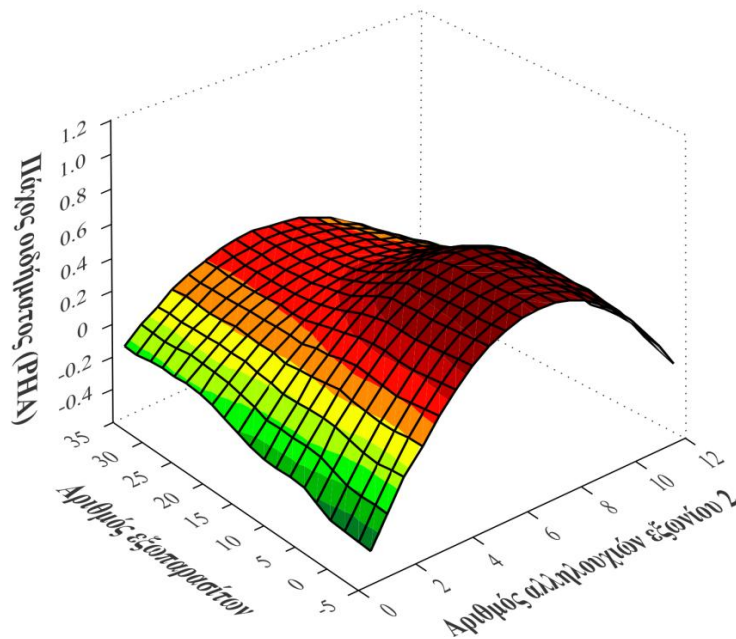
Η ανάλυση AIC έδειξε ότι τα δύο μοντέλα με το μεγαλύτερο συντελεστή στάθμισης του Akaike, που ερμηνεύουν καλύτερα τη διαφοροποίηση που παρουσιάζει η απόδοση της κυτταρικής ανοσίας μεταξύ των έξι πληθυσμών, είναι εκείνα που λαμβάνουν υπ' όψιν: (α) τη συνδυασμένη δράση των παραμέτρων αριθμός αλληλουχιών εξωνίου 2 και αριθμός εξωπαρασίτων (μοντέλο ID 1, **εικόνα 4.16**) και (β) μόνο την παράμετρο αριθμός εξωπαρασίτων (μοντέλο ID 2) (**πίνακας 4.6**).

Πίνακας 4.6. Επιλογή του καταλληλότερου μοντέλου ύστερα από τη δοκιμασία Akaike (AIC_C) και λαμβάνοντας υπ' όψιν την περιοχή προέλευσης του είδους. Στον πίνακα δίνονται τα 20 πρώτα κατά σειρά καταλληλότερα μοντέλα που επιλέχθηκαν με τη δοκιμασία AIC_C^* .

Μεταβλητές του μοντέλου	Μοντέλο ID	k	AIC_C	ΔAIC_C	W_{AIC}
Εξώνιο 2 + Εξωπαράσιτα	1	6	-262,7	0,0000	0,528
Εξωπαράσιτα	2	5	-257,8	5,6824	0,046
Εξώνιο 2	3	5	-257,3	5,3400	0,037
Κατάσταση ουράς	4	6	-254,3	8,3930	0,008
Εξωπαράσιτα + Κατάσταση ουράς	5	6	-254,1	8,6080	0,007
Εξωπαράσιτα + Φαινότυπος λαιμού	6	5	-253,4	9,2780	0,005
Φαινότυπος λαιμού	7	5	-253,1	9,5790	0,004
Εξώνιο 3	8	6	-252,1	10,5300	0,003
Εξωπαράσιτα + Εξώνιο 3	9	5	-251,6	10,7000	0,002
Ενδοπαράσιτα	10	6	-251,1	11,5700	0,002
Εξώνιο 2 + Ενδοπαράσιτα	11	7	-250,1	12,5500	0,001
Ενδοπαράσιτα + Εξωπαράσιτα	12	5	-249,4	13,2300	0,001
Εξωπαράσιτα + Εξώνιο 2 + Κατάσταση ουράς	13	7	-249,4	13,2600	0,001
Εξωπαράσιτα + Εξώνιο 2 + Φαινότυπος λαιμού	14	6	-248,4	14,2800	0,000
Εξώνιο 2 + Φαινότυπος λαιμού	15	6	-248,3	14,3400	0,000
Εξώνιο 2 + Ενδοπαράσιτα	16	7	-246,8	15,9000	0,000
Εξώνιο 2 + Εξώνιο 3 + Εξωπαράσιτα	17	6	-246,7	15,9100	0,000
Κατάσταση ουράς + Φαινότυπος λαιμού	18	6	-246,0	16,6300	0,000
Εξώνιο 2 + Εξώνιο 3	19	6	-245,8	16,8200	0,000
Κατάσταση ουράς + Φαινότυπος λαιμού + Ενδοπαράσιτα	20	7	-244,9	17,7700	0,000

*Η μεταβλητή πάχος οιδήματος απέτελεσε τη σταθερή μεταβλητή, ενώ οι μεταβλητές: αριθμός εξω- και αιμο- παρασίτων, αριθμός αλληλουχιών για τα εξώνια 2 & 3, χρώμα/φαινότυπος λαιμού και κατάσταση της ουράς χρησιμοποιήθηκαν ως ανεξάρτητες μεταβλητές. Για την διεξαγωγή της ανάλυσης ANOVA, με επίδραση τυχαίων παραγόντων (random-effects) χρησιμοποιήθηκε η συνδυασμένη δράση των μεταβλητών περιβάλλον και περιοχή προέλευσης, καθώς και το καθεστώς προστασίας των περιοχών, προκειμένου να εκτιμηθούν οι διαφορές μεταξύ των πληθυσμών. Τα μοντέλα κατατάχθηκαν με βάση την τιμή ΔAIC_C και τον συντελεστή στάθμισης του Akaike (W_{AIC}). Η τιμή k αναφέρεται στον αριθμό των παραμέτρων που λαμβάνει υπ' όψιν το κάθε μοντέλο.

Για να εξακριβωθεί η ισχύς των δύο μοντέλων πραγματοποιήθηκε δοκιμασία ANOVA. Η ανάλυση έδειξε, ότι, ανάμεσα στις δύο παραπάνω ανεξάρτητες μεταβλητές ελέγχου, ο αριθμός των εξωπαρασίτων, και όχι ο αριθμός των αλληλουχιών του εξωνίου 2, είναι αυτός που εξηγεί καλύτερα τις διαφορές στα επίπεδα διέγερσης των T λεμφοκυττάρων (ANOVA, μοντέλο 1 έναντι 2, goodness of fit: $\chi^2 = 8,08$, $df = 1$, $P < 0,001$). Ωστόσο, το μοντέλο, το οποίο επιλέχθηκε ως καταλληλότερο, ήταν εκείνο που λαμβάνει υπ' όψιν την συνδυασμένη δράση των δύο παραπάνω μεταβλητών (ANOVA, goodness of fit: $\chi^2 = 7,77$, $df = 0$, $P < 0,001$, **εικόνα 4.16**).



Εικόνα 4.16. Σχηματική απεικόνιση του καταλληλότερου μοντέλου όπως επιλέχθηκε από το σταθμισμένο κριτήριο πληροφορίας Akaike (AIC_c) (βλ. πίνακα 4.6). Δίνεται η συνδυαστική δράση της σχέσης της απόδοσης της ανοσολογικής απόκρισης και του αριθμού των αλληλουχιών για το εξώνιο 2, καθώς και της σχέσης της απόδοσης της ανοσολογικής απόκρισης και του αριθμού των εξωπαράσιτων.

4.4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα εργασία αποτελεί την πρώτη εκτεταμένη έρευνα γεωγραφικής και συστηματικής διαφοροποίησης της γενετικής ποικιλότητας των MHC μορίων σε σαύρες της οικογένειας Lacertidae και το συσχετισμό αυτής με την ισχύ της κυτταρομεσολαβούμενης ανοσολογικής απόκρισης.

4.4.1. Περί ανοσογενετικής

Η σύγκριση του MHC γονοτύπου, μεταξύ των δύο ειδών και των πληθυσμών τους, εμφάνισε σημαντικές διαφορές. Έτσι, αν και τα δύο είδη *Lacerta* (*L. trilineata* και *L. viridis*) που μελετήθηκαν, παρουσιάζουν ιδιαίτερα αυξημένη γενετική ποικιλότητα και εκτεταμένου βαθμού πολυμορφισμό στο MHC τάξης I, σε σύγκριση με τους φυσικούς πληθυσμούς άλλων taxa (θηλαστικών, πτηνών, αμφιβίων), η *L. trilineata* χαρακτηρίζεται από σαφώς μικρότερη ποικιλότητα και πολυμορφισμό σε σχέση με τη *L. viridis* (συστηματική διαφορά). Επιπλέον, φάνηκε ότι ο νησιωτικός χαρακτήρας της *L. trilineata*, επιφέρει σημαντικές αρνητικές επιδράσεις στα επίπεδα γενετικής ποικιλότητας και βαθμού

πολυμορφισμού των γονιδίων αυτών (γεωγραφικές αποκλίσεις). Ωστόσο, παρά τις τελευταίες διαφορές, η μέση νουκλεοτιδική διαφοροποίηση των αλληλουχιών των εξωνίων 2 & 3 στους νησιωτικούς πληθυσμούς της *L. trilineata* ήταν ιδιαίτερα αυξημένη και συγκρίσιμη με εκείνη των ηπειρωτικών σαυρών. Τέλος, παρατηρήθηκε αδυναμία κατασκευής ενός αξιόπιστου φυλογενετικού δέντρου γονιδίων/εξωνίων με υψηλή υποστήριξη κλάδων (εικόνα 4.7), εξαιτίας της μεγάλης γενετικής απόστασης των MHC αλληλουχιών μεταξύ ατόμων του ίδιου είδους, που ήταν συγκρίσιμη με εκείνη μεταξύ των ειδών.

Η *L. trilineata* και η *L. viridis* παρουσιάζουν υψηλό βαθμό πολυμορφισμού στα MHC μόρια τάξης I. Το φαινόμενο αυτό αποτυπώνεται στο μεγάλο αριθμό αλληλουχιών του εξωνίου 2 (13 αλληλουχίες) και εξωνίου 3 (13 αλληλουχίες) που βρέθηκε σε ορισμένες σαύρες, υποστηρίζοντας την ύπαρξη τουλάχιστον 7 εκφραζόμενων MHC τάξης I γονιδιακών τόπων. Η τιμή αυτή είναι σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη που έχει καταγραφεί σε άλλα taxa θηλαστικών, πτηνών και αμφιβίων [πγκοίνιοι των Galápagos: 3 MHC αλληλουχίες (Bollmer και συν. 2007), οικιακό σπουργίτι *Passer domesticus*: 9 MHC αλληλουχίες (Bonneaud και συν. 2004b), ρίτωνα *Lissotriton* spp.: 6 MHC αλληλουχίες (Nadachowska-Brzyska και συν. 2012), γαλαζοπαπαδίτσα *Cyanistes caeruleus*: 8 MHC αλληλουχίες (Schut και συν. 2011), ορισμένα αιλουροειδή: 3-6 MHC αλληλουχίες (Wei και συν. 2010), κ.α.]. Βέβαια, σε αντίθεση με την πλειονότητα των μελετών αυτών, θα πρέπει να υπογραμμισθεί ότι στα πλαίσια της παρούσας έρευνας δεν κατέστη δυνατή η πραγματοποίηση ανάλυσης γονιδιακής έκφρασης. Με άλλα λόγια, δεν εξετάστηκε εάν οι αλληλουχίες που παρήχθησαν εδράζονται σε εκφραζόμενους ή μη εκφραζόμενους γονιδιακούς τόπους. Παρ' όλα αυτά, πιστεύουμε ότι τα κριτήρια που τέθηκαν στις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν (αναλυτικά η μεθοδολογία δίνεται στην παράγραφο 2.3.2) είναι επαρκή ώστε να υποστηρίζουν τη λειτουργικότητα των επιλεχθεισών αλληλουχιών (Babik και συν. 2009, Galan και συν. 2010).

Συγκεκριμένα, στις αλληλουχίες που θεωρήθηκαν ως «πραγματικές» δεν ανιχνεύθηκε κανένα εσωτερικό κωδικόνιο λήξης. Επιπλέον, βρέθηκε ότι ο λόγος d_N/d_S στις PBR (εξώνιο 2: 3,34 και 3: 5,67, ενώ στις μη PBR: εξώνιο 2: 1,16 και 3: 2,92) είναι σημαντικά μεγαλύτερος από εκείνον που ορίζεται από την ουδέτερη πίεση επιλογής. Το τελευταίο εύρημα, βρίσκεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της ανάλυσης Z, η οποία υποστηρίζει την πίεση της θετικής επιλογής στην περιοχή πρόσδεσης και παρουσίασης των αντιγονικών πεπτιδίων (για το εξώνιο 2: $P < 0,05$, ενώ για το εξώνιο 3 η τιμή P ήταν κοντά στα όρια προκειμένου να χαρακτηριστεί σημαντική, ήτοι: $P = 0.093$ για τη *L.*

trilineata και $P = 0.079$ για τη *L. viridis*) (Bernatchez & Landry 2003, Pfau και συν. 2001), ενώ επιβεβαιώνεται περαιτέρω και από τα αποτελέσματα της δοκιμασίας Tajima's D (εικόνα 4.9). Το γεγονός αυτό σημαίνει ότι οι νουκλεοτιδικές αντικαταστάσεις βάσεων παραμένουν στον πληθυσμό, εφόσον προσδίδουν κάποιο ισχυρό πλεονέκτημα αντιμετώπισης στον ίδιο τον οργανισμό έναντι των παθογόνων μικροοργανισμών του περιβάλλοντος (Hughes & Yeager 1998a). Τέλος, θα πρέπει να αναφερθεί ότι αρκετές από τις αλληλουχίες που εντοπίστηκαν στα δύο υπό μελέτη taxa (*L. viridis* και *L. trilineata*), είναι κοινές και σε άλλα είδη *Lacerta*, όπως στη *L. agilis* και *L. bilineata*, καθώς και σε συγγενικά αυτών, όπως στην *Hellenolacerta graeca* (K. Sagonas και συν., αδημοσίευτα δεδομένα), γεγονός που επίσης υποστηρίζει τη λειτουργικότητα των επιλεχθεισών αλληλουχιών των εξωνίων 2 & 3.

Η προέλευση του πολυμορφισμού του MHC έχει αποτελέσει αντικείμενο έντονης αντιπαράθεσης την τελευταία δεκαετία. Οι γενετικοί μηχανισμοί, που ευθύνονται για τη δημιουργία του, καθώς και οι δυνάμεις φυσικής επιλογής που ευθύνονται για τη διατήρησή του, παραμένουν ακόμα και σήμερα πεδίο έρευνας που προσελκύει το ενδιαφέρον αρκετών ερευνητών. Ο Klein (1980) πρώτος διατύπωσε την άποψη ότι, ο υψηλός βαθμός MHC πολυμορφισμού, που παρατηρείται σε ορισμένα σύγχρονα είδη, είναι το αποτέλεσμα διαφοροποίησης των αλληλομόρφων γονιδίων στο προγονικό είδος, τα οποία διατηρήθηκαν, μέσω εξελικτικών δυνάμεων επιλογής, για εκατομμύρια χρόνια και τελικά πέρασαν στα θυγατρικά taxa. Ως εκ τούτου, οι αλληλουχίες, που μοιράζονται εξελικτικά συγγενικά taxa, θα πρέπει να ενυπήρχαν, λίγο διαφοροποιημένες, στον πιο πρόσφατο κοινό τους πρόγονο (Klein 1989). Η άποψη του διαμέσου των ειδών πολυμορφισμού (trans-species polymorphism), όπως αλλιώς χαρακτηρίζεται η παραπάνω θεωρία, έχει αρχίσει να κερδίζει έδαφος την τελευταία δεκαετία, καθότι έχει επιβεβαιωθεί για πληθώρα συμπάτριων και εξελικτικά συγγενικών taxa, όπως σε τρίτωνες του γένους *Lissotriton* (Nadachowska-Brzyska και συν. 2012), σε τρωκτικά του γένους *Ctenomys* (Cutrera & Lacey 2007), καθώς και σε σαύρες του γένους *Podarcis* (A. Runemark, K. Sagonas & B. Hansson, αδημοσίευτα δεδομένα), ενώ φαίνεται ότι μπορεί να εξηγήσει μεγάλο μέρος της γενετικής ομοιότητας των MHC που παρατηρήθηκε στα δύο υπό μελέτη taxa του γένους *Lacerta* (βλ. παρακάτω).

Όσον αφορά την πρώτη υπόθεση εργασίας, που υποστηρίζει τη συστηματική διαφοροποίηση της γενετικής ποικιλότητας και του γονοτύπου των MHC μορίων τάξης I μεταξύ των δύο ειδών, ως αποτέλεσμα των διαφορετικών πιέσεων επιλογής που δρουν σε αυτά, τα ευρήματά μας φάνηκε να την επιβεβαιώνουν (εικόνα 4.8). Στις μέρες μας, έχει

τεκμηριωθεί η άποψη ότι η γενετική ποικιλότητα των γονιδίων που υπόκεινται σε πιέσεις επιλογής, όπως είναι η πολυγονιδιακή οικογένεια του MHC, μπορεί να αποκλίνει μεταξύ διακριτών taxa ή ακόμα και μεταξύ πληθυσμών του ίδιου είδους. Η αιτιολόγηση του φαινομένου αυτού πιθανολογούμε ότι θα πρέπει να αναζητηθεί στην πληθώρα των χαρακτήρων για τους οποίους συχνά τα είδη/πληθυσμοί αποκλίνουν μεταξύ τους (Eizaguirre και συν. 2012b, Eizaguirre και συν. 2009, Miller και συν. 2001, Oliver & Piertney 2012). Έχει αποδειχθεί, εμπειρικά, ότι το φυσικό περιβάλλον διαβίωσης και οι αλληλεπιδράσεις του ζώου μέσα σε αυτό (σχέσεις ξενιστή/παρασίτου, θηρευτή/θηράματος, κ.α.) (Alcaide και συν. 2010, Eizaguirre και συν. 2011, Wegner και συν. 2003b), οι χαρακτήρες ιστορίας ζωής (life-history) (αναπαραγωγή, ενηλικίωση, αριθμός των απογόνων, κ.α.), η επιλογή συντρόφου (Bonneaud και συν. 2006a, Edwards & Hedrick 1998, López & Martín 2005), καθώς και η γενικότερη βιολογία του ζώου (Sommer 2005a), μπορούν να μεταβάλλουν την ένταση των πιέσεων επιλογής που δρουν στα MHC μόρια.

Πέραν της συστηματικής διαφοροποίησης που καταγράφηκε στη γενετική ποικιλότητα των μορίων MHC τάξης I, διαπιστώθηκε ότι τα άτομα της *L. viridis* χαρακτηρίζονται και από σημαντικά μεγαλύτερο βαθμό MHC πολυμορφισμού σε σχέση με εκείνα της *L. trilineata*, με άλλα λόγια, ο μέσος αριθμός MHC αλληλουχιών ανά άτομο είναι ιδιαίτερα αυξημένος (εξώνιο 2, *L. viridis*: 6,89 έναντι *L. trilineata*: 5,56 και εξώνιο 3, *L. viridis*: 6,45 έναντι *L. trilineata*: 5,89, **εικόνα 4.5**). Πιθανή εξήγηση της διαφοράς αυτής θα μπορούσε να είναι το εύρος εξάπλωσης του κάθε είδους. Έχει αποδειχθεί ότι είδη με μεγαλύτερη διασπορά, υπόκεινται σε περισσότερες και μεγαλύτερης έντασης πιέσεις επιλογής, εξαιτίας των περισσότερων οικολογικών σχέσεων που αντιμετωπίζουν (π.χ., έκθεση σε μεγαλύτερη ποικιλία παρασίτων) (Westerdahl και συν. 2000). Στην περίπτωση της *L. viridis*, η εξάπλωσή της ξεκινά από τις γαλλικές και ισπανικές ακτές του Ατλαντικού για να καταλήξει στη Μαύρη Θάλασσα. Με άλλα λόγια, καταλαμβάνει το μεγαλύτερο μέρος της νότιας και κεντρικής Ευρώπης, ενώ μεμονωμένοι πληθυσμοί του είδους έχουν αναφερθεί στην Τσεχία και στην Ουκρανία (Valakos και συν. 2008, Παφίλης & Βαλάκος 2012). Η *L. trilineata* παρουσιάζει μικρότερη γεωγραφική εξάπλωση, μια και κατανέμεται αποκλειστικά στη νότια Βαλκανική χερσόνησο και στην ευρωπαϊκή Τουρκία (Valakos και συν. 2008, Παφίλης & Βαλάκος 2012). Συνεπώς, μπορούμε να υποθέσουμε ότι η πρώτη εκτίθεται σε μεγαλύτερη ποικιλία βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων (Hewitt 2011), που θέτουν τις βάσεις για έναν υψηλό βαθμό προσαρμογής και διαφοροποίησης του είδους στις τοπικές συνθήκες της κάθε περιοχής (Miller και συν.

2001, Richardson & Westerdahl 2003). Το γεγονός αυτό, σε συνδυασμό με την έκθεσή της σε περισσότερες και πιο σύνθετες πιέσεις επιλογής (Eizaguirre και συν. 2012b), πιθανότατα συνετέλεσε στην αύξηση της γενετικής ποικιλότητας των γονιδίων αυτών στη *L. viridis* (Nadachowska-Brzyska και συν. 2012). Ανάλογες διαφορές στο βαθμό πολυμορφισμού μεταξύ στενά συγγενικών taxa έχουν αναφερθεί και σε άλλες ομάδες ζώων, όπως μεταξύ του ενδημικού ωδικού πτηνού *Acrocephalus sechellensis* στις Σεϋχέλλες και του κοσμοπολίτικου και εξελικτικά συγγενικού του είδους *A. arundinaceus* (Richardson & Westerdahl 2003), στους τρίτωνες του γένους *Lissotriton* (Nadachowska-Brzyska και συν. 2012), καθώς και μεταξύ πληθυσμών του κόκκινου σολομού *Oncorhynchus nerka* (Miller και συν. 2001). Και στα τρία τελευταία παραδείγματα οι διαφοροποιήσεις που καταγράφηκαν στο βαθμό πολυμορφισμού των MHC μορίων σε επίπεδο πληθυσμών, αποδόθηκαν στις οικολογικές και συμπεριφορικές συνθήκες του καθένα πληθυσμού/taxon. Με βάση όλα τα παραπάνω, προτείνουμε ότι η διαφοροποίηση που παρατηρήθηκε στη γενετική ποικιλότητα των MHC μορίων τάξης I, μεταξύ της *L. viridis* και της *L. trilineata*, θα πρέπει να αποδοθεί αντίστοιχα σε δύο παράγοντες: Πρώτον, στη διαφορετική βιολογία και συμπεριφορά των ειδών αυτών, και, δεύτερον, στα διαφορετικά περιβάλλοντα που εκείνα επιλέγουν - η πρώτη επιλέγει θέσεις με πλούσια βλάστηση και υψηλές τιμές υγρασίας, ενώ η δεύτερη πιο ξηρές και ανοικτές περιοχές (Valakos και συν. 2008).

Σε συμφωνία με τη δεύτερη υπόθεση εργασίας, δηλαδή τη γεωγραφική διαφοροποίηση των MHC μορίων τάξης I στη *L. trilineata*, ήταν ο σημαντικά μικρότερος πολυμορφισμός και η ελαττωμένη γενετική ποικιλότητα που βρέθηκαν στις σαύρες από τα νησιά, σε σύγκριση με εκείνες της χέρσου (εικόνα 4.6 και πίνακας 4.4). Σύμφωνα με τους Bollmer και συν. (2011b), καθώς και τους Eimes και συν. (2011), η γενετική ποικιλότητα των MHC μορίων επηρεάζεται από φαινόμενα όπως η γενετική παρέκκλιση και η γονιδιακή ροή. Συνεπώς, σε απομονωμένους πληθυσμούς, όπως εκείνοι των νησιών, η ανάπτυξη φυσικών γενετικών φραγμών αποτρέπει τη μετανάστευση ατόμων αναπαραγωγής, με αποτέλεσμα η γονιδιακή δεξαμενή των πληθυσμών αυτών να μη τροφοδοτείται με νέα αλληλόμορφα (Miller και συν. 2010). Άμεση συνέπεια του τελευταίου είναι ότι οι πληθυσμοί αυτοί υπόκεινται σε εντονότερη γενετική παρέκκλιση, η οποία συμβάλλει στην εξάλειψη ορισμένων αλληλομόρφων και, τελικά, στη μείωση της γενετικής ποικιλότητας (Kimura 1983, Nei και συν. 1975, Wright 1931). Ανάλογες περιπτώσεις, μειωμένης γενετικής ποικιλότητας, ιδιαίτερα σε φυσικούς νησιωτικούς πληθυσμούς ή πληθυσμούς που έχουν υποστεί εξελικτική στενωπό (bottle-neck effect),

έχουν αναφερθεί και σε άλλες ταξινομικές ομάδες. Οι Miller & Lambert (2004a) απέδειξαν ότι στα νησιά Κάθαμ της Νέας Ζηλανδίας το μαύρο σπουργίτι (*Petroica traversi*) έχει μόνο τρεις εκφραζόμενους MHC γονιδιακούς τόπους, ενώ οι πληθυσμοί της ενδημικής σαύρας της Σκύρου *P. gaigeae* που εντοπίζονται σε δορυφορικές βραχονησίδες του κυρίως νησιού, έχουν χάσει το 70% της γενετικής ποικιλότητας των γονιδίων MHC τάξης I (A. Runemark, K. Sagonas & B. Hansson, αδημοσίευτα δεδομένα). Και στα δύο τελευταία παραδείγματα η πολύ μικρή γονιδιακή ροή ανάμεσα σε ηπειρωτικούς και νησιωτικούς πληθυσμούς και η πολύ ισχυρή τυχαία γενετική παρέκκλιση (Miller & Lambert 2004b, Runemark και συν. 2012), που υπερκαλύπτει τη δράση της σταθεροποιούσας επιλογής, έχουν οδηγήσει σε μείωση της γενετικής ποικιλότητας. Ωστόσο, όσον αφορά τη *L. trilineata*, η απουσία δεδομένων από μικροδορυφορικούς γενετικούς δείκτες, για τη μελέτη της γενετικής δομής των πληθυσμών της στον ελλαδικό χώρο (στα πλαίσια της παρούσας έρευνας δεν κατέστη δυνατή μια τέτοια μελέτη), δεν μας επιτρέπει να είμαστε απόλυτα βέβαιοι για την παραπάνω υπόθεση.

Σε αντίθεση με το σημαντικά μικρότερο βαθμό πολυμορφισμού και τη μειωμένη γενετική ποικιλότητα του MHC, που βρέθηκε στις νησιωτικές σαύρες (εικόνα 4.6), οι τιμές της μέσης νουκλεοτιδικής διαφοροποίησης (π) (εξώνιο 2: 0,118 και εξώνιο 3: 0,152) και της μέσης νουκλεοτιδικής ποικιλότητας (k) (εξώνιο 2: 26,8 και εξώνιο 3: 31,1), που καταγράφηκαν για τα εξώνια 2 & 3, ήταν υψηλές και συγκρίσιμες με εκείνες που βρέθηκαν στους ηπειρωτικούς πληθυσμούς (εικόνα 4.6 και πίνακας 4.2). Επιπλέον, είναι αρκετά μεγαλύτερες από εκείνες που έχουν καταγραφεί σε άλλα νησιωτικά είδη σαυρών (*I. iguana*: Glaberman & Caccone 2008a, *S. guntheri*: Miller και συν. 2008, *P. gaigeae*: Runemark 2012). Ανάλογα αποτελέσματα έχουν επισημανθεί και από τους Hedrick και συν. (2000), όπου διαπίστωσαν ότι σε ορισμένα taxa με περιορισμένο αριθμό MHC αλληλουχιών, οι εναπομείνουσες αλληλουχίες ήταν ιδιαίτερα διαφοροποιημένες (π.χ. ο Αραβικός μονόκερος *Oryx leucoryx*: 19,2 και ο Ευρωπαϊκός βίσωνας *Bison bonasus*: 15,6), λόγω της σημαντικής δράσης της επικρατούσας πίεσης επιλογής (Consuegra και συν. 2013, Ellison και συν. 2012). Η τελευταία υποστηρίζει ότι τα ετερόζυγα άτομα για ένα γονιδιακό τόπο, αποκτούν πλεονέκτημα έναντι των ομόζυγων ατόμων ή ακόμα και ετερόζυγων (αλλά με μικρή νουκλεοτιδική διαφοροποίηση στις MHC αλληλουχίες τους) ατόμων, λόγω της ικανότητάς τους να αναγνωρίζουν μεγαλύτερη ποικιλία ξένων αντιγονικών πεπτιδίων (Hughes & Yeager 1998a). Πιθανολογούμε ότι η μεγάλη νουκλεοτιδική διαφοροποίηση των εναπομεινών MHC αλληλουχιών, που παρατηρήθηκε στις νησιωτικές σαύρες της *L. trilineata*, είναι το αποτέλεσμα της δράσης

της επικρατούσας επιλογής, που στην προκειμένη περίπτωση υπερσχύει εκείνης της γενετικής παρέκκλισης (Bollmer και συν. 2011b, Oliver & Piertney 2012). Ανάλογη εικόνα έχει παρατηρηθεί και σε άλλα taxa θηλαστικών και πτηνών, όπως σε λύκους της Φιλανδίας (Niskanen και συν. 2014), σε πιθήκους μακάκους ρέζους (*Macaca mulatta*) (Yao και συν. 2014) και σε θαλασσαετούς (white-tailed eagles, *Haliaeetus albicilla*) (Hailer και συν. 2006). Στα τελευταία παραδείγματα οι πληθυσμοί των ειδών αυτών, που έχουν υποστεί εξελικτική στενωπό, παρουσιάζουν μικρό αριθμό MHC αλληλουχιών. Παρ' όλα αυτά, εμφανίζουν ιδιαίτερα αυξημένη νουκλεοτιδική διαφοροποίηση, λόγω της επίδρασης των πιέσεων φυσικής επιλογής, που ασκούνται μέσω των παθογόνων μικροοργανισμών (ανταγωνιστική συνεξέλιξη, Penn και συν. 2002, Piertney & Oliver 2006) στη διατήρησή της (Richardson & Westerdahl 2003).

Μια πιθανή αιτία για τη σημαντική πίεση των παθογόνων μικροοργανισμών στις νησιωτικές σαύρες, που επιτρέπει τη διατήρηση της υψηλής νουκλεοτιδικής διαφοροποίησης/ποικιλότητας, είναι η λιγότερο εξειδικευμένη θηρευτική συμπεριφορά που έχουν υιοθετήσει οι σαύρες αυτές. Έχει αποδειχθεί ότι η ενσωμάτωση περισσότερων taxa στη δίαιτα ενός ζώου και, ιδιαίτερα, η κατανάλωση φυτικής ύλης, οδηγεί σε αύξηση της ποικιλίας των παθογόνων παρασίτων με τα οποία τα ζώα έρχονται σε επαφή (Bize et al. 2010). Πιθανολογούμε ότι η περιορισμένη διαθεσιμότητα πόρων στα νησιά, που έχει ως αποτέλεσμα οι πληθυσμοί της *L. trilineata* να έχουν αυξήσει το εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου, μπορεί να ενισχύει την υπόθεση της επικρατούσας επιλογής στη διατήρηση της νουκλεοτιδικής ποικιλότητας, που προτάθηκε παραπάνω, μέσω της πίεσης των παθογόνων μικροοργανισμών.

Πέραν των αποκλίσεων που βρέθηκαν στο πρότυπο του MHC, μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών της *L. trilineata*, ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι μεταξύ των πληθυσμών, του είδους αυτού, από τη χέρσο παρατηρήθηκαν εξίσου σημαντικές αποκλίσεις στη γενετική ποικιλότητα και στο βαθμό πολυμορφισμού του MHC. Συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι οι σαύρες της νότιας ηπειρωτικής Ελλάδας (Πελοπόννησος) έχουν σημαντικά ελαττωμένο βαθμό πολυμορφισμού από ό,τι οι σαύρες της βόρειας και κεντρικής ηπειρωτικής Ελλάδας (Στερεά, Θεσσαλία, Ήπειρος, Μακεδονία και Θράκη) (5,11 αλληλουχίες ανά άτομο έναντι 7,34, **πίνακας 4.4** και **εικόνα 4.6**). Το φαινόμενο αυτό δεν φαίνεται να μπορεί να δικαιολογηθεί από το μηχανισμό της τυχαίας γενετικής παρέκκλισης (Alcaide 2010), καθώς τέτοια φαινόμενα είναι περιορισμένα στην ηπειρωτική χώρα. Συνεπώς, θα πρέπει να υποτεθεί ότι η γενετική ποικιλότητα της *L. trilineata* καθορίζεται και από άλλους εξελικτικούς μηχανισμούς. Αν λάβουμε υπ' όψιν ότι

οι βόρειοι και κεντρικοί πληθυσμοί της *L. trilineata* μοιράζονται περισσότερες όμοιες αλληλουχίες με τη *L. viridis*, από ό,τι η τελευταία με τους πληθυσμούς της *L. trilineata* από τη νησιωτική και νότια ηπειρωτική Ελλάδα και ότι μεγάλο μέρος του MHC πολυμορφισμού ανάμεσα στους βόρειους/κεντρικούς και νότιους πληθυσμούς της *L. trilineata* οφείλεται στην απουσία MHC αλληλουχιών στους νότιους πληθυσμούς (**εικόνα 4.8**), τότε η τελευταία υπόθεση ενισχύεται περαιτέρω. Με άλλα λόγια στις περιοχές που τα δύο είδη *Lacerta* απαντούν σε συμπατρία μοιράζονται περισσότερες MHC αλληλουχίες και παρουσιάζουν αυξημένη γενετική ποικιλότητα (**εικόνες 4.4 και 4.8**).

Η διαφοροποίηση, που παρατηρήθηκε στη γενετική ποικιλότητα των MHC τάξης I, μεταξύ των πληθυσμών της *L. trilineata*, μπορεί να είναι το αποτέλεσμα τριών ξεχωριστών εξελικτικών μηχανισμών: (α) της γονιδιακής ροής μέσω διαειδικού υβριδισμού (interspecific hybridization) (Nadachowska-Brzyska και συν. 2012), (β) του διαμέσου των ειδών πολυμορφισμού (trans-species polymorphism) (Klein 1980), γ) της εξισορροπούσας επιλογής (Golding 1992, Nei & Li 1975, Richman 2000) και δ) του συνδυασμού κάποιων εκ των παραπάνω. Στην περίπτωση της *L. trilineata* και της *L. viridis* το πρώτο σενάριο φαίνεται μάλλον απίθανο για τρεις λόγους. Πρώτον, διότι δεν έχει αναφερθεί ποτέ στη φύση περίπτωση υβριδισμού μεταξύ των δύο αυτών ειδών. Δεύτερον, γιατί εργαστηριακά πειράματα υβριδισμού, μεταξύ της *L. trilineata* και *L. viridis*, έχουν δείξει ότι η πιθανότητα επιβίωσης των απογόνων τους είναι εξαιρετικά μικρή (<30%), ενώ οι απόγονοι που τελικά καταφέρνουν να επιβιώνουν είναι συνήθως στείροι (Rykena 1991b, Rykena 2001) - μόνο στην περίπτωση μεταξύ *L. viridis* και *L. bilineata* έχει αποδειχθεί το αντίθετο (Rykena 1991b). Τρίτον, η γενετική απόσταση μεταξύ συμπάτριων πληθυσμών της *L. trilineata* (γενεαλογική γραμμή I και V, **εικόνα 2.3**) και της *L. viridis* (γενεαλογική γραμμή 2 και 1, **εικόνα 2.3**), σε ουδέτερους γενετικούς δείκτες (κεφάλαιο 2, ~ 15%, **πίνακας 2.2**) είναι αρκετά υψηλή ώστε να υποστηρίξει φαινόμενα υβριδισμού μεταξύ των δύο αυτών ειδών (αποτελέσματα κεφαλαίου 2). Εάν η αιτία της ομοιότητας αυτής οφειλόταν αποκλειστικά στο μηχανισμό της διαμέσου των ειδών εξέλιξης (δεύτερη υπόθεση/εξελικτικός μηχανισμός), τότε θα αναμέναμε όλες οι κοινές αλληλουχίες που μοιράζονται τα δύο είδη, να διατηρούνται σε όλους τους πληθυσμούς της *L. trilineata*, ανεξαρτήτως περιοχής προέλευσης. Αντίθετα, στην περίπτωση της *L. viridis* και *L. trilineata* η συχνότητα εμφάνισης τέτοιων αλληλουχιών αυξάνεται στις περιοχές όπου τα δύο είδη απαντούν σε συμπατρία, εκεί δηλαδή που η πιθανότητα υβριδισμού μεγιστοποιείται (**εικόνα 4.8**) (Alcaide και συν. 2008, Nadachowska-Brzyska και συν. 2012). Αντίστοιχα, ούτε η τρίτη υπόθεση, που αφορά τη δράση της εξισορροπούσας

επιλογής, φαίνεται να μπορεί από μόνη της να υποστηρίξει τα ευρήματά μας, καθώς οι διαφορετικές εξελικτικές πιέσεις που δρουν στα διαφορετικά περιβάλλοντα των μεσογειακών περιοχών (Richardson & Westerdahl 2003, Whittaker & Fernández-Palacios 2007) ευνοούν τη διατήρηση διαφορετικών MHC αλληλουχιών. Ως εκ τούτου, δεν μπορεί να δικαιολογηθεί το μεγάλο ποσοστό όμοιων MHC αλληλουχιών που μοιράζονται όλοι οι πληθυσμοί της *L. trilineata* μεταξύ τους (νησιωτικοί και μη, βόρειοι και νότιοι), καθώς και εκείνοι με τους πληθυσμούς της *L. viridis* (εικόνα 4.8).

Η πιθανότερη εξήγηση για την προέλευση της διαφοροποίησης και διατήρησης της γενετικής ποικιλότητας μεταξύ των πληθυσμών της *L. trilineata* και της *L. viridis*, θα πρέπει να αναζητηθεί στη συνδυασμένη δράση των δύο τελευταίων εξελικτικών μηχανισμών: (α) της διαμέσου των ειδών εξέλιξης και (β) της σταθεροποιούσας πίεσης επιλογής (Golding 1992, Nei & Li 1975, Richman 2000). Υποθέτουμε δηλαδή, ότι ορισμένα MHC μόρια της προγονικής μορφής του γένους *Lacerta* που διατηρήθηκαν, μέσω εξελικτικών πιέσεων επιλογής, πέρασαν στα θυγατρικά είδη (Klein 1989) *L. viridis* και *L. trilineata* (διαμέσου των ειδών εξέλιξη). Μετέπειτα πιέσεις επιλογής, που έδρασαν, στη διάρκεια εκατομμυρίων χρόνων από την απόσχιση των ειδών και των γενεαλογικών τους γραμμών, σε συνδυασμό με τη συμπάτρια και/ή αλλοπάτρια κατανομή του είδους με τη *L. viridis* (συμπάτριοι πληθυσμοί δέχονται παρόμοιες πιέσεις επιλογής με αποτέλεσμα να μοιράζονται περισσότερες όμοιες αλληλουχίες), οδήγησαν στη γενετική διαφοροποίηση και ομοιότητα που παρατηρείται σήμερα. Το συμπέρασμα αυτό συμφωνεί με τα αποτελέσματα άλλων ερευνητών που εξέτασαν τη διαμόρφωση της γενετικής ποικιλότητας των MHC μορίων άλλων taxa. Έτσι έχειδειχθεί ότι, συμπάτριοι ή/και αλλοπάτριοι πληθυσμοί του ιδίου ή διαφορετικού είδους, που εκμεταλλεύονται διαφορετικούς πόρους και διαφορετικά μικροενδιαιτήματα μιας περιοχής, παρουσιάζουν σημαντικές ποιοτικές διαφορές στα MHC μόρια [στο πτηνό *Gallinago media* (Ekblom και συν. 2007), στον ιχθύ *Gasterosteus aculeatus* (Matthews και συν. 2010)] λόγω των διαφορετικών πιέσεων επιλογής που δρουν σε αυτούς.

Όσον αφορά τη σταθεροποιούσα πίεση επιλογής, η δράση της στη διαμόρφωση της γενετικής ποικιλότητας των MHC τάξης I στα δύο υπό μελέτη είδη, επιβεβαιώνεται και από τη σημαντικά αυξημένη αμινοξική ποικιλότητα που παρατηρήθηκε στις PBR - δεν βρήκαμε κάτι ανάλογο και για τις μη-PBR -, σε σύγκριση με εκείνη που ορίζεται από την ουδέτερη θεωρία της μοριακής εξέλιξης (έλεγχος Tajima's D, εικόνα 4.9) (Arkush και συν. 2002, Edwards & Hedrick 1998, Harf & Sommer 2005, Osborne και συν. 2013). Αύξηση της αμινοξικής ποικιλότητας στις PBR, ενισχύει την αντίσταση των ξενιστών σε

μολυσματικούς παράγοντες (Doherty & Zinkernagel 1975, Potts & Slev 1995). Συγκεκριμένα, παράγονται MHC μόρια με περισσότερο διαφοροποιημένες θέσεις αναγνώρισης και παρουσίασης αντιγονικών πεπτιδίων, οδηγώντας σε αύξηση της ποικιλότητας των ξένων πεπτιδίων που μπορούν να αναγνωρίσουν τα T λεμφοκύτταρα και, τελικά, αύξηση της απόδοσης του ανοσοποιητικού συστήματος (Dyall και συν. 2000). Η υπόθεση αυτή επιβεβαιώνεται από τα αποτελέσματα των αναλύσεων της ισχύος της κυτταρικής ανοσίας, όπου βρήκαμε ότι τα επίπεδα απόκρισης και πολλαπλασιασμού των T κυττάρων που παρουσιάζουν οι νησιωτικές σαύρες είναι παρόμοια με εκείνα των ηπειρωτικών, παρά το μικρότερο βαθμό πολυμορφισμού που παρουσιάζει το MHC σύστημα (για λεπτομέρειες βλ. παράγραφο 4.4.2.1).

Όσον αφορά τη θεωρία της διαμέσου των ειδών εξέλιξης, για την προέλευση της γενετικής ποικιλότητας των MHC στο γένος *Lacerta*, φαίνεται ότι η υπόθεσή μας ενισχύεται περαιτέρω και από την έλλειψη συνάφειας της τοπολογίας του φυλογενετικού γονιδιακού δέντρου για τα εξώνια 2 & 3 (εικόνα 4.7), με την τοπολογία του φυλογενετικού δέντρου των ειδών του γένους *Lacerta*, που παρήχθη και παρουσιάστηκε στο κεφάλαιο 2 (εικόνα 2.3). Ως εκ τούτου, ορισμένες αλληλουχίες των εξωνίων 2 & 3 της *L. viridis*, είναι περισσότερο όμοιες με εκείνες της *L. trilineata* παρά με άλλες αλληλουχίες της *L. viridis*, δικαιολογώντας τη χαμηλή στατιστική υποστήριξη των κλάδων. Το γεγονός αυτό αποτυπώνεται και στη μεγάλη μέση γενετική απόσταση των εξωνίων 2 & 3 εντός των δύο ειδών *Lacerta* (εξώνιο 2, *L. viridis*: $14,2 \pm 1,8$, *L. trilineata*: $13,3 \pm 1,4$ και εξώνιο 3, *L. viridis*: $19,0 \pm 1,9$, *L. trilineata*: $18,1 \pm 1,8$), η οποία είναι συγκρίσιμη με τη γενετική απόσταση μεταξύ των δύο ειδών (εξώνιο 2: $13,5 \pm 1,5$ και εξώνιο 3: $18,2 \pm 1,9$). Η αδυναμία κατασκευής ενός αξιόπιστου φυλογενετικού δέντρου MHC γονιδίων έχει επισημανθεί και από προηγούμενους ερευνητές για θηλαστικά, ψάρια και ερπετά (Alcaide και συν. 2008, Hedrick 2001, Nadachowska-Brzyska και συν. 2012, Osborne και συν. 2013) και έχει αποδοθεί στη μακροχρόνια πίεση που ασκεί η φυσική επιλογή στην πολυγονιδιακή οικογένεια του MHC (Figueroa και συν. 1988).

Συνοψίζοντας, φαίνεται ότι η διαμόρφωση της γενετικής και νουκλεοτιδικής ποικιλότητας και διαφοροποίησης των MHC τάξης I γονιδίων στη *L. trilineata* και στη *L. viridis*, οφείλονται τόσο σε πιέσεις φυσικής επιλογής (επικρατούσα επιλογή, πίεση επιλογής από παθογόνους μικροοργανισμούς, θετική επιλογή), όσο και στην εξελικτική ιστορία των ειδών αυτών (διαμέσου των ειδών εξέλιξη, Klein 1989). Οι νησιωτικές σαύρες της *L. trilineata* φάνηκε να έχουν μικρότερο βαθμό πολυμορφισμού, από άποψη αριθμού αλληλουχιών των εξωνίων 2 & 3 ανά άτομο, αλλά μεγάλη νουκλεοτιδική διαφοροποίηση.

Πιθανόν, η ανάπτυξη γενετικών φραγμών στα νησιά, που εμποδίζει τη γονιδιακή ροή και ενισχύει φαινόμενα γενετικής παρέκκλισης, και οι μειωμένες διαειδικές αλληλεπιδράσεις που αναπτύσσονται σε αυτά, ευθύνονται για τη μειωμένη γενετική ποικιλότητα των νησιωτικών σαυρών (Bollmer και συν. 2011a, Westerdahl και συν. 2000). Ωστόσο, η επικρατούσα πίεση επιλογής και τα πλεονεκτήματα που προσδίδει ένα ιδιαίτερα διαφοροποιημένο MHC σύστημα στην ανάπτυξη μιας ισχυρής ανοσίας (βλ. παρακάτω), ευνοούν τη διατήρηση της υψηλής νουκλεοτιδικής διαφοροποίησης στις εναπομείνουσες MHC αλληλουχίες. Αντίθετα, οι ηπειρωτικές σαύρες της *L. trilineata*, χαρακτηρίστηκαν από ένα σημαντικά μεγαλύτερο βαθμό πολυμορφισμού, εξαιτίας των περισσότερων και πιο πολύπλοκων διαειδικών αλληλεπιδράσεων (Westerdahl και συν. 2000). Τέλος, όσον αφορά τη σύγκριση ανάμεσα στα δύο είδη *Lacerta*, φαίνεται ότι η μεγαλύτερη γεωγραφική κατανομή της *L. viridis*, θέτει τις βάσεις για έναν υψηλό βαθμό προσαρμογής και διαφοροποίησης του είδους (Miller και συν. 2001, Richardson & Westerdahl 2003), οδηγώντας σε αύξηση της γενετικής ποικιλότητας των MHC μορίων τάξης I (Eizaguirre και συν. 2012b, Nadachowska-Brzyska και συν. 2012).

4.4.2. Περί ανοσολογικής απόκρισης

Η σύγκριση της απόδοσης της κυτταρομεσολαβούμενης ανοσολογικής απόκρισης, μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών του είδους *L. trilineata*, εμφάνισε σημαντικές αποκλίσεις ως προς τη στρατηγική άμυνας, που ακολουθείται από τις σαύρες που διαβιούν σε διαφορετικά περιβάλλοντα, ενώ επιβεβαιώθηκαν οι σημαντικές επιπτώσεις που έχουν οι ανθρώπινες παρεμβάσεις στο περιβάλλον για την αρμοστικότητα και τη φυσική κατάσταση των ζώων. Επιπλέον, θα πρέπει να αναφερθεί ότι η συσχέτιση του βαθμού πολυμορφισμού και της απόδοσης της κυτταρικής ανοσίας, απέδειξε τη σημαντική δράση των πιέσεων επιλογής στη διαμόρφωση των χαρακτήρων αυτών, γεγονός που περιγράφεται για πρώτη φορά σε σαύρες.

Παρά το γεγονός ότι ο οργανισμός μελέτης ενσωματώνει ένα βασικό χαρακτηριστικό, το οποίο θεωρητικά θα μπορούσε να επιβεβαιώσει τη θεωρία του Νησιωτικού Συνδρόμου στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, τα αποτελέσματά μας φαίνεται να υποστηρίζουν μερικώς την επίδραση του νησιωτισμού στην εν λόγω λειτουργία. Συγκεκριμένα, αν και οι νησιωτικοί πληθυσμοί της *L. trilineata* χαρακτηρίζονται από μικρότερη γενετική ποικιλότητα στα MHC μόρια, σε σύγκριση με

τους ηπειρωτικούς, τα επίπεδα κυτταρικής ανοσίας δεν φάνηκαν να διαφέρουν μεταξύ των σαυρών από τα νησιά και εκείνων της χέρσου. Το γεγονός αυτό (όπως θα αναλυθεί λεπτομερώς στη συνέχεια) υποστηρίζει τον καθοριστικό ρόλο της επικρατούσας πίεσης επιλογής στη διατήρηση των υψηλών επιπέδων κυτταρικής ανοσίας (Niskanen και συν. 2014). Ωστόσο, ο έλεγχος της στρατηγικής άμυνας που έχουν υιοθετήσει οι σαύρες έδειξε σημαντικές αποκλίσεις μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών, με τις νησιωτικές σαύρες να χαρακτηρίζονται από μικρότερη ανοχή στην αύξηση του παρασιτικού φορτίου, δηλαδή αύξηση του αριθμού των παρασίτων επιφέρει ταχύτερη μείωση της ισχύος της κυτταρικής ανοσίας σε εκείνες, σε σύγκριση με τις σαύρες της χέρσου. Πέραν της διαφοροποίησης αυτής δεν φάνηκε να υποστηρίζεται οποιαδήποτε επιπλέον επίδραση, αφενός του νησιωτισμού (μειωμένες διαειδικές αλληλεπιδράσεις, θερμικό προφίλ, κλπ.) και, αφετέρου, του φαινοτύπου του ζώου (χρώμα λαιμού και κατάσταση ουράς) στη λειτουργία της κυτταρομεσολαβούμενης ανοσολογικής απόκρισης στο είδος *L. trilineata*.

Η σύγκριση των επιπέδων διέγερσης των T λεμφοκυττάρων και της έντασης του παρασιτικού φορτίου έδειξε ότι οι αποκλίσεις που παρατηρήθηκαν, μεταξύ των έξι πληθυσμών μελέτης, μπορούν να αποδοθούν στις ανθρώπινες παρεμβάσεις και στις επιπτώσεις που εκείνες προκαλούν στο περιβάλλον διαβίωσης των ζώων. Ως εκ τούτου, σαύρες που διαβιούν σε περιοχές που υπόκεινται σε καθεστώς προστασίας και διαχείρισης, δηλαδή σε περιοχές με μικρότερη αφθονία και ποικιλότητα παρασίτων, όπως είναι εκείνες της Άνδρου και των Ιωαννίνων, επιτυγχάνουν αυξημένη κυτταρομεσολαβούμενη ανοσολογική απόκριση και έχουν μειωμένο παρασιτικό φορτίο (Amo και συν. 2006, Pafilis και συν. 2013).

4.4.2.1. Γενετική ποικιλότητα, παρασιτικό φορτίο και κυτταρική ανοσία

Είναι πλέον γνωστό ότι, ο βαθμός πολυμορφισμού της πολυγονιδιακής οικογένειας του MHC σε ένα ζώο, διαμορφώνεται, μέσω της ανταγωνιστικής συνεξέλιξης, από τα επίπεδα παρασιτισμού και την ποικιλότητα των παθογόνων μικροοργανισμών που προσβάλλουν το συγκεκριμένο ζώο στο περιβάλλον στο οποίο διαβιοί (Bonneaud και συν. 2004a, Radwan και συν. 2010, Wegner και συν. 2003a). Επομένως, γίνεται σαφές ότι η απόδοση του ανοσοποιητικού συστήματος, καθώς και η ευαισθησία του ξενιστή σε παράσιτα, καθορίζονται σε μεγάλο βαθμό από τη γενετική ποικιλότητα και τον απλότυπο των MHC μορίων (Bonneaud και συν. 2005, Hill και συν. 1991, Langefors και συν. 1998, Meyer & Thomson 2001).

Στην περίπτωση της *L. trilineata*, βρέθηκε ότι οι ηπειρωτικοί πληθυσμοί του είδους παρουσιάζουν μεγαλύτερη γενετική ποικιλότητα και εκτεταμένο πολυμορφισμό, σε σύγκριση με τις σαύρες των νησιών. Βέβαια, είναι καλά τεκμηριωμένο ότι μείωση της γενετικής ποικιλότητας, συνεπάγεται και ταυτόχρονη μείωση της απόδοσης της κυτταρικής ανοσίας και, παράλληλα, αύξηση του παρασιτικού φορτίου του ζώου (Hedrick 2002, Miller και συν. 2008). Όσον αφορά τη *L. trilineata* η παραπάνω υπόθεση δε φάνηκε να επιβεβαιώνεται από τα ευρήματά μας, μια και οι σαύρες από τις περιοχές της Μήλου, Σκύρου, Καρδίτσας και Στυμφαλίας, καθώς και οι σαύρες από τα Ιωάννινα και την Άνδρο, παρουσιάζουν, αντίστοιχα, παρόμοια διέγερση στα T λεμφοκύτταρα και παραπλήσιο παρασιτικό φορτίο, ανεξαρτήτως της γενετικής ποικιλότητας των MHC μορίων.

Η έλλειψη συμφωνίας μεταξύ της τελευταίας υπόθεσης και των αποτελεσμάτων της παρούσας έρευνας, θα πρέπει να αναζητηθεί στα χαρακτηριστικά που παρουσιάζουν οι εναπομείνουσες MHC αλληλουχίες στις σαύρες της *L. trilineata* με μειωμένο βαθμό πολυμορφισμού. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε ότι σαύρες με σημαντικά μικρότερο αριθμό MHC αλληλουχιών, όπως είναι εκείνες των περιοχών της Άνδρου και της Μήλου, παρουσιάζουν εξαιρετικά μεγάλη νουκλεοτιδική διαφοροποίηση/ποικιλότητα στις αλληλουχίες των MHC μορίων τους, η οποία είναι συγκρίσιμη με εκείνη των πληθυσμών της *L. trilineata* από τη χέρσο (πίνακας 4.2 και εικόνα 4.6). Άμεση συνέπεια της αύξησης της νουκλεοτιδικής διαφοροποίησης των MHC μορίων είναι η διατήρηση της κυτταρικής ανοσίας σε υψηλά επίπεδα και, παράλληλα, η μείωση του παρασιτικού φορτίου (Hughes & Yeager 1998a). Βέβαια, η αποσαφήνιση της σχέσης του βαθμού πολυμορφισμού και της κυτταρομεσολαβούμενης ανοσολογικής απόκρισης στη *L. trilineata* δεν είναι τόσο απλή όσο, ίσως, φαντάζει.

Η σχέση μεταξύ της γενετικής ποικιλότητας/βαθμού πολυμορφισμού του MHC με την κυτταρική ανοσία, έχει απασχολήσει πληθώρα ερευνητών τα τελευταία χρόνια (Boer & Perelson 1993, Nowak και συν. 1992, Perelson & Oster 1979, Woelfling και συν. 2009). Οι εξελικτικοί μηχανισμοί οι οποίοι φαίνεται να μπορούν να ερμηνεύσουν καλύτερα τη σχέση αυτή είναι: (α) η διαφοροποιούσα πίεση επιλογής, μέσω της συνεξέλιξης (Penn και συν. 2002) και (β) η σταθεροποιούσα πίεση επιλογής (Kroemer & Martínez 1992). Όσον αφορά τη *L. trilineata*, ο μεγάλος αριθμός αλληλουχιών που βρέθηκε, για τα εζώνια 2 & 3, στα άτομα των πληθυσμών της, επιτρέπει την εξέταση και των δύο παραπάνω υποθέσεων, και ιδιαίτερα εκείνη της σταθεροποιούσας επιλογής (μέσω του ελέγχου της απόδοσης της κυτταρομεσολαβούμενης ανοσολογικής απόκρισης), η οποία υποστηρίζει ότι η φυσική επιλογή ευνοεί τις ενδιάμεσες και όχι τις ακραίες τιμές MHC πολυμορφισμού σε ένα ζώο

(optimality hypothesis) (Woelfing και συν. 2009). Συγκεκριμένα, στην περίπτωση της *L. trilineata*, βρήκαμε ότι ο μέγιστος αριθμός αλληλουχιών, για τα εξώνια 2 & 3, που καταγράφηκε σε ένα άτομο, ήταν 13. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει την παρουσία τουλάχιστον 7 εκφραζόμενων MHC γενετικών τόπων, το οποίο σε συνδυασμό με την τρέχουσα βιβλιογραφία, επιβεβαιώνει τον ιδιαίτερα εκτεταμένο πολυμορφισμό στα MHC μόρια τάξης I που παρουσιάζουν οι φυσικοί πληθυσμοί της *L. trilineata*, σε σύγκριση με άλλα taxa [π.χ., ευρωπαϊκός βίσων, *Bison bonasus*: 7 MHC αλληλουχίες (Babik και συν. 2012), πικουίνιοι των Galápagos, *Spheniscus mendiculus*: 3 MHC αλληλουχίες (Bollmer και συν. 2007), τρίτωνες *Lissotriton* spp.: 6 MHC αλληλουχίες (Nadachowska-Brzyska και συν. 2012), μεταναστευτικά πουλιά, *Acrocephalus arundinaceus* και *Phylloscopus trochilus*: 15-21 MHC αλληλουχίες (Westerdahl και συν. 2000)].

Προηγούμενες μελέτες έχουν αποδείξει ότι η σχέση μεταξύ MHC πολυμορφισμού και αντίστασης ή ανθεκτικότητας του ξενιστή σε παράσιτα, δεν ακολουθεί ένα γενικευμένο πρότυπο, αλλά μπορεί να διαφέρει ανάμεσα σε διαφορετικά taxa ή πληθυσμούς ενός είδους. Η αιτία της διαφοροποίησης αυτής θα πρέπει να αναζητηθεί στα σημαντικά προβλήματα, που μπορεί να προκαλέσει ένα έντονα διαφοροποιημένο MHC σύστημα (Boer & Perelson 1993, Nowak και συν. 1992, Perelson & Oster 1979). Είναι πλέον καλά τεκμηριωμένο, ότι αύξηση της ετεροζυγωτίας των MHC μορίων μπορεί να οδηγήσει σε μεγαλύτερη ποικιλία αναγνώρισης παθογόνων μικροοργανισμών, και επομένως, σε καλύτερη απόδοση της κυτταρομεσολαβούμενης ανοσολογικής απόκρισης (Doherty & Zinkernagel 1975, Penn και συν. 2002). Σε ορισμένες περιπτώσεις ωστόσο, αυτός ο εκτεταμένος πολυμορφισμός της πολυγονιδιακής οικογένειας του MHC, μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη αυτοάνοσων νοσημάτων (Boer & Perelson 1993). Το τελευταίο φαινόμενο, γνωρίζουμε πλέον ότι, οφείλεται στην αδυναμία του ζώου να εξαλείψει από το ρεπερτόριο του εκείνα τα περιφερειακά T λεμφοκύτταρα τα οποία δύνανται να αντιδρούν με εαυτά πεπτίδια (Vidovic & Matzinger 1988), επιφέροντας ελάττωση της αρμοστικότητας και της φυσικής κατάστασης του ζώου (Nowak και συν. 1992, Woelfing και συν. 2009). Με άλλα λόγια, οδηγεί στο ακριβώς αντίθετο αποτέλεσμα από το επιδιωκόμενο. Επομένως, ένα αρκετά διαφοροποιημένο MHC σύστημα, που επιτρέπει την πρόσδεση πολλών διαφορετικών πεπτιδίων, ευνοείται μόνο όταν το κόστος του υπερκαλύπτεται από τα οφέλη του (Boer & Perelson 1993). Βέβαια, μια τόσο μεγάλη διαφοροποίηση, συνήθως, συνοδεύεται από αρνητική επιλογή στη συχνότητα εμφάνισης ορισμένων αλληλομόρφων, περιορίζοντας το ρεπερτόριο των περιφερειακών T λεμφοκυττάρων (Kloch και συν. 2010, Råberg και συν. 1998, Wegner και συν. 2003a).

Η πλειονότητα των μέχρι σήμερα εμπειρικών μελετών, έχει αποτύχει να επιβεβαιώσει τη δράση της σταθεροποιούσας επιλογής, στον πολυμορφισμό του MHC, υποστηρίζοντας μια μάλλον γραμμική θετική συσχέτιση, μεταξύ των επιπέδων ετεροζυγωτίας του MHC και της ανοσολογικής απόκρισης (Alcaide και συν. 2010, Bonneaud και συν. 2004a, Dionne και συν. 2007, Goüy De Bellocq και συν. 2008, Radwan και συν. 2012). Παρ' όλα αυτά, σε αντίθεση με τις τελευταίες δημοσιεύσεις, στην παρούσα μελέτη αποδείχθηκε ότι οι σαύρες του είδους *L. trilineata* με ενδιάμεσο αριθμό MHC αλληλουχιών (5 - 8) παρουσιάζουν μεγαλύτερη κυτταρομεσολαβούμενη ανοσολογική απόκριση και μειωμένο παρασιτικό φορτίο. Αντίθετα, οι ακραίες τιμές MHC πολυμορφισμού (2 - 4 και 9 - 11) φάνηκε να μη ευνοούνται από τη φυσική πίεση επιλογής, καθώς τα άτομα εκείνα παρουσίασαν μειωμένη φυσική κατάσταση¹ (εικόνα 4.15 Α και 4.15 Β) και υψηλό παρασιτικό φορτίο (εικόνα 4.15 Γ-ΣΤ). Το τελευταίο συμπέρασμα ενισχύεται περαιτέρω, εάν αναλογιστούμε ότι από το σύνολο των ατόμων που συλλέχθηκαν στο πεδίο (103 σαύρες), η συχνότητα σύλληψης-εμφάνισης σαυρών με ενδιάμεσο βαθμό πολυμορφισμού προσεγγίζει το 73% (δηλαδή 75 σαύρες), ενώ μόλις το 27% (28 σαύρες) είχε ακραίες τιμές MHC πολυμορφισμού.

Η μη γραμμικότητα της σχέσης αυτής, έχει αποδειχθεί και παλαιότερα σε τέσσερις ακόμη εμπειρικές μελέτες φυσικών πληθυσμών, που αφορούν το ψάρι *Gasterosteus aculeatus* (sticklebacks) (Wegner και συν. 2003a), το οικιακό σπουργίτι *Passer domesticus* (Bonneaud και συν. 2004a), το φίδι *Liasis fuscus* (water python) (Madsen & Ujvari 2006) και το τρωκτικό *Myodes glareolus* (bank voles, τρωκτικά) (Kloch και συν. 2010). Αν και οι τελευταίες έρευνες εξέτασαν την επίδραση του αριθμού των MHC αλληλουχιών τάξης Ι ή ΙΙ σε σχέση με συγκεκριμένα στελέχη παθογόνων μικροοργανισμών και όχι στο σύνολο του παρασιτικού φορτίου, η παρούσα μελέτη αποτελεί την πρώτη απόδειξη για τη δράση της σταθεροποιούσας επιλογής στη διαμόρφωση του πολυμορφισμού του MHC, καθώς και την επίδραση αυτής στη φυσική κατάσταση και στα επίπεδα παρασιτισμού σε σαύρες.

Σε αντίθεση με προηγούμενες μελέτες, δεν αποδείχθηκε η παρουσία κάποιας συγκεκριμένης αλληλουχίας ή ενός συνδυασμού αλληλουχιών, είτε για το εξώνιο 2 είτε για το εξώνιο 3, σχετίζεται με τα αυξημένα επίπεδα ανοσολογικής απόκρισης και το μειωμένο παρασιτικό φορτίο, όπως πρότινος έχει αναφερθεί για άλλα taxa (Bonneaud και συν. 2006b, Bonneaud και συν. 2005, Kloch και συν. 2010, Westerdahl και συν. 2013). Μια

¹ Φυσική κατάσταση: Η χρήση του όρου αυτού στο παρόν κείμενο, αποσκοπεί στην αναφορά της γενικότερης υγείας του ζώου και, συνεπακόλουθα, στο πάχος του οιδήματος που καταγράφηκε ως απόκριση στη χορήγηση της ΡΗΑ. Με βάση τα όσα περιγράφηκαν στην παράγραφο 4.2.2.5.2, η τεχνική της ενέσεως ΡΗΑ δεν είναι ειδική για τη μελέτη της κυτταρομεσολαβούμενης ανοσολογικής απόκρισης του ζώου, μια και, ύστερα από τη χορήγηση της, επιστρατεύεται στην περιοχή πληθώρα κυτταρικών τύπων, ενώ ενεργοποιούνται διαφορετικά σκέλη της ανοσίας του ζώου (Martin και συν. 2006, Smits και συν. 1999).

πιθανή εξήγηση θα μπορούσε να είναι η μεγάλη νουκλεοτιδική διαφοροποίηση των αλληλουχιών των *εξωνίων 2 & 3*, που παρατηρήθηκε μεταξύ των έξι πληθυσμών μελέτης και το σχετικά μικρό μέγεθος δείγματος, στοιχεία που δεν επέτρεψαν τον έλεγχο της παραπάνω υπόθεσης.

4.4.2.2. Παρασιτικό φορτίο, φαινότυπος και κυτταρική ανοσία

Τα παράσιτα, εξ ορισμού, απομυζούν πόρους και ενέργεια από τον ξενιστή τους. Συνεπώς, οι σαύρες, όπως και κάθε άλλος οργανισμός, που φέρει αυξημένο αριθμό παρασίτων, αναμένεται να έχουν λιγότερα αποθέματα ενέργειας, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε μείωση της απόδοσης των φυσιολογικών τους λειτουργιών και, επομένως, της ανοσολογικής τους απόκρισης, ενώ ακόμη μπορεί να επιφέρει και αλλαγή στη συμπεριφοράς του ζώου (Amo και συν. 2004, Lee και συν. 2006, Lindström και συν. 2004, Main & Bull 2000, Vaclav και συν. 2007).

Η υπόθεση αυτή βρίσκεται σε συμφωνία με τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, όπου αύξηση του παρασιτικού φορτίου, επιφέρει παράλληλα και μείωση του πολλαπλασιασμού των T λεμφοκυττάρων, με άλλα λόγια της κυτταρικής ανοσίας. Από τα ευρήματα φαίνεται ότι εκείνος ο παράγοντας που ευθύνεται για την αύξηση και/ή μείωση του παρασιτικού φορτίου, δεν είναι οι ιδιάζουσες περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν στα νησιά, άλλα οι ανθρώπινες παρεμβάσεις στο περιβάλλον. Συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε ότι στην περίπτωση της *L. trilineata* οι σαύρες που προέρχονται από περιοχές που υπόκεινται σε καθεστώς προστασίας (NATURA 2000), όπως είναι η Άνδρος και τα Ιωάννινα, (εικόνα 4.3), εμφανίζουν πρώτον, μικρότερο ποσοστό προσβολής από ενδο- και αιμο- παράσιτα (~38%, εικόνα 4.11 και πίνακας 4.4), δεύτερον, μειωμένο παρασιτικό φορτίο (~2 παράσιτα ανά άτομο, εικόνα 4.10 Δ-Ε και πίνακας 4.4) και τρίτον, υψηλή φυσική κατάσταση ή αλλιώς κυτταρική ανοσία (πάχος οιδήματος: ~0,58 και S.I.: ~ 3,1, εικόνα 4.12). Αντίθετα, οι σαύρες εκείνες που προέρχονται από περιοχές με έντονη την ανθρώπινη παρέμβαση, δηλαδή της Μήλου, της Σκύρου, της Στυμφαλίας και της Καρδίτσας, παρουσιάζουν σημαντικά αυξημένα ποσοστά προσβολής από παράσιτα (~65%, εικόνα 4.11 και πίνακας 4.4), αυξημένο παρασιτικό φορτίο (~6 παράσιτα ανά άτομο, εικόνα 4.10 Δ-Ε και πίνακας 4.4) και μειωμένη κυτταρομεσολαβούμενη ανοσολογική απόκριση (πάχος οιδήματος: ~0,41 και S.I.: ~ 2,2, εικόνα 4.12).

Προηγούμενες μελέτες έχουν αποδείξει, ότι η εντατική βόσκηση και τα υψηλά επίπεδα τουρισμού σε μια περιοχή, μπορούν να οδηγήσουν σε ευρείας κλίμακας αλλαγές

στο οικοσύστημα, όπως είναι η μείωση της τροφικής διαθεσιμότητας (Woodcock και συν. 2005), η μεταβολή της βλάστησης (Pettigrew & Bull 2011, Snogerup & Snogerup 2004) και του θερμικού περιβάλλοντος (Vitt και συν. 1998), καθώς και αύξηση της ποικιλότητας και της αφθονίας των παρασίτων (Amo και συν. 2006, Pafilis και συν. 2013). Τέτοιου είδους αλλαγές στο ενδιαίτημα διαβίωσης, σε ορισμένες περιπτώσεις, έχουν ως αποτέλεσμα τη μεταβολή (βραχυπρόθεσμη ή μακροπρόθεσμη) της αρμοστικότητας των ζώων στο περιβάλλον (Amo και συν. 2006) και την αύξηση του παρασιτικού τους φορτίου (Amo και συν. 2006, Bize και συν. 2008, Pafilis και συν. 2013).

Σε αντίθεση με τις τελευταίες εργασίες, στην παρούσα μελέτη η σχέση της απόδοσης της κυτταρικής ανοσίας με το παρασιτικό φορτίο, εμφανίζεται περισσότερο πολύπλοκη (Marsh 1996), παρουσιάζοντας δύο διαφορετικές όψεις, μια για τα εξω- και μια για τα ενδο- παράσιτα. Όσον αφορά την πρώτη περίπτωση, των εξωπαρασίτων, διαπιστώθηκε ότι το πάχος του οιδήματος, ή αλλιώς τα επίπεδα κυτταρικής ανοσίας, στη *L. trilineata*, ακολουθούν μια αρνητική εκθετική συσχέτιση με την αύξηση του εξω-παρασιτικού φορτίου. Φαίνεται, δηλαδή, ότι μικρή αύξηση των εξωπαρασίτων δεν επιφέρει καμία σημαντική μεταβολή στη φυσική κατάσταση του ζώου. Παρ' όλα αυτά, η συνεχιζόμενη αύξηση των πρώτων έχει ως αποτέλεσμα την ταχύτατη μείωση της κυτταρικής ανοσίας (εικόνα 4.13 A). Συνεπώς, μπορούμε να υποθέσουμε ότι υπάρχει ένα ανώτατο κατώφλι/όριο για τον αριθμό των εξωπαρασίτων, πάνω από το οποίο τα ζώα δεν μπορούν να ανταπεξέλθουν στο κόστος που προκαλείται από τη λοίμωξη, που προκαλούν τα παράσιτα (Huyghe και συν. 2010). Ανάλογα αποτελέσματα έχουν αναφερθεί και από προηγούμενους ερευνητές, σε μελέτες σε θηλαστικά (*Gerbillus dasyurus*: Khokhlova και συν. 2002, *Glaucomys sabrinus*: Pérez-Orella & Schulte-Hostedde 2005, *Neovison vison*: Schulte-Hostedde & Elsasser 2011), όπου η σχέση παρασιτικού φορτίου και ανοσολογικής απόκρισης φάνηκε να ερμηνεύεται καλύτερα με το εκθετικό μοντέλο παλινδρόμησης. Όσον αφορά τη σχέση του ενδοπαρασιτικού φορτίου και των επιπέδων κυτταρικής ανοσίας, παρατηρήθηκε ότι αύξηση του πρώτου επιφέρει σταθερή γραμμική, αλλά σημαντική μείωση της διέγερσης των T λεμφοκυττάρων και, επομένως, της φυσικής κατάστασης του ζώου (βλ. και Amo και συν. 2004) (εικόνα 4.13 B). Η έλλειψη συνάφειας, που παρατηρήθηκε στη σχέση μεταξύ των εξω- και αιμο- παρασίτων με την απόδοση της κυτταρικής ανοσίας, ενδεχομένως οφείλεται στον τρόπο δράσης και στον κύκλο ζωής των haemogregarines. Οι haemogregarines μεταδίδονται από μολυσμένους κρότωνα ή ακάρεια και δύνανται να παραμένουν στο αίμα για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα, ύστερα από το δήγμα των εξωπαρασίτων. Ως αποτέλεσμα, ζώα μεγαλύτερης ηλικίας τείνουν να έχουν

περισσότερα αιμοπαράσιτα, τα οποία μπορούν είτε να προκαλούν μακροχρόνιες βλάβες στα όργανα και στη φυσιολογική λειτουργία του ξενιστή είτε να παραμένουν ανενεργά (Αμο και συν. 2004, Veiga και συν. 1998). Για το λόγο αυτό, τα αιμοπαράσιτα δεν αποτελούν κατάλληλους δείκτες βραχυπρόθεσμων μεταβολών (Αμο και συν. 2004).

Τέλος, όσον αφορά την επίδραση του χρώματος του λαιμού και της κατάστασης της ουράς στα επίπεδα διέγερσης των Τ λεμφοκυττάρων, τα αποτελέσματά μας δεν φάνηκαν να επιβεβαιώνουν εκείνα προηγούμενων ερευνών, σε σαύρες. Για την κατανόηση της απόδοσης του ανοσοποιητικού συστήματος και της αντίστασης του ξενιστή σε παράσιτα, έχουν προταθεί αρκετές υποθέσεις με επικρατέστερη εκείνης των Folstad & Karter (1992), η οποία αναπτύχθηκε προκειμένου να εξηγήσει τα αποτελέσματα των ερευνών των Zahavi (1975) και Hamilton & Zuk (1982). Η υπόθεση αυτή υποστηρίζει ότι η απόδοση του ανοσοποιητικού συστήματος και η ενέργεια που δαπανάται για την ανάπτυξη των δευτερογενών σεξουαλικών χαρακτήρων, όπως είναι το χρώμα του λαιμού στις σαύρες (Lopez και συν. 2004, Oppliger και συν. 2004), είναι αρνητικά συσχετιζόμενες. Συνεπώς, αρσενικά άτομα που επιδεικνύουν ισχυρά σεξουαλικά δευτερογενή γνωρίσματα παρουσιάζουν μειωμένη ανοσολογική απόκριση και μεγαλύτερη ευαισθησία σε λοιμογόνους μικροοργανισμούς (immunocompetence handicap hypothesis, ICHH) (για ανασκόπηση βλ. Roberts και συν. 2004). Ο λόγος αυτής της καταστολής, στη δράση του ανοσοποιητικού συστήματος, έγκειται στην αυξημένη παραγωγή τεστοστερόνης (Owen-Ashley και συν. 2004, Saino και συν. 1995).

Αν και η ICHH έχει αποδειχθεί πολλές φορές στο παρελθόν σε ερπετά (Huyghe και συν. 2010, Kuo και συν. 2013, Olsson και συν. 2004, Oppliger και συν. 2004, Roberts και συν. 2004, Roberts και συν. 2007, Sacchi και συν. 2007, Slos και συν. 2009), στην περίπτωση της *L. trilineata* δεν φάνηκε να επιβεβαιώνεται. Συγκεκριμένα, παρατηρήσαμε ότι τόσο τα άτομα με έντονο κίτρινο όσο και εκείνα με άσπρο χρώμα λαιμού, εμφανίζουν παραπλήσιο πάχος οιδήματος και, συνεπώς, παρόμοια αποτελεσματικότητα στην κυτταρική ανοσία. Σε συμφωνία με τα ευρήματα αυτά, είναι οι μελέτες των Owen-Ashley και συν. (2004) και Saino και συν. (1995) σε πτηνά, οι οποίοι απέδειξαν ότι στα είδη *Melospiza melodia* (song birds) και *Hirundo rustica* (barn swallow), αύξηση των επιπέδων ανδρογόνων οδηγεί σε σημαντική ελάττωση της χημικής και όχι της κυτταρικής ανοσίας. Άλλες μελέτες σε ερπετά και πτηνά υποστηρίζουν, ότι τα έντονα δευτερογενή σεξουαλικά γνωρίσματα ορισμένων αρσενικών ατόμων, αποτελούν ένδειξη της καλής φυσικής τους κατάστασης. Δηλαδή, σαύρες με έντονο χρώμα λαιμού επιτυγχάνουν αυξημένη δερματική αντίδραση υπερευαισθησίας και έχουν μικρότερο παρασιτικό φορτίο (Bordes και συν.

2012, Ezenwa και συν. 2012, Marsh 1996, Sacchi και συν. 2007), υπόθεση η οποία είναι επίσης αντιφατική με την ICHH. Η έλλειψη συνάφειας όλων των παραπάνω ερευνών με την ICHH, δικαιολογείται από την πολυπλοκότητα που εμφανίζει το ανοσοποιητικό σύστημα, εξαιτίας των αλληλεπιδράσεων αυτού με τα υπόλοιπα συστήματα του οργανισμού, όπως είναι το νευρικό και το ενδοκρινικό (Marsh 1996). Το τελευταίο γεγονός, ενδέχεται να αποτρέπει την εφαρμογή ενός γενικευμένου μοντέλου, με αποτέλεσμα η ICHH να τίθεται υπό αμφισβήτηση (Hasselquist και συν. 1999).

Όσον αφορά τον τελευταίο χαρακτήρα που εξετάστηκε, την κατάσταση της ουράς (άθικτη ή πλήρως αναγεννημένη ή κομμένη), η σύγκριση μεταξύ ατόμων με κομμένη και άθικτη ουρά δεν έδειξε την παραμικρή διαφορά, ούτε στα επίπεδα διέγερσης των T λεμφοκυττάρων ($0,41 \pm 0,27$ έναντι $0,45 \pm 0,012$, αντίστοιχα), αλλά ούτε και στην ένταση του παρασιτικού φορτίου. Η αυτοτομία, που έχουν αναπτύξει οι σαύρες της οικογένειας Lacertidae, θεωρείται ως ο πλέον αποτελεσματικός τρόπος αποφυγής της θήρευσης, (Arnold 1988, Dial & Fitzpatrick 1981, Pafilis και συν. 2005). Στις περισσότερες σαύρες, η ουρά, πέρα από την λειτουργία της αυτοτομίας, παίζει καθοριστικό ρόλο και στην επιβίωση του ατόμου, μια και αποτελεί ένα πολύτιμο εργαλείο, που λειτουργεί ως αντίβαρο όταν το ζώο αναπτύσσει μεγάλες ταχύτητες (Arnold 1984, McElroy & Bergmann 2013) ή αναρριχάται (Gillis και συν. 2013, Sinervo & Losos 1991), ενώ είναι σημαντική στο ζευγάρισμα (Fox & Rostker 1982, Martín & Salvador 1995) και αποτελεί τη βασικότερη αποθήκη λιπιδίων και ενέργειας (Bauwens 1981, Dial & Fitzpatrick 1981). Ως αποτέλεσμα, η αυτοτομία συνοδεύεται από ενεργειακό κόστος, πρώτον, λόγω της απώλειας των αποθεμάτων λιπιδίων από το ζώο και, δεύτερον, εξαιτίας των ενεργειακών δαπανών που απαιτούνται για την αναγέννησή της (Bateman & Fleming 2009). Και οι δύο τελευταίοι παράγοντες, ωστόσο, περιορίζουν με τη σειρά τους τα ενεργειακά αποθέματα άλλων φυσιολογικών λειτουργιών (θεωρία των trades-off), όπως του μηχανισμού άμυνας (Bateman & Fleming 2009, Kuo και συν. 2013). Έτσι, άτομα με κομμένη ουρά συχνά τείνουν να εμφανίζουν αύξηση του παρασιτικού τους φορτίου και μείωση της ανοσολογικής τους απόκρισης, συγκρινόμενα με εκείνα που φέρουν άθικτη ή πλήρως αναγεννημένη ουρά (Kuo και συν. 2013, Oppliger & Clobert 1997, Slos και συν. 2009). Στην περίπτωση της *L. trilineata* το μικρό μέγεθος δείγματος των ατόμων με κομμένη ουρά και οι μεγάλες τυπικές αποκλίσεις που καταγράφηκαν στα επίπεδα διέγερσης των T λεμφοκυττάρων ($0,41 \pm 0,27$) δεν επέτρεψαν να εντοπιστούν τέτοιου είδους διαφορές. Βέβαια, δεδομένου ότι το είδος αυτό έχει αναπτύξει διαφορετικές συμπεριφορές άμυνας, όπως είναι η απόδραση (δηλαδή τα άτομα αναπτύσσουν μεγάλες ταχύτητες όταν βρεθούν

αντιμέτωπα με κάποιο θηρευτή) (Clark & Clark 1973) - η ικανότητα αυτοτομίας της *L. trilineata* εξασθενεί με την ανάπτυξη του ζώου (Pafilis & Valakos 2008) -, πιθανόν η *L. trilineata* δεν αποτελεί κατάλληλο οργανισμό μελέτης για τον έλεγχο της παραπάνω υπόθεσης.

4.4.2.3. Επίδραση των οικολογικών προσαρμογών των νησιωτικών σαυρών της *L. trilineata* στη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος

Η σύγκριση της σχέσης της απόδοσης της κυτταρικής ανοσίας με την αύξηση του παρασιτικού φορτίου, μεταξύ των πληθυσμών της *L. trilineata*, έδειξε ότι οι ηπειρωτικές σαύρες έχουν υιοθετήσει μια διαφορετική στρατηγική άμυνας, σε σύγκριση με τις νησιωτικές, παρουσιάζοντας μεγαλύτερη ανοχή στην αύξηση του παρασιτικού φορτίου. Το εύρημα αυτό, είναι σε συμφωνία με την τρίτη υπόθεση εργασίας. Φαίνεται, δηλαδή, ότι οι ηπειρωτικές σαύρες είναι σε θέση να διατηρούν, αφενός, τη φυσική τους κατάσταση και, αφετέρου, το ανοσοποιητικό τους σύστημα, σε υψηλά επίπεδα, παρά την παράλληλη αύξηση του αριθμού των παρασίτων (μικρότερη κλίση της καμπύλης παλινδρόμησης, **εικόνα 4.13 Γ-ΣΤ**). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον ωστόσο, παρουσιάζει το γεγονός ότι ενώ οι σαύρες, που προέρχονται από το ίδιο περιβάλλον (νησιωτικό ή ηπειρωτικό), διαφέρουν μεταξύ τους όσον αφορά την απόδοση της κυτταρομεσολαβούμενης ανοσολογικής απόκρισης και την ένταση του παρασιτικού φορτίου, δεν παρατηρήθηκε οποιαδήποτε απόκλιση στο βαθμό ανοχής τους σε παράσιτα (**εικόνα 4.13 Γ και Δ**). Φαίνεται δηλαδή, ότι ο μηχανισμός άμυνας, που έχουν υιοθετήσει οι σαύρες, δεν σχετίζεται με τις ανθρώπινες παρεμβάσεις στο περιβάλλον. Συνεπώς, προτείνουμε ότι οι διαφορές που παρατηρήθηκαν, πρέπει να αποδοθούν στις διαφορετικές βιοτικές και αβιοτικές συνθήκες, που επικρατούν στα οικοσυστήματα των νησιών και της χέρσου.

Η επίδραση του περιβάλλοντος στη λειτουργία του μηχανισμού άμυνας των ζώων, έχει απασχολήσει πληθώρα επιστημόνων τα τελευταία χρόνια (Bordes και συν. 2012, Wikelski και συν. 2004). Ωστόσο ακόμη και σήμερα, οι ενδοειδικές συγκριτικές μελέτες, που αποσκοπούν στην αποσαφήνιση της επίδρασης του νησιωτισμού στην απόδοση του ανοσοποιητικού συστήματος, είναι λίγες, ενώ στο σύνολο τους περιορίζονται σε taxa της ομάδας των πτηνών (Jarvi και συν. 2001, van Riper III & Scott 2001, Wikelski και συν. 2004).

Η ανάπτυξη μιας αποτελεσματικής ανοσολογικής απόκρισης, για την αντιμετώπιση των παθογόνων μικροοργανισμών και τη διατήρηση της φυσικής κατάστασης σε υψηλά

επίπεδα, παρά την αύξηση του παρασιτικού φορτίου, είναι δύο ενεργειακά δαπανηρές διαδικασίες, οι οποίες απαιτούν σημαντικούς ενεργειακούς πόρους (Klasing 1988, Klasing 1998, Lochmiller & Deerenberg 2000). Η μειωμένη ροή ενέργειας και θρεπτικών συστατικών που χαρακτηρίζει τα νησιά (Cooper & Vitt 2002, Pérez-Mellado & Corti 1993) αναγκάζει συχνά τα ζώα να επενδύουν μεγάλο ποσοστό της προσλαμβανόμενης ενέργειας σε περισσότερο ζωτικές ανάγκες του οργανισμού (πχ., η ανάπτυξη, το ζευγάρωμα, η επιβίωση, η αναπαραγωγή, κλπ.) (Kuo και συν. 2013, Sheldon & Verhulst 1996) και συστήματα όπως είναι το ανοσοποιητικό, συνήθως να υπολειτουργούν (Jarvi και συν. 2001, van Riper III & Scott 2001, Wikelski και συν. 2004). Πιθανολογούμε, ότι κάτι ανάλογο συμβαίνει και στην περίπτωση της *L. trilineata*. Συγκεκριμένα, η περιορισμένη τροφική διαθεσιμότητα στα οικοσυστήματα των νησιών του Αιγαίου (Καραμαούνα 1988, Παράσχη 1988), ενδέχεται να έχει αναγκάσει τις σαύρες να κατανείμουν την ενέργεια που προσλαμβάνουν διαφορετικά, σε σύγκριση με εκείνες της χέρσου, αναπτύσσοντας μια λιγότερο ισχυρή ανοσία. Το συμπέρασμα αυτό ενισχύεται, άλλωστε και από τα ευρήματα των αναλύσεων της οικολογίας της διατροφής, όπου παρατηρήσαμε ότι οι σαύρες των νησιών παρουσιάζουν σημαντικά μικρότερο μέσο αριθμό τεμαχίων λείας στους στομάχους, σε σχέση με εκείνες της ηπειρωτικής χώρας (πίνακας 3.5).

Ένας επιπλέον παράγοντας, ο οποίος θα μπορούσε να εξηγήσει τις διαφορές που παρατηρήθηκαν, μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών, είναι πιθανά και το διατροφικό πρότυπο. Προγενέστερες μελέτες σε πτηνά και θηλαστικά (Lochmiller και συν. 1993, Norris & Evans 2000), απέδειξαν ότι η ανάπτυξη και η διατήρηση μιας ισχυρής κυτταρικής ανοσίας επηρεάζεται και από τον τύπο της διαίτας. Έτσι, μια δίαιτα πλούσια σε πρωτεΐνες, συνεπάγεται την ανάπτυξη του σπλήνα και του θύλακα του Fabricius¹ - βασικά όργανα για μια αποτελεσματική κυτταρική ανοσία -, ενώ αντίθετα, μια δίαιτα φτωχή σε πρωτεΐνες μπορεί να οδηγήσει σε ατροφία των λεμφικών οργάνων² (Bell και συν. 1976). Στην περίπτωση της *L. trilineata*, βρέθηκε ότι οι νησιωτικές σαύρες έχουν υιοθετήσει ένα διαφορετικό τύπο διαίτας, σε σύγκριση με τις ηπειρωτικές (εικόνα 3.8), με τις πρώτες να καταναλώνουν σημαντικά αυξημένα ποσοστά φυτικής ύλης, όπως φύλλα και καρπούς.

¹ *Θύλακας του Fabricius (bursa of Fabricius)*: Ο θύλακας του Fabricius έχει βρεθεί στα πτηνά. Έκει μεταναστεύουν προγονικά κύτταρα, προκειμένου να διαφοροποιηθούν και να ωριμάσουν σε κύτταρα, που συνθέτουν και εκκρίνουν τα αντισώματα. Με άλλα λόγια, στο όργανο αυτό λαμβάνει χώρα η οντογένεση των B λεμφοκυττάρων. Αντίθετα, στα θηλαστικά δεν υπάρχει αντίστοιχος θύλακας. Έτσι, αρχικά, η διαφοροποίηση και ωρίμανση των B λεμφοκυττάρων, στην εμβρυϊκή ζωή, πραγματοποιείται στο ήπαρ. Αργότερα, κατά την ανάπτυξη του εμβρύου, αλλά και μετά τη γέννησή του, η διαφοροποίηση και ωρίμανση των B λεμφοκυττάρων γίνεται στο μυελό των οστών (πρωτογενές λεμφικό όργανο).

² *Λεμφικά όργανα*: Το σύνολο των ιστών και οργάνων, που φιλοξενούν τα κύτταρα που συμμετέχουν στην ανοσολογική απόκριση, δηλαδή τα λεμφοκύτταρα, απαρτίζουν το λεμφικό σύστημα. Τα λεμφικά όργανα υποδιαιρούνται σε πρωτογενή (θύμος και μυελός των οστών) και δευτερογενή (λεμφαδένες, σπλήνας, αμυγδαλές και λεμφικά οζίδια). Ο ρόλος των πρωτογενών οργάνων έγκειται στην παραγωγή των ώριμων λεμφοκυττάρων, δηλαδή λεμφοκύτταρα ήδη προγραμματισμένα να εκτελέσουν λειτουργίες, όταν ενεργοποιηθούν από αντιγόνα, και διοχέτευση αυτών στα δευτερογενή λεμφικά όργανα. Στα τελευταία, τα λεμφοκύτταρα ενεργοποιούνται προκειμένου να λάβουν μέρος σε ανοσολογικές αποκρίσεις.

Ωστόσο, μια τέτοια διαίτα είναι φτωχή σε πρωτεΐνες, αλλά πλούσια σε υδατάνθρακες. Αντίθετα, οι σαύρες της χέρσου έχουν υιοθετήσει μια διαίτα, η οποία αποτελείται σχεδόν εξ ολοκλήρου από έντομα, δηλαδή διαίτα μεγάλης περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες (Bell 1990). Συνεπώς, λαμβάνοντας υπ' όψιν τα παραπάνω, υποθέτουμε ότι η σημαντική μείωση που παρατηρήθηκε στα επίπεδα ανοχής της κυτταρικής ανοσίας των νησιωτικών σαυρών, μπορεί, επίσης, να είναι το αποτέλεσμα της διαφοροποίησης του εύρους της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου που παρουσιάζουν οι τελευταίες (Lochmiller & Deerenberg 2000, Lochmiller και συν. 1993, Marsh και συν. 1986).

Βέβαια, πέραν της περιορισμένης τροφικής διαθεσιμότητας των νησιών και της διαφοροποίησης της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου των νησιωτικών σαυρών, η παρατηρούμενη απόκλιση στο βαθμό ανοχής, μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών της *L. trilineata*, θα μπορούσε να οφείλεται και σε άλλους παράγοντες. Οι χαρακτηρες ιστορίας-ζωής, η ανταγωνιστική λειτουργία της χυμικής και της κυτταρικής ανοσίας, η συμπεριφορά, κ.α. - παράγοντες που συχνά αποκλίνουν μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών -, μπορούν επίσης να επηρεάσουν την ανάπτυξη του ανοσοποιητικού συστήματος και, συνεπακόλουθα, την ευαισθησία/ανοχή του ξενιστή σε παθογόνους μικροοργανισμούς (Ardia 2005, Ilmonen και συν. 2003, Manjerovic & Waterman 2012, Norris & Evans 2000). Παρ' όλα αυτά, στα πλαίσια της παρούσας διατριβής δεν κατέστη δυνατόν να μελετηθούν όλες οι πτυχές της βιολογίας της *L. trilineata*.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΓΕΝΙΚΗ ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΝΟΨΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

5.1. ΓΕΝΙΚΗ ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΕΡΩΤΗΜΑΤΑ

Η παρούσα έρευνα αποτελεί μια συγκριτική μελέτη, σε νησιωτικούς και ηπειρωτικούς πληθυσμούς, του είδους σαύρας *Lacerta trilineata* (Sauria: Lacertidae). Σκοπός της είναι η αποσαφήνιση του τρόπου, με τον οποίον οι διαφορετικές πιέσεις επιλογής, που δρουν στα οικοσυστήματα των Μεσογειακών νησιών, σε σύγκριση με εκείνα της χέρσου, έχουν οδηγήσει σε διαφοροποίηση των μορφολογικών, φυσιολογικών και γενετικών χαρακτήρων των πληθυσμών της. Με άλλα λόγια, η παρούσα μελέτη αποσκοπεί στη διερεύνηση των προσαρμογών, σε χαρακτήρες διαφορετικών επιπέδων βιολογικής οργάνωσης, που έχει υιοθετήσει η *L. trilineata* και που της επέτρεψαν να διαμορφώσει το σημερινό πρότυπο κατανομής της (**εικόνα 1.6**, σελ. 21). Βέβαια, σε μια μελέτη που περιλαμβάνει συγκρίσεις μεταξύ πολλών πληθυσμών, απαραίτητη είναι η γνώση των φυλογενετικών σχέσεων των πληθυσμών, που πρόκειται να μελετηθούν (Felsenstein 1985, Garland και συν. 2005, Ridley 1983). Για το λόγο αυτόν κρίθηκε σκόπιμο, πριν από οποιαδήποτε σύγκριση σε μορφολογικό, φυσιολογικό, κλπ. επίπεδο, μεταξύ των πληθυσμών της *L. trilineata*, να επιλυθεί πρώτα η φυλογένεση των ελληνικών πράσινων σαυρών, μια και αυτή δεν ήταν διαθέσιμη.

Από την ανάλυση της φυλογένεσης, προέκυψε ένα φυλογενετικό δέντρο με τέσσερις διακριτούς κλάδους, οι τρεις από τους οποίους αντιστοιχούν σε είδη *Lacerta* που εντοπίζονται στον ελληνικό χώρο (**εικόνα 2.2**, σελ. 47). Ο πρώτος κλάδος περιλαμβάνει την ομάδα της *Lacerta viridis*, με τα είδη *L. viridis* και *L. bilineata*, ο δεύτερος της *Lacerta agilis* περιλαμβάνει το ομώνυμο είδος *L. agilis*, ενώ ο τρίτος της *Lacerta trilineata*, περιλαμβάνει το είδος *L. trilineata*.

Αναφορικά με τον πρώτο κλάδο, της *Lacerta viridis*, τα αποτελέσματά μας επιβεβαιώνουν τα δύο βασικά ευρήματα της έρευνας των Böhme και συν. (2007) που υποστηρίζουν αφενός, την ύπαρξη δύο διακριτών γενεαλογικών γραμμών εντός της *L. viridis*, οι οποίες ταυτίζονται με τα υποείδη *L. v. meridionalis* (κατανέμεται στην βορειοανατολική ηπειρωτική Ελλάδα) και *L. v. guentherpetersi* (κεντρική ηπειρωτική Ελλάδα) και, αφετέρου, επιβεβαιώνεται η κατανομή της *L. bilineata* στον ελλαδικό χώρο, σε περιοχές δυτικά της Οροσειράς της Πίνδου (**εικόνα 2.3**, σελ. 51). Άμεση συνέπεια του τελευταίου είναι η απόρριψη οποιουδήποτε σεναρίου παραφυλίας μεταξύ της *L. viridis* και της *L. bilineata* (Godinho και συν. 2005) (**εικόνα 2.3**, σελ. 51). Η μικρή, όμως, γενετική τους απόσταση (**πίνακας 2.2**, σελ. 48) - σε σύγκριση με εκείνη που έχει καταγραφεί,

αφενός, μεταξύ άλλων ειδών *Lacerta* (βλ. Godinho και συν. 2005 και κεφάλαιο 2) και, αφετέρου, μεταξύ ειδών *Lacertidae* (Harris 2002) -, καθώς και οι μορφολογικές ομοιότητες που εμφανίζουν τα δύο αυτά είδη, μια και είναι ικανά να υβριδίζουν (Ryken 1991b, Ryken 2001), εξακολουθούν να θέτουν υπό αμφισβήτηση την εγκυρότητα της κατάταξής τους ως δύο διακριτά είδη (Arnold 2002a, Godinho και συν. 2005).

Για τον κλάδο της *Lacerta trilineata*, του οποίου το ομώνυμο είδος αποτελεί τον οργανισμό μελέτης της παρούσας διατριβής, τα αποτελέσματά μας είναι σε έλλειψη συμφωνίας με τις μέχρι τώρα φυλογενετικές μελέτες (είτε όσον αφορά την εξελικτική ιστορία του είδους ή τις φυλογενετικές σχέσεις των πληθυσμών του) (Ahmadzadeh και συν. 2013a, Ahmadzadeh και συν. 2013b, Godinho και συν. 2005, Mayer & Beyerlein 2002). Στον κλάδο αυτό μπορούμε να διακρίνουμε δύο βασικά χαρακτηριστικά: Το ένα αφορά την παραφυλετική σχέση της *L. trilineata* με τη *L. pamphylica*, μια και οι πληθυσμοί της πρώτης από τα νησιά Άνδρο και Νάξο εμφανίζονται περισσότερο συγγενικοί με εκείνους της δεύτερης από την νοτιοδυτική Τουρκία (εικόνα 2.3, σελ. 51). Το άλλο χαρακτηριστικό αφορά τις μεγάλες γενετικές αποστάσεις, που καταγράφηκαν μεταξύ ορισμένων πληθυσμών της *L. trilineata* (είναι συγκρίσιμες με εκείνες που έχουν αναφερθεί μεταξύ ειδών *Lacerta*, βλ. Böhme και συν. 2007, Crochet και συν. 2004, Godinho και συν. 2005) και, παράλληλα, τις εξαιρετικά μικρές αποστάσεις μεταξύ μορφολογικά διακριτών υποειδών (παράρτημα I συμπληρωματικών πινάκων, πίνακας Σ2.2, σελ. 334). Έτσι, σε αντίθεση με τα 10 μορφολογικά υποείδη της *L. trilineata*, που αναγνωρίζονται σήμερα, ο κλάδος της *L. trilineata* συγκροτείται από έξι γενεαλογικές γραμμές (I-VI) (εικόνα 2.3, σελ. 51). Μάλιστα, οι γενετικές αποστάσεις δύο εξ αυτών (V, VI), με τις υπόλοιπες γενεαλογικές γραμμές, είναι ιδιαίτερα υψηλές, προσεγγίζοντας εκείνες μεταξύ διαφορετικών ειδών *Lacertidae* (Godinho και συν. 2005, Harris 2002, Poulakakis και συν. 2005c). Όλα τα παραπάνω ευρήματα θέτουν υπό αμφισβήτηση την τρέχουσα ταξινομική κατάσταση του γένους *Lacerta*, τόσο σε επίπεδο ειδών όσο και υποειδών, υπόθεση που έχει επισημανθεί και από προηγούμενους ερευνητές (Ahmadzadeh και συν. 2013b, Schmidtler 1975). Επιπλέον, όσον αφορά τη *L. trilineata*, τίθεται επιπλέον το ερώτημα: Κατά πόσον μπορεί να θεωρείται ένα ενιαίο είδος; Βέβαια, η απάντηση στην τελευταία ερώτηση και, γενικότερα, η ταξινομική κατάσταση των πρασίνων σαυρών, θεωρούμε ότι ξεφεύγει από τους στόχους της παρούσας διατριβής. Ωστόσο, με βάση τα παραπάνω ευρήματα, φαίνεται ότι η ταξινομική αναθεώρηση του γένους αυτού είναι αναγκαία.

Έτσι, με στήριγμα τα αποτελέσματα της φυλογενετικής ανάλυσης, κρίθηκε σκόπιμο για τις μετέπειτα μελέτες συγκριτικής φυσιολογίας, να μη συμπεριληφθεί κανένας πληθυσμός της *L. trilineata* από την Ανατολική Ελλάδα (ανατολικά νησιά του Αιγαίου και Θράκη, γενεαλογικές γραμμές V και VI), μια και η ταξινομική τους κατάσταση είναι, αυτή τη στιγμή, αβέβαιη.

Με βάση το φυλογενετικό δέντρο των ειδών του γένους *Lacerta*, γίνεται σαφές ότι η *L. trilineata*, το πιο πρόσφατα διαφοροποιημένο είδος των πράσινων σαυρών, κατάφερε, μέσα σε σχετικά μικρό χρονικό διάστημα (4 έως 8 εκατομμυρίων ετών), να διαφοροποιηθεί περισσότερο από κάθε άλλο είδος του γένους αυτού (Ahmadzadeh και συν. 2013b, Böhme και συν. 2007, Brückner και συν. 2001, Carranza και συν. 2004, Crochet και συν. 2004, Godinho και συν. 2005, Kalyabina και συν. 2001, Paulo και συν. 2001, Yablokov και συν. 1981). Το συμπέρασμα αυτό αποτυπώνεται στον μεγάλο αριθμό γενεαλογικών γραμμών (σκόπιμα δεν γίνεται αναφορά στον όρο υποείδος, γιατί όπως όπως αποδείχθηκε, η ταξινόμησή τους βάσει μορφολογικών χαρακτήρων είναι υπό αμφισβήτηση, επειδή δεν συνάδει με τα γενετικά δεδομένα) και στη μεγάλη γενετική διαφοροποίηση. Επιπλέον, η μεγάλη πλαστικότητα της *L. trilineata* συνοδεύεται και από μια αντίστοιχα μεγάλη μορφολογική διαφοροποίηση, με αποτέλεσμα η διάκριση των πληθυσμών (εντός και μεταξύ γενεαλογικών γραμμών), με μορφολογικούς χαρακτήρες, να είναι εξαιρετικά δύσκολη έως αδύνατη - αδυναμία που καταγράφεται ακόμη και σε επίπεδο είδους στο γένος *Lacerta* (Arnold 2002b, Mayer & Beyerlein 2002, Rykena και συν. 2002). Έτσι, διαφορετικοί πληθυσμοί εντός της ίδιας γενεαλογικής γραμμής μπορεί να αποκλίνουν σε μεγάλο βαθμό μεταξύ τους, ενώ πληθυσμοί διαφορετικών γενεαλογικών γραμμών να παρουσιάζουν σημαντικές μορφολογικές ομοιότητες. Συνεπώς, το εύλογο ερώτημα που προκύπτει είναι: Ποιος παράγοντας τελικά καθορίζει τη μεγάλη πλαστικότητα που παρουσιάζει η *L. trilineata*, μια και από ότι φαίνεται δεν είναι φυλογενετικά καθοριζόμενη; Επιπλέον, αν στα προηγούμενα προστεθεί και το γεγονός ότι, σε αντίθεση με όλα τα υπόλοιπα είδη των πράσινων σαυρών, η *L. trilineata* έχει εποίκισε με επιτυχία νησιωτικά και ηπειρωτικά οικοσυστήματα (Valakos και συν. 2008), δημιουργείται το ερώτημα: Ποιές προσαρμογές υιοθέτησαν οι νησιωτικοί πληθυσμοί της *L. trilineata*, που τους εξασφάλισαν την επιτυχή εγκαθίδρυσή τους στα ιδιαίτερα οικοσυστήματα των νησιών;

Πριν απαντήσουμε σε αυτά τα ερωτήματα, ας συνοψίσουμε τους παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν τη διασπορά και να διαμορφώσουν το πρότυπο κατανομής των σαυρών. Οι ιδιαιτερότητες των ερπετών, όπως είναι οι σάυρες, κέντρισαν από πολύ νωρίς

το ενδιαφέρον των επιστημόνων (Dawson 1967). Ο εξώθερμος χαρακτήρας τους - εξαρτώνται κυρίως από εξωτερικές πηγές θερμότητας και στρατηγικές συμπεριφοράς για τη ρύθμιση της θερμοκρασίας τους (Bradshaw 1997) -, οι χαμηλοί μεταβολικοί ρυθμοί και οι χαμηλές ενεργειακές απαιτήσεις τους (Pough 1983), καθώς και η ικανότητά τους να απεκκρίνουν τα αζωτούχα παραπροϊόντα της πέψης με τη μορφή ουρικού οξέος (είναι εξαιρετικά αδιάλυτο, περιορίζοντας σημαντικά τις απώλειες νερού) (Minnich 1982), αναδεικνύουν τον ξεχωριστό και σημαντικό ρόλο τους μέσα στα οικοσυστήματα και, παράλληλα, την ισχυρή εξάρτησή τους από το εξωτερικό περιβάλλον. Για τους λόγους αυτούς, οι σαύρες, στις μέρες μας αποτελούν ιδεώδη αντικείμενα για μελέτες περιβαλλοντικής φυσιολογίας, οικολογίας, εξελικτικής βιολογίας και φυλογεωγραφίας (Camargo και συν. 2010).

Ιδιαίτερα, όσον αφορά τον εξώθερμο χαρακτήρα των σαυρών, παρά τα πλεονεκτήματα που μπορεί να προσφέρει, δεν είναι άμοιρος μειονεκτημάτων. Έτσι, οι σαύρες αδυνατούν να εποικίσουν περιοχές με ακραίες κλιματικές συνθήκες (Dawson 1967, Greer 1980, Spellerberg 1973), ενώ η εξάπλωσή (διασπορά) τους και η επιτυχής εγκαθίδρυση των νέων πληθυσμών, προϋποθέτουν την επικράτηση κατάλληλων κλιματικών συνθηκών, τόσο στις οδούς διασποράς όσο και στις περιοχές εποικισμού (π.χ., Ahmadzadeh και συν. 2013a, Angilletta 2009, Evans και συν. 2009). Συνεπώς, γεννάται το ερώτημα: Το σημερινό πρότυπο κατανομής της *L. trilineata* (δηλαδή η κατανομή της σε νησιωτικά και ηπειρωτικά περιβάλλοντα) είναι το αποτέλεσμα οικολογικών προσαρμογών ή καθορίστηκε από τη φυλογένεση (δηλαδή οφείλεται σε ιστορικά αίτια);

Πρόσφατα, οι Ahmadzadeh και συν. (2013a) πρότειναν, ότι οι κλιματικές συνθήκες του παρελθόντος μπορούν αφενός, να ερμηνεύσουν το σημερινό πρότυπο γεωγραφικής κατανομής της *L. trilineata*, στο χώρο της νοτίου Βαλκανικής και, αφετέρου, τις φυλογενετικές σχέσεις των πληθυσμών της. Σύμφωνα με τους παραπάνω ερευνητές η προγονική μορφή της *L. trilineata* ακολούθησε παθητικά τις αλλαγές της θερμοκρασίας του περιβάλλοντος, καθώς επεκτεινόταν από την Ανατολία προς την Βαλκανική χερσόνησο, ενώ πληθυσμοί προσαρμοσμένοι σε διαφορετικά κλιματικά περιβάλλοντα αναγκάζονταν να καταλαμβάνουν διαφορετικές περιοχές. Συνεπώς, απομακρυσμένοι, εξελικτικά, πληθυσμοί καταλαμβάνουν διαφορετικά θερμικά περιβάλλοντα. Βασιζόμενοι στην άποψη αυτή, φαίνεται ότι οι φυσιολογικές ή μορφολογικές προσαρμογές, που έχουν υιοθετήσει οι πληθυσμοί της *L. trilineata*, είναι φυλογενετικά καθοριζόμενες.

Με την ανάλυση της θερμικής φυσιολογίας και την παράλληλη χρήση δεδομένων της φυλογένεσης, προέκυψε ότι η παραπάνω υπόθεση είναι ανακριβής. Στην

πραγματικότητα, φαίνεται ότι, η *L. trilineata* προσαρμόστηκε στο εκάστοτε θερμικό περιβάλλον των περιοχών διαβίωσης, κατά τα τελευταία κλαδογενετικά συμβάντα, δηλαδή σε επίπεδο πληθυσμών και ανεξαρτήτως των φυλογενετικών τους σχέσεων, μεταβάλλοντας τη θερμική της φυσιολογία («μεταβαλλόμενη» άποψη για την εξέλιξη της θερμικής, Hertz & Huey 1981) (εικόνα 3.7, σελ. 116). Έτσι, το πιο ευνοϊκό, από άποψη θερμικής ποιότητας, περιβάλλον των νησιών, ώθησε τις σαύρες των διαφορετικών γενεαλογικών γραμμών να υιοθετήσουν μια λιγότερο αποτελεσματική θερμορρυθμιστική συμπεριφορά και να επιλέξουν χαμηλότερες θερμοκρασίες σώματος (εικόνα 3.7, σελ. 116), με άμεση συνέπεια το γεγονός ότι οι σαύρες της *L. trilineata*, από τα νησιά, μπορούν να διαθέτουν περισσότερο χρόνο στην κάλυψη άλλων αναγκών τους, όπως είναι η αναπαραγωγή, η αναζήτηση τροφής, κ.α. (Case 1982, Díaz 1994, Huey & Slatkin 1976). Αντίθετα, οι σαύρες της χέρσου ανέπτυξαν ένα διαφορετικό πρότυπο θερμορρύθμισης, θερμορρυθμίζοντας αποτελεσματικότερα, εξαιτίας του περισσότερο απαιτητικού, από άποψη θερμικής ποιότητας, περιβάλλοντος που αντιμετωπίζουν (ακραίες θερμοκρασίες κατά τη διάρκεια της ημέρας) (Bartholomew 1982, Blouin-Demers & Nadeau 2005, Blouin-Demers & Weatherhead 2002).

Η έλλειψη συμφωνίας της δικής μας μελέτης και εκείνης των Ahmadzadeh και συν. (2013a), οφείλεται αφενός, στην αρχική παραδοχή, που έκαναν οι πρώτοι ερευνητές, ότι η διαφοροποίηση εντός του κλάδου της *L. trilineata* ξεκίνησε πριν 3,2 εκατ. χρόνια και, αφετέρου, στα κλιματικά δεδομένα της παρελθοντικής και σύγχρονης περιόδου, που χρησιμοποίησαν, ώστε να ερμηνεύσουν τη φυλογεωγραφία του είδους αυτού, τα οποία στηρίχθηκαν στην αρχική, λαθεμένη παραδοχή (βλ. και Ahmadzadeh και συν. 2013b). Άμεση συνέπεια των παραπάνω, ήταν τα εσφαλμένα συμπεράσματα στα οποία κατέληξαν. Άλλα ας δούμε πως ακριβώς διαμορφώθηκε η σημερινή κατανομή της *L. trilineata* στο χώρο της Ελλάδας (κεφάλαιο 2).

Η διαφοροποίηση των ελληνικών πράσινων σαυρών ξεκίνησε 13,9 εκατ. χρόνια πριν (Mya), κατά τη διάρκεια της Μέσης Μειοκαίνου και οδήγησε στο διαχωρισμό της ομάδας *viridis/bilineata* από τους κλάδους των *L. agilis* και *L. trilineata* (εικόνα 2.2, σελ. 47). Το επόμενο μεγάλο κλαδογενετικό συμβάν, που έλαβε χώρα στην Κατώτερη Μειόκαινο εποχή (11,65 Mya, εικόνα 2.2, σελ. 47), οδήγησε στο διαχωρισμό των κλάδων της *L. agilis* και *L. trilineata* (Kalyabina και συν. 2001, Yablokov και συν. 1981).

Συγκεκριμένα, όσον αφορά τη *L. trilineata*, οι έξι γενεαλογικές γραμμές του κλάδου της διαφοροποιήθηκαν σε χρονικό διάστημα 8,63 έως 4,67 εκατ. χρόνια πριν από σήμερα, δηλαδή στα τέλη της Μειοκαίνου προς τις αρχές της Πλειοκαίνου εποχής (εικόνα 2.3, σελ.

51). Σε αντίθεση με τον κλάδο της *L. viridis*, που προήλθε και διαφοροποιήθηκε στη περιοχή των Βαλκανίων, ο κλάδος της *L. trilineata* προήλθε και διαφοροποιήθηκε στη δυτική Ανατολία (Ahmadzadeh και συν. 2013b). Παρ' όλο που συμφωνούμε με τα αποτελέσματα των Ahmadzadeh και συν. (2013b), όσον αφορά την καταγωγή του κλάδου της *L. trilineata*, τα ευρήματά μας αποκάλυψαν ένα τελείως διαφορετικό σενάριο ειδογένεσης, που βρίσκεται σε συμφωνία με την παλαιογεωγραφία της περιοχής του Αιγαίου (βλ. **εικόνα 2.1**, σελ. 31). Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι η προγονική μορφή του taxon αυτού εποίκισε τον ελληνικό χώρο πριν τον πλήρη σχηματισμό της μεσοαιγαιακής αύλακος (~9 Mya) (βλ. **εικόνα 2.5**, σελ. 63). Η ολοκλήρωση της διάνοιξης της επέτρεψε τη μετέπειτα ροή μεταξύ πληθυσμών της ανατολικής και δυτικής Ελλάδας, οδηγώντας στη δημιουργία των δύο διακριτών ομάδων γενεαλογικών γραμμών (I, II, III, IV και V, VI), όπως τις αναγνωρίζουμε σήμερα. Εντός της κάθε ομάδας ορισμένα άλλα βικαριανιστικά γεγονότα, όπως είναι η απομόνωση της Κρήτης από την υπόλοιπη ηπειρωτική Ελλάδα (5 – 5,5 Mya) και ο διαχωρισμός της Πελοποννήσου από την κεντρική ηπειρωτική Ελλάδα (3,5 – 5,3 Mya), η αύξηση της στάθμης της θάλασσας με το πέρας της τελευταίας παγετώδους περιόδου στο Ολόκαινο (η περιοχή του Αιγαίου αποκτά σταδιακά τη σημερινή της γεωγραφία, δηλαδή τα νησιά του Ανατολικού Αιγαίου αποκόπτονται από τη Μικρά Ασία, τα νησιά των Κυκλάδων απομονώνονται το ένα από το άλλο και αντίστοιχα τα νησιά του Αργοσαρωνικού από την Πελοπόννησο και την Αττική), καθώς και γεγονότα διασποράς, όπως είναι η μετακίνηση ατόμων από την ανατολική Ελλάδα στις ανατολικές Κυκλάδες και από την Κρήτη στην ανατολική Πελοπόννησο, συνέβαλαν στο σημερινό πρότυπο κατανομής των γενεαλογικών γραμμών της *L. trilineata*.

Συνοψίζοντας λοιπόν και λαμβάνοντας υπ' όψιν τα ευρήματα της θερμικής βιολογίας και των φυλογενετικών αναλύσεων, φαίνεται ότι, στην περίπτωση της *L. trilineata*, οι διαφορετικές πιέσεις επιλογής που δρουν στα οικοσυστήματα των νησιών και της χέρσου ευνόησαν τις διακριτές γενεαλογικές γραμμές των πληθυσμών από τα νησιά (Σκύρος και Άνδρος, γενεαλογικές γραμμές I και IV, αντίστοιχα) και την ξηρά (Στυμφαλία και Καρδίτσα, γενεαλογικές γραμμές I και II, αντίστοιχα) να αναπτύξουν, ξεχωριστά η μία από την άλλη, παρόμοιες προσαρμογές στη θερμική τους φυσιολογία. Με άλλα λόγια, οι προσαρμογές που έχει υιοθετήσει η *L. trilineata* στα διαφορετικά θερμικά περιβάλλοντα, είναι ανεξάρτητες των φυλογενετικών σχέσεων των πληθυσμών. Συνεπώς, υποθέτουμε ότι η πλαστικότητα που παρουσιάζει το είδος αυτό στη θερμική του φυσιολογία, του επέτρεψε να εποικίσει επιτυχώς και να εγκαθιδρύσει νέους πληθυσμούς στα νησιωτικά οικοσυστήματα. Αξίζει να ειπωθεί, ότι η μεταβαλλόμενη άποψη της θερμικής φυσιολογίας

της *L. trilineata* έρχεται σε αντίθεση με το σύνολο σχεδόν των μέχρι σήμερα ερευνών σε Lacertidae, οι οποίες υποστηρίζουν τη συντηρητικότητα του χαρακτήρα αυτού (π.χ., Carretero και συν. 2005, Gvozdik & Castilla 2001, Van Damme και συν. 1990a, Van Damme και συν. 1990b).

Το περιβάλλον των νησιών, πέραν της θερμικής του ποιότητας, αποκλίνει, με ποικίλους άλλους τρόπους από εκείνο των ηπειρωτικών μαζών. Σύμφωνα με τη θεωρία της νησιωτικής βιογεωγραφίας, τα νησιά διαθέτουν λιγότερα είδη, οι οικολογικές σχέσεις (θηρευτή/θηράματος, ξενιστή/παρασίτου, ανταγωνιστικά είδη κ.α.), που αναπτύσσονται, είναι μειωμένες (MacArthur & Wilson 1967), ενώ χαρακτηρίζονται και από μικρότερη ροή ενέργειας και θρεπτικών συστατικών (Brown & Pérez-Mellado 1994, Raia και συν. 2003). Το ερώτημα, επομένως που παραμένει, είναι, αν η εγκαθίδρυση των νέων πληθυσμών της *L. trilineata* στα νησιά συνοδεύτηκε και από διαφοροποιήσεις σε επίπεδο φυσιολογικών, μορφολογικών και οικολογικών προσαρμογών; Δηλαδή, αν οι πληθυσμοί της *L. trilineata* που κατανέμονται στη χέρσο διαφέρουν σε πτυχές της οικολογίας και φυσιολογίας τους, σε σχέση με τους πληθυσμούς που κατανέμονται στη νησιωτική Ελλάδα. Στην ενότητα των οικολογικών και φυσιολογικών προσαρμογών (λειτουργία της πέψης, μορφολογία κεφαλής και δύναμη δήγματος) μελετήθηκαν διάφοροι πληθυσμοί της *L. trilineata*, οι οποίοι κατανέμονται σε ένα νοητό άξονα βορρά προς νότο στον ελλαδικό χώρο εξάπλωσης του είδους. Οι συγκριτικές αυτές μελέτες πραγματοποιήθηκαν έχοντας λάβει υπ' όψιν τα προβλήματα και τους περιορισμούς που μπορούν να προκύψουν από τη σύγκριση δύο πληθυσμών (Garland & Adolph 1994a).

Από τα αποτελέσματα της συγκριτικής μελέτης της βιολογίας της *L. trilineata*, φαίνεται ότι οι νησιωτικοί και ηπειρωτικοί πληθυσμοί της, διακρίνονται μεταξύ τους όχι μόνο σε επίπεδο οικολογίας (θερμορρυθμιστική συμπεριφορά, συμπεριφορά θήρευσης και διατροφικό πρότυπο), αλλά και σε επίπεδο μορφολογικών (μορφολογία της κεφαλής, σχηματισμός ειλεοτυφλικών βαλβίδων στον γαστρεντερικό σωλήνα) και φυσιολογικών/ανοσολογικών (πεπτική αποδοτικότητα, κυτταρική ανοσία) προσαρμογών. Οι προσαρμογές αυτές φαίνεται να αναπτύχθηκαν ανεξάρτητα από την φυλογενετική ιστορία των πληθυσμών της *L. trilineata*.

Η διαίτα της *L. trilineata*, εμφανίζει πολλές ομοιότητες με εκείνη που έχει καταγραφεί για την πλειονότητα των Ευρωπαϊκών, μεγάλου μεγέθους σώματος, σαυρών (π.χ., Angelici και συν. 1997, Gvoždík & Boukal 1998, Llorente & Pérez-Mellado 1988, Molloy και συν. 2012). Επιγραμματικά, η τροφή του είδους αυτού αποτελείται από ποικιλία εντόμων, τόσο ιπταμένων (όπως Λεπιδόπτερα, Δίπτερα και Υμενόπτερα, κ.α.)

όσο και βαδιστικών (όπως προνύμφες εντόμων, Φαλάγγια, Ισόποδα, κ.α.) (εικόνα 3.8, σελ. 118), με τις ομάδες των Κολεοπτέρων, Ορθοπτέρων, Ισοπόδων και Υμενοπτέρων να κυριαρχούν (πίνακας 3.5, σελ. 123). Ο σημαντικά μεγάλος αριθμός κρυπτικών και νυκτόβιων ομάδων λείας, συνηγορεί στο ότι η *L. trilineata* παρουσιάζει μια ενεργητική θηρευτική συμπεριφορά με γενικευμένη δίαιτα και μεγάλο εύρος στην τροφική διάσταση του οικολογικού θώκου (Maragou και συν. 1997, Maragou και συν. 1996), ενώ η αυξημένη παρουσία ιπτάμενων και υγρόφιλων taxa, επιβεβαιώνει τον αναρριχητικό και υγρόφιλο χαρακτήρα του είδους αυτού (Arnold 1987, Valakos και συν. 2008). Βέβαια, η διατροφή της *L. trilineata* (στις αναλύσεις συμπεριελήφθησαν 8 νησιωτικοί και 4 ηπειρωτικοί πληθυσμοί) επηρεάζεται από την εποχή (άνοιξη, καλοκαίρι, φθινόπωρο), το στάδιο ανάπτυξης (ανήλικα, ενήλικα), το φύλο και το περιβάλλον (νησιωτικό ή ηπειρωτικό).

Αναλυτικότερα, όσον αφορά τον πρώτο παράγοντα, την εποχή, οι διαφοροποιήσεις που παρατηρήθηκαν στην ταξινομική σύνθεση της δίαιτας, μεταξύ των τριών εποχών, υποστηρίζουν τον ευκαιριακό χαρακτήρα θήρευσης της *L. trilineata*. Ως εκ τούτου, η διακύμανση και οι αλλαγές στη σύνθεση της δίαιτας, που βρέθηκαν, είναι το αποτέλεσμα της εποχικότητας της σύνθεσης των κοινοτήτων αρthropόδων, που παρατηρείται στα Μεσογειακού τύπου οικοσυστήματα της Ελλάδας (Βαλάκος 1990, Καραμαούνα 1988). Όσον αφορά τις διαφοροποιήσεις που βρέθηκαν μεταξύ ηλικιακών κλάσεων (εικόνα 3.8, σελ. 118), υποδηλώνουν τις σημαντικές οντογενετικές αλλαγές, που συντελούνται στο είδος αυτό, κατά τη διάρκεια της ανάπτυξής του, σε χαρακτήρες που συμμετέχουν στη σύλληψη τροφής (Utošenić και συν. 2013) και στη διεργασία της πέψης, οι οποίες επηρεάζουν και καθορίζουν την επιλογή λείας (Arnold 1993). Έτσι, υποθέτουμε ότι η περιορισμένη χωρητικότητα του γαστρεντερικού σωλήνα των ανήλικων σαυρών, η ικανότητα των ενήλικων να δαγκώνουν ισχυρότερα και ο τρόπος με τον οποίον οι ενήλικες σαύρες εκμεταλλεύονται το φυσικό τους περιβάλλον, μπορούν να ερμηνεύσουν τις παρατηρούμενες αναπτυξιακές διαφορές στη δίαιτα μεταξύ ενήλικων και ανήλικων ατόμων (Arnold 1987, Herrel και συν. 1999, Pough 1973, Pough 1983). Τέλος, τα αποτελέσματα των αναλύσεων της δίαιτας, μεταξύ των φύλων, δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές στην τροφική διάσταση του οικολογικού θώκου (εικόνα 3.8, σελ. 118), με μοναδική εξαίρεση τις λειτουργικές ιδιότητες της λείας. Φαίνεται, δηλαδή, ότι οι αρσενικές σαύρες, και των δύο περιβαλλόντων, καταναλώνουν μεγαλύτερες ποσότητες σκληρής λείας (όπως Ισόποδα, Κολεόπτερα και Γαστερόποδα) από ό,τι οι θηλυκές. Αντίθετα, τα θηλυκά άτομα περιλαμβάνουν στη δίαιτά τους μεγαλύτερες ποσότητες μαλακών και χερσαίων ασπονδύλων (όπως προνύμφες εντόμων, Αράχνες και Δίπτερα).

Δεδομένου ότι η ικανότητα των ζώων να τρέφονται με σκληρή λεία, απαιτεί μεγαλύτερη ισχύ δήγματος (Herrel και συν. 1999), η οποία επηρεάζεται από το μέγεθος και το σχήμα της κεφαλής (Schaerlaeken και συν. 2012, Verwaijen και συν. 2002), η μεγαλύτερη δύναμη δήγματος και η μεγαλύτερη και πιο εύρωστη κεφαλή που καταγράφηκε στα αρσενικά άτομα, μπορούν να ερμηνεύσουν την παρατηρούμενη διαφορά. Η διαφοροποίηση αυτή επιβεβαιώνει την επίδραση της φυλετικής πίεσης επιλογής στη διαμόρφωση των μορφολογικών και λειτουργικών χαρακτήρων της κεφαλής. Ωστόσο, το ερώτημα που παραμένει είναι: Τι γίνεται με τις σαύρες από τα διαφορετικά περιβάλλοντα, όσον αφορά την οικολογία της διατροφής τους;

Η ζωή στα νησιά, πέραν του πιο ευνοϊκού, από άποψη κλιματικών συνθηκών, περιβάλλοντος, συνοδεύεται και από ορισμένα μειονεκτήματα. Ένα από αυτά είναι η μειωμένη ροή ενέργειας, δηλαδή η περιορισμένη τροφική διαθεσιμότητα (Brown & Pérez-Mellado 1994, Raia και συν. 2003). Σε συμφωνία με την υπόθεση αυτή βρέθηκε ότι ο μέσος αριθμός τεμαχίων λείας στο στομάχι των νησιωτικών σαυρών είναι σημαντικά μικρότερος στις σαύρες από τα νησιά, σε σύγκριση με εκείνες της χέρσου (πίνακας 3.5, σελ. 123). Συνεπώς, γίνεται σαφές ότι προκειμένου οι νησιωτικές σαύρες να καταφέρουν να υποστηρίξουν το εξαιρετικά μεγάλο μέγεθος σώματος που διαθέτουν - δεν παρατηρήθηκε καμία διαφοροποίηση στο μέγεθος σώματος μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών της *L. trilineata* (νανισμός, π.χ. βλ. Meiri και συν. 2008) -, θα πρέπει να είναι σε θέση να προσαρμοστούν, εκμεταλλευόμενες όλους τους διαθέσιμους πόρους τροφής στο φυσικό περιβάλλον των νησιών (Schoener 1971, Stephens & Krebs 1986). Πράγματι, τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι οι νησιωτικές σαύρες, μέσω μιας σειράς φυσιολογικών, μορφολογικών, λειτουργικών και συμπεριφορικών προσαρμογών, έχουν καταφέρει να διευρύνουν την τροφική διάσταση του οικολογικού θώκου με δύο τρόπους: Πρώτον, μεταβάλλοντας τη μορφολογία της κεφαλής και τη δύναμη δήγματος και, δεύτερον, τροποποιώντας την πεπτική διαδικασία.

Όσον αφορά τη διαίτα, φαίνεται ότι οι νησιωτικές σαύρες, σε αντίθεση με τις ηπειρωτικές, που παρουσιάζουν μια ευκαιριακή θηρευτική συμπεριφορά, έχουν υιοθετήσει μια συμπεριφορά που συμφωνεί με τη θεωρία της θήρευσης (foraging theory). Σύμφωνα με την τελευταία, σε περιβάλλοντα όπου η διαθεσιμότητα τροφής είναι περιορισμένη, όπως εκείνα των νησιών, τα ζώα επιτυγχάνουν μια ισορροπημένη διαίτα καταναλώνοντας έστω και ελάχιστες ποσότητες συγκεκριμένων ομάδων λείας, μειώνοντας, παράλληλα, τη διατροφική τους εξειδίκευση (Schoener 1971, Stephens & Krebs 1986). Μάλιστα, στην περίπτωση της *L. trilineata*, πέραν της αύξησης του εύρους της τροφικής διάστασης του

οικολογικού θώκου, που παρατηρήθηκε στις νησιώτικες σαύρες, βρέθηκε ότι οι τελευταίες καταναλώνουν και σημαντικές ποσότητες φυτικής ύλης. Όπως η πρώτη έτσι και η δεύτερη στρατηγική αποτελούν προσαρμογές στο φτωχότερο από άποψη τροφικής διαθεσιμότητας, περιβάλλον των νησιών (Pérez-Mellado & Corti 1993, Van Damme 1999) και στις αυξημένες ενεργειακές απαιτήσεις της *L. trilineata* (λόγω μεγέθους) (Pafilis και συν. 2009b).

Βέβαια, για κάθε ζώο, βασικά κριτήρια για την επιλογή μιας λείας είναι αφενός, η δυνατότητα σύλληψης και χειρισμού της (συμμετέχουν κεφαλικοί χαρακτήρες) και, αφετέρου η εξασφάλιση σημαντικού καθαρού ενεργειακού κέρδους από την πέψη της (Pough & Andrews 1985, Stephens & Krebs 1986). Πρέπει δηλαδή, η ενέργεια, η οποία κερδίζεται από την πέψη της τροφής, να υπερτερεί κάθε στιγμή εκείνης που απαιτείται για την κάλυψη των τρεχουσών αναγκών της (θετικό ενεργειακό ισοζύγιο) (Cambell & Norman 1998). Ιδιαίτερα όσον αφορά τις σαύρες, οι οποίες καταναλώνουν την τροφή τους χωρίς να την τεμαχίζουν, γίνεται σαφές ότι οι διαιτητικές τους συνήθειες είναι άρρηκτα συνδεδεμένες με πλήθος φυσιολογικών διεργασιών και μορφολογικών χαρακτήρων (Chivers & Hladik 1980, Kaliontzopoulou και συν. 2012, Pafilis και συν. 2007, Skoczylas 1978, Vervust και συν. 2010). Το ερώτημα επομένως που παραμένει είναι: Τι προσαρμογές ανέπτυξαν οι νησιωτικές σαύρες της *L. trilineata*, που τους επέτρεψαν να διαφοροποιήσουν το διατροφικό τους πρότυπο και, επομένως, να εποικίσουν με επιτυχία τα οικοσυστήματα των νησιών;

Προκειμένου να προσεγγίσουμε το ερώτημα αυτό, όπως ήδη αναφέρθηκε, επιχειρήθηκε η μελέτη της μορφολογίας της κεφαλής (στις αναλύσεις συμπεριελήφθησαν 3 νησιωτικοί και 3 ηπειρωτικοί πληθυσμοί) και της πεπτικής αποδοτικότητας (2 νησιωτικοί και 2 ηπειρωτικοί πληθυσμοί). Η ανάλυση των δεδομένων, έδειξε ότι οι χαρακτήρες αυτοί μπορούν να ερμηνεύσουν ένα σημαντικό μέρος της διαφοροποίησης της τροφικής οικολογίας, που παρατηρείται μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών σαυρών.

Πιο αναλυτικά, η εξέταση της μορφολογίας της κεφαλής και της δύναμης δήγματος έδειξε ότι το σχήμα της κεφαλής και, εν μέρει, η ισχύς δήγματος διαφοροποιούνται έντονα μεταξύ νησιωτικών (Άνδρος, Σκύρος, Κρήτη) και ηπειρωτικών (Ηπειρος, Θεσσαλία, Πελοπόννησος) πληθυσμών της *L. trilineata*, με τις σαύρες από τα νησιά να έχουν περισσότερο επίμηκες και λιγότερο πεπλατυσμένες κεφαλές (εικόνα 3.12, σελ. 131), και να επιτυγχάνουν μεγαλύτερη δύναμη δήγματος, σε σύγκριση με τις ηπειρωτικές (Herrel και συν. 1999). Υποθέτουμε ότι η αύξηση στην ισχύ δήγματος επιτρέπει στις νησιωτικές σαύρες να διευρύνουν το εύρος της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου,

καταναλώνοντας την πλειονότητα των διαθέσιμων πόρων τροφής στο περιβάλλον, ακόμη και φυτικής προέλευσης ύλη (Edwards και συν. 2013, Herrel και συν. 1998).

Όσον αφορά το δεύτερο μέγεθος που εξετάστηκε, η πεπτική αποδοτικότητα, βρέθηκε ότι οι σαύρες από τα νησιά Άνδρο και Σκύρο αποκλίνουν από τις ηπειρωτικές (Καρδίτσα και Στυμφαλία), παρουσιάζοντας σημαντική αύξηση του μήκους του γαστρεντερικού σωλήνα, της τάξης του 23%, αύξηση της συχνότητας εμφάνισης τυφλικών βαλβίδων (62% έναντι 19%), καθυστερημένο χρόνο διέλευσης τροφής (GPT, 26% - 17%) και, τελικά, αύξηση της πεπτικής αποδοτικότητας (ADE) για τα τρία οργανικά μακρομόρια (υδατάνθρακες, πρωτεΐνες και λίπη, ~15%) (εικόνες 3.14 και 3.15, σελ. 135 και 138, αντίστοιχα). Όπως και προηγουμένως, οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στη λειτουργία και μορφολογία του γαστρεντερικού σωλήνα, θεωρούμε ότι αποτελούν προσαρμογές των σαυρών στους περιορισμένους πόρους τροφής των νησιωτικών οικοσυστημάτων (Alexander και συν. 2001). Ο Sibly (1981) υποστήριξε, ότι όταν η διαθεσιμότητα τροφής είναι αυξημένη, τα ζώα τείνουν να μεγιστοποιούν την απόδοση της πέψης, αλλά, ταυτόχρονα, να μειώνουν τον χρόνο διέλευσης της τροφής, με άλλα λόγια, μειώνουν την πεπτική τους αποδοτικότητα. Ωστόσο, σε σχέση με τον χρόνο, παρουσιάζουν μεγαλύτερο ρυθμό απορρόφησης ενέργειας και εξασφαλίζουν μεγαλύτερο κέρδος ενέργειας από την καταναλωμένη τροφή. Αντίθετα, σε οικοσυστήματα όπου η διαθεσιμότητα τροφής είναι περιορισμένη, όπως σε εκείνα των νησιών (Cooper Jr & Vitt 2002), τα ζώα υποχρεούνται να αυξήσουν την πεπτική αποδοτικότητα και να μειώσουν τον χρόνο διέλευσης της τροφής. Με αυτόν τον τρόπο, μεγιστοποιείται η ενέργεια που προσλαμβάνεται από κάθε μονάδα μάζας τροφής, αλλά μειώνεται ο ρυθμός πέψης σε σχέση με τον χρόνο. Με βάση τα τελευταία στοιχεία, μπορούμε να συμπεράνουμε, ότι οι διαφορετικοί πληθυσμοί της *L. trilineata* έχουν υιοθετήσει διαφορετικές στρατηγικές πέψης, ως αποτέλεσμα των διαφορετικών βιοτικών και αβιοτικών περιβαλλοντικών συνθηκών, που αντιμετωπίζουν.

Παρ' όλα αυτά, η στρατηγική της παρατεταμένης κράτησης της τροφής στο γαστρεντερικό σωλήνα από τις νησιωτικές σαύρες, φαίνεται να ευνοείται και από άλλες συνθήκες, που επικρατούν στα περιβάλλοντα των νησιών, όπως είναι η μειωμένη θηρευτική πίεση (Pafilis και συν. 2008, Pérez-Mellado και συν. 1997) και η ρυθμιστική επίδραση της θάλασσας στην ανάπτυξη πιο ήπιων κλιματικών συνθηκών (Schwaner 1989). Φαίνεται, δηλαδή, ότι η απουσία βασικών θηρευτών από τα νησιά Άνδρο και Σκύρο - τα φίδια *Malpolon monspesulanus* και *Vipera amodytes*, αντίστοιχα, η κόκκινη αλεπού, το αγριογούρουνο και ο σκίουρος, που αποτελούν θηρευτές της *L. trilineata* (Koshev 2010,

Valakos και συν. 2008), απουσιάζουν -, αλλά και οι χαμηλότερες θερμοκρασίες σώματος που επιλέγουν οι νησιωτικές σαύρες, ευνοούν μια στρατηγική παρατεταμένης πέψης (Pafilis και συν. 2007, Sibly 1981, Zimmerman & Tracy 1989).

Οι ιδιαίτερες επομένως συνθήκες που επικρατούν στα μοναδικά ενδιαίτηματα των νησιών, σε σύγκριση με εκείνα της χέρσου, ασκούν μια σαφώς διακριτή επιρροή στους οργανισμούς (Blumstein & Daniel 2005, Pafilis και συν. 2011), μεταβάλλοντας πλήθος φυσιολογικών, λειτουργικών και μορφολογικών χαρακτήρων. Ως εκ τούτου, διακριτοί πληθυσμοί/ταxa μπορούν να αποκλίνουν μεταξύ τους σε ποικίλες παραμέτρους, όπως είναι η πεπτική αποδοτικότητα και η μορφολογία της κεφαλής. Το ερώτημα ωστόσο που παραμένει είναι, αν οι διαφορές αυτές οφείλονται στο γεγονός ότι τα ζώα ζουν σε διαφορετικές περιοχές και κατά συνέπεια έρχονται σε επαφή με διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες ή απλά στο ότι πρόκειται για διαφορετικούς πληθυσμούς και, επομένως, είναι λογικό να διαφέρουν μεταξύ τους. Προς απάντηση του ερωτήματος αυτού, επαναλήφθηκαν όλες οι αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν στην διατριβή, αφού ελήφθησαν υπ' όψιν και οι φυλογενετικές σχέσεις των πληθυσμών. Όπως και στην περίπτωση της θερμικής φυσιολογίας, έτσι και τώρα παρατηρήθηκε ότι οι διαφορές και/ή σχέσεις μεταξύ των πληθυσμών, συνέχισαν να είναι εμφανείς. Το γεγονός ότι οι αποκλίσεις που παρατηρούνται, μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών της *L. trilineata*, ερμηνεύονται από τις διαφορές των βιοτικών και αβιοτικών συνθηκών των περιοχών δειγματοληψίας, ήτοι τις διαφορές μεταξύ νησιών και χέρσου, και όχι από τις φυλογενετικές σχέσεις των πληθυσμών, δείχνει ότι τα πρότυπα μεταβολής των παραμέτρων, που μελετήθηκαν, αποτελούν προσαρμοστικούς χαρακτήρες, ως απόκριση στις πιέσεις επιλογής στο περιβάλλον διαβίωσης των ζώων.

Με βάση τα παραπάνω, είναι πλέον σαφές ότι οι νησιωτικές σαύρες του είδους *L. trilineata* έχουν προσαρμοστεί στο ευνοϊκότερο θερμικό περιβάλλον των νησιών και στη μειωμένη διαθεσιμότητα τροφής των οικοσυστημάτων του, ανταποκρινόμενες στις διαφορετικές πιέσεις φυσικής επιλογής, μεταβάλλοντας πληθώρα φυσιολογικών και μορφολογικών χαρακτήρων, αλλά και στοιχεία της συμπεριφοράς τους. Ωστόσο, παρά τις προσαρμογές που έχουν υιοθετήσει οι νησιωτικές σαύρες, είναι γνωστό ότι η ικανότητα ενός ζώου να εποίκισι με επιτυχία ένα νέο περιβάλλον, καθορίζεται, σε μεγάλο βαθμό, και από τη δυνατότητά του να αντιμετωπίσει τους παθογόνους μικροοργανισμούς που ενυπάρχουν σε εκείνο (Amo και συν. 2007, Møller και συν. 2004). Έτσι ξενιστές, που αδυνατούν να αναπτύξουν μια ισχυρή ανοσία, είναι περισσότερο ευαίσθητοι σε πιθανές μελλοντικές μολύνσεις, δημιουργώντας σημαντικά προβλήματα στην αρμοστικότητά τους

στο περιβάλλον (Schmid-Hempel 2003, Sheldon & Verhulst 1996). Για τον παραπάνω λόγο, στην τελευταία ενότητα της διατριβής, κρίθηκε απαραίτητη η μελέτη της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος της *L. trilineata* (στις αναλύσεις συμπεριελήφθησαν 3 ηπειρωτικοί και 3 νησιωτικοί πληθυσμοί).

Τα λιγότερα είδη που φιλοξενούν τα νησιωτικά οικοσυστήματα και οι περιορισμένες βιοτικές αλληλεπιδράσεις που συχνά αναπτύσσονται μεταξύ τους (Whittaker & Fernández-Palacios 2007), σε συνδυασμό με τους μειωμένους ενεργειακούς πόρους των νησιών (Cooper Jr & Vitt 2002), την συχνή αλλαγή του προτύπου διαίτας (Lochmiller και συν. 1993) των νησιωτικών σαυρών, καθώς και την αύξηση της ενδογαμίας και της γενετικής παρέκκλισης (Reed και συν. 2003, Schrey και συν. 2011), μπορούν να οδηγήσουν σε διαφοροποίηση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος (Lazzaro & Little 2009, Lindström και συν. 2004, Puertollano και συν. 2011, Richardson & Westerdahl 2003, Wikelski και συν. 2004). Βέβαια, επειδή μεταβολή στη λειτουργία του μηχανισμού άμυνας συνήθως συνεπάγεται και αλλαγές σε μοριακό επίπεδο (Klein 1986, Morrison και συν. 1986), για τους στόχους της μελέτης αυτής επιχειρήθηκε επιπλέον η μελέτη της γενετικής ποικιλότητας του MHC τάξης I.

Από τα αποτελέσματα της διατριβής αυτής, φαίνεται ότι παρά το γεγονός ότι ο οργανισμός μελέτης ενσωματώνει ένα βασικό χαρακτηριστικό που θεωρητικά, θα μπορούσε να επιβεβαιώσει τη θεωρία του Νησιωτικού Συνδρόμου στη λειτουργία και απόδοση του ανοσοποιητικού συστήματος, τα αποτελέσματά μας δεν υποστηρίζουν την επίδραση του νησιωτισμού σε αυτήν. Η ανάπτυξη γενετικών φραγμών στα νησιά εμποδίζει τη γονιδιακή ροή και ενισχύει φαινόμενα τυχαίας γενετικής παρέκκλισης, που έχουν ως αποτέλεσμα τη μείωση της γενετικής ποικιλότητας των MHC μορίων στους νησιωτικούς πληθυσμούς της *L. trilineata*, σε σχέση με εκείνους της ηπειρωτικής χώρας (εικόνα 4.6, σελ. 214). Ωστόσο, είναι καλά τεκμηριωμένο ότι μια τέτοια αλλαγή συνεπάγεται συνήθως και ταυτόχρονη μείωση της απόδοσης της κυτταρικής ανοσίας και, παράλληλα, αύξηση του παρασιτικού φορτίου του ζώου (Hedrick 2002, Miller και συν. 2008). Όσον αφορά τη *L. trilineata* η παραπάνω υπόθεση δε φάνηκε να επιβεβαιώνεται, καθώς οι σαύρες των διαφορετικών πληθυσμών παρουσιάζουν παρόμοια διέγερση στα T λεμφοκύτταρα και παραπλήσιο παρασιτικό φορτίο (εικόνες 4.11 και 4.12, σελ. 222 και 224, αντίστοιχα), ανεξαρτήτως της γενετικής ποικιλότητας των MHC μορίων. Το γεγονός αυτό υποστηρίζει τον καθοριστικό ρόλο της επικρατούσας πίεσης επιλογής, που ευνοεί την αύξηση της νουκλεοτιδικής διαφοροποίησης των MHC αλληλουχιών και, συνεπακόλουθα, την ικανότητά των ζώων να αναγνωρίζουν μεγαλύτερη ποικιλία ξένων αντιγονικών πεπτιδίων

(Hughes & Yeager 1998a). Ως εκ τούτου, η απόδοση της κυτταρικής ανοσίας παραμένει σε υψηλά επίπεδα (Niskanen και συν. 2014).

Η σύγκριση της σχέσης της απόδοσης της κυτταρικής ανοσίας με την αύξηση του παρασιτικού φορτίου, μεταξύ των πληθυσμών της *L. trilineata*, έδειξε ότι οι ηπειρωτικές σαύρες έχουν υιοθετήσει μια διαφορετική στρατηγική άμυνας, σε σύγκριση με τις νησιωτικές, παρουσιάζοντας μεγαλύτερη ανοχή στην αύξηση του αριθμού των παρασίτων (εικόνα 4.13 σελ. 226). Η διαφοροποίηση αυτή, πιθανολογούμε ότι μπορεί να αποδοθεί αφενός, στη μειωμένη ροή ενέργειας και θρεπτικών συστατικών που χαρακτηρίζει τα νησιά (Cooper & Vitt 2002, Pérez-Mellado & Corti 1993), η οποία αναγκάζει τα ζώα να επενδύουν μεγάλο ποσοστό της προσλαμβανόμενης ενέργειας σε περισσότερο ζωτικές ανάγκες του οργανισμού (πχ., η ανάπτυξη, το ζευγάρωμα, η επιβίωση, η αναπαραγωγή, κλπ.) (Kuo και συν. 2013, Sheldon & Verhulst 1996) και, αφετέρου, στην αλλαγή του διατροφικού προτύπου (Lochmiller και συν. 1993, Norris & Evans 2000) που έχουν υιοθετήσει οι νησιωτικές σαύρες (αποτελέσματα κεφαλαίου 4). Αξίζει όμως να επισημανθεί ότι εφόσον άλλες παράμετροι, όπως οι χαρακτήρες ιστορίας ζωής και η χυμική ανοσία, που επίσης επηρεάζουν τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και την ευαισθησία/ανοχή του ξενιστή σε παθογόνους μικροοργανισμούς (Ardia 2005, Ilmonen και συν. 2003, Manjerovic & Waterman 2012, Norris & Evans 2000), δεν μελετήθηκαν, η τελευταία υπόθεση μένει να διερευνηθεί στο μέλλον.

Συνοψίζοντας, φαίνεται ότι οι προσαρμογές που έχει υιοθετήσει η *L. trilineata*, μέσω των πιέσεων φυσικής επιλογής, που επικρατούν στα διαφορετικά περιβάλλοντα που αποικίζει, της επιτρέπουν να εκμεταλλεύεται τις διαφορετικές βιοτικές και φυσικές συνθήκες της κάθε περιοχής, με αποτέλεσμα την επιτυχή εγκαθίδρυση νέων πληθυσμών. Οι ιδιαίτερες συνθήκες που επικρατούν στα μοναδικά ενδιαιτήματα των νησιών, έχουν ασκήσει μια σαφή διακριτή επιρροή στους πληθυσμούς του είδους αυτού, οδηγώντας στην εμφάνιση μοναδικών φυσιολογικών, μορφολογικών, γενετικών, οικολογικών και διακριτών συμπεριφορικών χαρακτήρων, αιτιολογώντας τη μεγάλη ποικιλομορφία που εμφανίζει το είδος αυτό.

Από όλα τα παραπάνω και λαμβάνοντας υπ' όψιν το κριτήριο του Krogh (Krogh 1929) όπως αργότερα το διατύπωσε ο Krebs (1975) και οι Feder και Watt (1993) σύμφωνα με το οποίο: «για κάθε βιολογικό ερώτημα υπάρχει ένας οργανισμός κατάλληλος για την απάντησή του», μπορούμε να πούμε ότι η *L. trilineata* αποτελεί έναν ιδανικό πρότυπο οργανισμό μελέτης, ο οποίος λόγω της εξαιρετικής πλαστικότητας που εμφανίζει μπορεί να δώσει απαντήσεις σε πληθώρα ερωτημάτων.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΕΛΛΗΝΙΚΗ

Η μελέτη των προσαρμογών, που έχουν υιοθετήσει οι οργανισμοί, προκειμένου να εκμεταλλευτούν καλύτερα το περιβάλλον στο οποίο διαβιούν προσείλκυσε από πολύ νωρίς το ενδιαφέρον των επιστημόνων. Όσον αφορά τα νησιωτικά οικοσυστήματα, οι ιδιάζουσες συνθήκες που επικρατούν σε αυτά, λόγω του μικρού μεγέθους, των αυστηρά καθορισμένων, λόγω της θάλασσας, ορίων τους, και των απλοποιημένων συστημάτων τους, ασκούν μια σαφώς διακριτή επιρροή στους οργανισμούς τους, οδηγώντας στη διαμόρφωση διακριτών χαρακτήρων και στην εμφάνιση μοναδικών πανίδων και χλωρίδων σε σύγκριση με εκείνων που χαρακτηρίζουν τις μεγάλες ηπειρωτικές μάζες.

Βασικός σκοπός της παρούσας διατριβής, είναι η διερεύνηση της επίδρασης των πιέσεων φυσικής επιλογής στη φυσιολογία, οικολογία και γενικότερη βιολογία των εξώθερμων ζώων, όπως είναι οι σαύρες, και ο τρόπος, με τον οποίο οι πιέσεις αυτές οδηγούν σε διαφοροποίηση των μορφολογικών και λειτουργικών χαρακτήρων σε νησιωτικούς και ηπειρωτικούς πληθυσμούς ενός taxon. Για τη μελέτη αυτή, εξετάστηκαν νησιωτικοί και ηπειρωτικοί πληθυσμοί της σαύρας του είδους *Lacerta trilineata* (Sauria: Lacertidae). Η τελευταία ανήκει στο γένος *Lacerta* που περιλαμβάνει εννέα αλλοπάτρια είδη, τέσσερα από τα οποία κατανέμονται στον ελλαδικό χώρο. Από αυτά, μόνο η *L. trilineata* εξαπλώνεται στη νησιωτική και ηπειρωτική Ελλάδα. Η ευρεία εξάπλωσή της την καθιστά ιδανικό οργανισμό για τη μελέτη θεωριών του νησιωτισμού. Στο πλαίσιο αυτής της διατριβής, προσεγγίζονται ερωτήματα όπως: Με ποιον τρόπο και με ποιες προσαρμογές το είδος αυτό διαμόρφωσε το σημερινό του πρότυπο κατανομής; Πώς αποκρίνονται οι νησιωτικοί και ηπειρωτικοί πληθυσμοί σε επίπεδο μορφολογίας, φυσιολογίας, ανοσολογίας και γενετικής στις διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες, αλλά και πώς το φυλογενετικό πλαίσιο καθορίζει τις σχέσεις των διακριτών πληθυσμών;

Από την επίλυση της φυλογένεσης, προέκυψε ότι το γένος *Lacerta* διαφοροποιήθηκε στον ελλαδικό χώρο τη Μέση Μειόκαινο (13,91 εκατ. χρόνια πριν), με την απόσχιση της ομάδας της *L. viridis/bilineata* από τα είδη *L. trilineata* και *L. agilis*. Το επόμενο μεγάλο κλαδογενετικό συμβάν, που έλαβε χώρα την Κατώτερη Μειόκαινο (11,65 εκατ. χρόνια πριν), οδήγησε στο διαχωρισμό των κλάδων της *L. agilis* και *L. trilineata*. Όσον αφορά τον τελευταίο κλάδο, της *L. trilineata*, βρέθηκε ότι συγκροτείται από έξι διακριτές

γενεαλογικές γραμμές με μεγάλες γενετικές αποστάσεις – συγκρίσιμες με εκείνες που έχουν αναφερθεί μεταξύ ειδών *Lacerta*. Τα νέα δεδομένα, που προέκυψαν, υποδηλώνουν την ανάγκη συστηματικής αναθεώρησης του είδους αυτού. Ο κλάδος της *L. trilineata* προήλθε και διαφοροποιήθηκε στη δυτική Ανατολία. Συγκεκριμένα, φαίνεται πως η προγονική μορφή του taxon αυτού εποίκησε τον ελληνικό χώρο πριν τον πλήρη σχηματισμό της μεσογειακής αύλακος (~9 εκατ. χρόνια πριν). Η ολοκλήρωση της διάνοιξης, απέτρεψε τη μετέπειτα ροή μεταξύ πληθυσμών της ανατολικής και δυτικής Ελλάδας, οδηγώντας στη δημιουργία των δύο διακριτών ομάδων γενεαλογικών γραμμών. Εντός της κάθε ομάδας ορισμένα άλλα βικαριανιστικά γεγονότα, η αύξηση της στάθμης της θάλασσας με το πέρας της τελευταίας παγετώδους περιόδου στο Ολόκαινο, καθώς και γεγονότα διασποράς, συνέβαλαν στο σημερινό πρότυπο κατανομής των γενεαλογικών γραμμών της *L. trilineata*.

Για τη μελέτη της θερμικής βιολογίας, χρησιμοποιήθηκαν τέσσερις πληθυσμοί (δύο ηπειρωτικοί και δύο νησιωτικοί) και ελήφθησαν υπ' όψιν οι θερμοκρασίες που τα ζώα επιτυγχάνουν στο πεδίο, καθώς και εκείνες (επιλεγόμενες θερμοκρασίες) που επιλέγουν σε κατάλληλη πειραματική διάταξη στο εργαστήριο. Τα παραπάνω μεγέθη συνδυάστηκαν με το εύρος των πιθανών θερμοκρασιών, που ένα ζώο θα μπορούσε να πάρει στο πεδίο, εάν δεν είχε τη δυνατότητα θερμορρύθμισης (λειτουργικές θερμοκρασίες). Από το συσχετισμό των παραπάνω, προέκυψε το πρότυπο θερμορρύθμισης που έχει υιοθετήσει η *L. trilineata*. Τα στοιχεία από τη μελέτη αυτή υποστηρίζουν τη «μεταβαλλόμενη» άποψη της θερμικής φυσιολογίας για τη *L. trilineata* και, σε αντίθεση με ό,τι υποστηρίζεται για τα Lacertidae, υπόκειται σε πιέσεις κατευθύνουσας επιλογής. Έτσι, οι νησιωτικοί πληθυσμοί της έχουν προσαρμοστεί στο ευνοϊκότερο θερμικό περιβάλλον των νησιών, μεταβάλλοντας τις επιλεγόμενες θερμοκρασίες σώματος και θερμορρυθμίζοντας λιγότερο αποτελεσματικά.

Για τη μελέτη της σύνθεσης της διαίτας της *L. trilineata*, εξετάσθηκε το στομαχικό περιεχόμενο διατηρημένων δειγμάτων, ενώ επιχειρήθηκε σύνδεση της τελευταίας με μορφολογικούς και λειτουργικούς χαρακτήρες. Η διαίτα της *L. trilineata* αποτελείται κυρίως από έντομα, με τα Κολεόπτερα και τα Ορθόπτερα να αποτελούν τις βασικές ομάδες λείας. Παρ' όλα αυτά, φαίνεται ότι το διατροφικό της πρότυπο μεταβάλλεται ανά εποχή, ηλικία, φύλο και περιβάλλον. Έτσι, βρέθηκε ότι η διαίτα του είδους αλλάζει καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, εύρημα που συμφωνεί με τη θεωρία της ευκαιριακής θήρευσης και είναι το αποτέλεσμα της εποχικότητας της σύνθεσης των κοινοτήτων αρthropόδων, που παρατηρείται στα Μεσογειακού τύπου οικοσυστήματα. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι οι ανήλικες σαύρες καταναλώνουν σημαντικότερα μεγαλύτερα ποσοστά μαλακής λείας

και έχουν υιοθετήσει ένα λιγότερο εξειδικευμένο διατροφικό πρότυπο, σε αντίθεση με τις ενήλικες, πιθανά λόγω των σημαντικών αναπτυξιακών αλλαγών (σε επίπεδο μορφολογίας και φυσιολογίας) που συντελούνται στο είδος αυτό, αλλά επειδή τα ανήλικα άτομα καταλαμβάνουν διαφορετικού τύπου μικροενδιαιτήματα από τις ενήλικες σαύρες. Ανάλογα, οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στη σύνθεση της δίαιτας μεταξύ αρσενικών και θηλυκών σαυρών φαίνεται ότι μπορούν να εξηγηθούν από τον έντονο φυλετικό διμορφισμό στο σχήμα της κεφαλής. Συγκεκριμένα, τα αρσενικά άτομα εμφανίζουν μεγαλύτερα κεφάλια που τους επιτρέπουν να αναπτύξουν περισσότερο τους στοματογναθικούς μύες και, επομένως, να αυξήσουν τη δύναμη δήγματος. Ως αποτέλεσμα, είναι ικανές να καταναλώνουν πιο σκληρή και δύσκολη στο χειρισμό λεία. Τέλος, οι διαφορές που παρατηρήθηκαν στη δίαιτα μεταξύ νησιωτικών και ηπειρωτικών πληθυσμών φαίνεται ότι μπορούν να δικαιολογηθούν αφενός, από την αλλαγή στο σχήμα και μέγεθος του κεφαλιού και, αφετέρου, από τη διαφοροποίηση της στρατηγικής της πέψης. Συγκεκριμένα, συμπεραίνουμε ότι το περισσότερο επίμηκες και πιο ψηλό κεφάλι, αλλά και η αύξηση της ισχύος δήγματος στις νησιωτικές σαύρες τους επιτρέπει να υιοθετήσουν μια λιγότερο εξειδικευμένη θηρευτική συμπεριφορά. Επιπρόσθετα, οι σαύρες από τα νησιά καταφέρνουν καλύτερη πέψη και απορρόφηση της τροφής, μέσω μια σειράς προσαρμογών που έχουν αναπτύξει, όπως: αύξηση του μήκους του γαστρεντερικού σωλήνα και μεγαλύτερη συχνότητα τυφλικών βαλβίδων στο έντερό τους. Με τον τρόπο αυτό, αυξάνεται ο χρόνος που έχουν τα πεπτικά ένζυμα για να δράσουν, μεγιστοποιώντας την ενέργεια που προσλαμβάνεται από κάθε μονάδα μάζας τροφής.

Τέλος, δεδομένου ότι η ικανότητα ενός ζώου να εποίκισι με επιτυχία ένα νέο περιβάλλον, καθορίζεται, σε μεγάλο βαθμό, και από τη δυνατότητά του να αντιμετωπίσει τους παθογόνους μικροοργανισμούς που ενυπάρχουν σε εκείνο, μελετήθηκε η ανοσολογική απόκριση σε συνδυασμό με τη γενετική ποικιλότητα του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (major histocompatibility complex, MHC) τάξης I. Για τη μελέτη της ισχύος της κυτταρικής ανοσίας εφαρμόστηκαν δύο μεθοδολογίες: (α) η μικτή λεμφοκυτταρική αντίδραση (mixed lymphocyte reaction, MLR) και (β) η καθυστερημένη δερματική αντίδραση υπερευαισθησίας (phytohemagglutinin-induced skin swelling test, PHA). Τα αποτελέσματά μας, έδειξαν ότι η περιορισμένη διαθεσιμότητα τροφής, οι μειωμένες οικολογικές σχέσεις (θηρευτή/θηράματος, ξενιστή/παρασίτου, κ.α.), η αλλαγή του διατροφικού προτύπου, καθώς και η ανάπτυξη γενετικών φραγμών, που χαρακτηρίζουν τα νησιωτικά οικοσυστήματα, έχουν επηρεάσει τους δύο αυτούς χαρακτήρες. Ως εκ τούτου, οι νησιωτικές σαύρες χαρακτηρίζονται, αφενός, από μειωμένη

γενετική ποικιλότητα στα MHC μόρια και, αφετέρου, με μικρότερη ανοχή της κυτταρικής ανοσίας στην αύξηση του παρασιτικού φορτίου, σε σύγκριση με τις σαύρες από τη χέρσο. Παρ' όλα αυτά, ο σημαντικός ρόλος της επικρατούσας πίεσης επιλογής - η οποία, στην προκειμένη περίπτωση, υπερισχύει της δράσης της γενετικής παρέκκλισης -, ευνοεί την αύξηση της νουκλεοτιδικής διαφοροποίησης των εναπομεινασών MHC αλληλουχιών και, συνεπακόλουθα, την ικανότητα των ζώων να αναγνωρίζουν μεγαλύτερη ποικιλία ξένων αντιγονικών πεπτιδίων. Άμεση συνέπεια των παραπάνω είναι η απόδοση της κυτταρικής ανοσίας να παραμένει ακόμη και στις σαύρες από τα νησιά σε υψηλά επίπεδα.

Συνοψίζοντας, φαίνεται πως οι προσαρμογές που έχει υιοθετήσει η *L. trilineata*, μέσω των πιέσεων φυσικής επιλογής, που επικρατούν στα διαφορετικά περιβάλλοντα που αποικίζει, της επιτρέπουν να εκμεταλλεύεται τις διαφορετικές βιοτικές και φυσικές συνθήκες της κάθε περιοχής, με αποτέλεσμα την επιτυχή εγκαθίδρυση νέων πληθυσμών. Οι ιδιαίτερες συνθήκες που επικρατούν στα μοναδικά ενδιαιτήματα των νησιών, έχουν ασκήσει μια σαφώς διακριτή επιρροή στους πληθυσμούς του είδους αυτού, οδηγώντας στην εμφάνιση μοναδικών χαρακτήρων (είτε αυτοί είναι φυσιολογικοί είτε γενετικοί είτε μορφολογικοί είτε οικολογικοί), αλλά και διακριτών συμπεριφορών.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΑΓΓΛΙΚΗ - SUMMARY

The structural and functional features that animals develop in order to survive and thrive in their environment have long drawn the attention of the scientific community. Regarding insular ecosystems, the unique physical-natural conditions prevailing on them, the strictly defined by the seas boundaries and the more simplified systems induce the diversification and evolution of island biotas with a number of ways.

The main aim of the present research was first, to investigate the effect of natural selection on the ecology, physiology and general biology of ectothermic animals, such as lizards and second, to examine how natural selection can shape morphological, functional and behavioral traits. To this aim, we studied insular and mainland populations of the lizard species *Lacerta trilineata* (Sauria: Lacertidae). The green lizards of the genus *Lacerta* comprises nine allopatric species, four of which occur in Greece, while only *L. trilineata* is distributed in both continental and insular Greek region. The latter feature makes *L. trilineata* an ideal organism to study the phenotypic plasticity of physiological and morphological traits. How and with what adaptations was its current distribution formed? How did insular and mainland populations have diversified to the different environmental conditions? Are there historical or ecological causes that led to this diversification? These are some of the subjects that this *PhD* Thesis was dealt with. Through a comparative framework, that contained several *L. trilineata* populations we tried to address these issues.

The resolved phylogeny revealed that the first branch-off of the Greek green lizards occurred during the middle Miocene (13.91 Mya) and led to the separation of the *L. viridis/bilineata* group from the species *L. agilis* and *L. trilineata*. The next major cladogenetic event took place at late Miocene (11.65 Mya) and led to the separation of the latter two species. Regarding the clade of *L. trilineata* our results support the existence of six distinct lineages. The high intraspecific genetic divergences between these lineages, which are comparable to that recorded among lacertid species, raises questions regarding its taxonomic status and whether or not it is a single species. *L. trilineata* seems to originate and diverge in western Anatolia. Given the phylogeny of *L. trilineata* in the Aegean and the geological history of the Greek area, we assume that the ancestral form of this species invaded the Greek area from Anatolia before the complete formation of the MAT (~9 Mya). The forming of this barrier gave the two groups of *L. trilineata* lineages

(west and east of the trench). Within each group, some other vicariant and dispersal events as well as the raise of the Mediterranean Sea at the end of the last glacial period during Holocene have resulted in the present distribution of the six evolutionary lineages of *L. trilineata*.

In order to approach the thermal biology of this species, we studied two mainland and two island populations and determined three different thermal values for each population: lizard's temperature under normal conditions in the field (body temperature), the temperature that a lizard may achieve in a special designed thermal gradient in the lab (selective temperature) and the potential temperatures that an animal could reach in its biotope (operative temperatures). From the correlation of these three values we tried to describe the strategy of thermoregulation that each population has adopted. The comparison between mainland and island populations revealed that both populations have adapted to their thermal environment, supporting the "labile" view on the evolution of thermal physiology for this species. In particular, insular lizards thermoregulate less effectively because of the more benign, in terms of thermal quality, environment and have lower thermal preferenda. Mainland lizards on the other hand, showed higher effectiveness as a result of the more demanding environment. However, predation regime seems to restrict the ability of the latter to achieve body temperatures close to their set-point range.

To investigate the trophic ecology of the Balkan green lizard, we removed the digestive track of preserved specimens as well as collected the fecal material from live lizards, and we correlated the trophic data with morphological and functional traits. Our findings support that *L. trilineata* is a widely foraging predator, feeding on numerous invertebrate taxa, while Coleoptera and Orthoptera represent the predominant prey group. Ontogeny, sex, season and habitat affect the feeding ecology of this species. The seasonal variation in the diet of *L. trilineata* corroborate that the species is an opportunistic predator. However, juveniles followed a discrete feeding pattern, which indicates an ontogenetic shift. During their growth, lacertids undergo significant changes in the size, shape and performance of their feeding apparatus. A complementary underlying reason should be sought in the way adults exploit their environment and the areas that usually occupy. Finally, regarding the observed differences in diet composition between sexes as well as island and mainland populations, these probably reflect adaptations through sexual and natural selection. The more robust heads of male lizards allows them to develop a greater bite force and consequently to feed on harder prey items. In addition, the food scarcity prevailing in the Mediterranean islands offers little choice to insular lizards. Thus islanders

have to take advantage of every available food resource in order to survive even plant material, which they achieved by increasing the head depth and width as well as bite force, compared to their mainland counterparts.

Differences on feeding ecology usually affect several aspects of the digestive system such as physiology and morphology. In the study of the digestive procedure we tried to obtain a qualitative approach of the digestion of the main organic compounds (lipids, sugars and proteins). Islanders deviated from their mainland peers increasing the digestive tract length and the frequency of cecal valves in the hindgut. However, an increase in the digestive tract length and the frequency of cecal valves might cause an increase of gut passage time and, thus, food retention times. In other words, enzymes could have more time to act, which maximize the rate of energy intake and the digestive efficiency. We believe that these changes on the digestive procedure could be interpreted as adaptations for the limited food availability prevailing on islands.

Finally, given that the ability of an animal to successfully colonize new habitats is mainly determined by its ability to cope with pathogens of the environment, we studied the immune response in association with the genetic diversity of the major histocompatibility complex (MHC) class I. For the study of cell-mediated response we used two methodological approaches: (a) the mixed lymphocyte reaction (MLR) and (b) the phytohemagglutinin-induced skin swelling test (PHA). Our finding revealed that the genetic boundaries of islands and the food scarcity prevailing on them caused decline in the genetic divergence at the MHC genes and in parasite tolerance. Nonetheless, the significant importance of balancing selection against genetic drift, in shaping MHC polymorphism, has lead to an increase on the nucleotide diversity of the remaining MHC alleles. As a result and besides the reduce parasite tolerance of islanders, the latter demonstrated high cell mediated response, which is comparable to their mainland peers.

To sum up, it appears that island populations of *L. trilineata* have adapted to the different biotic and abiotic environmental conditions of islands, which have lead to the development of unique morphological, physiological and behavioral traits.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abouheif E., Fairbairn D. J. 1997.** A comparative analysis of allometry for sexual size dimorphism: Assessing Rensch's rule. *The American Naturalist* **149**: 540-562.
- Ackerly D. D. 2004.** Adaptation, niche conservatism, and convergence: Comparative studies of leaf evolution in the California chaparral. *The American Naturalist* **163**: 654-671.
- Adamopoulou C., Valakos E. D. 2005.** Thermal ecology and activity cycle of *Podarcis milensis* in a sandy coastal area. *Israel Journal of Zoology* **51**: 39-52.
- Adamopoulou C., Valakos E. D., Pafilis P. 1999.** Summer diet of *Podarcis milensis*, *Podarcis gaigeae* and *Podarcis erhardii* (Sauria: Lacertidae). *Bonn Zoological Bulletin* **48**: 275-282.
- Adler G. H., Levins R. 1994.** The island syndrome in rodent populations. *Quarterly Review of Biology* **69**: 473-490.
- Adolph S. C. 1990.** Influence of behavioral thermoregulation on microhabitat use by two *Sceloporus* lizards. *Ecology* **71**: 315-327.
- Aguilar A., Roemer G., Debenham S., Binns M., Garcelon D., Wayne R. K. 2004.** High MHC diversity maintained by balancing selection in an otherwise genetically monomorphic mammal. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **101**: 3490-3494.
- Ahmadzadeh F., Carretero M. A., Harris D. J., Perera A., hme W. 2012.** A molecular phylogeny of the eastern group of ocellated lizard genus *Timon* (Sauria: Lacertidae) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Amphibia-Reptilia* **33**: 1-10.
- Ahmadzadeh F., Flecks M., Carretero M. A., Böhme W., Ilgaz C., Engler J. O., James Harris D., Üzümlü N., Rödder D. 2013a.** Rapid lizard radiation lacking niche conservatism: ecological diversification within a complex landscape. *Journal of Biogeography* **40**: 1807-1818.
- Ahmadzadeh F., Flecks M., Rödder D., Böhme W., Ilgaz Ç., Harris D. J., Engler J. O., Üzümlü N., Carretero M. A. 2013b.** Multiple dispersal out of Anatolia: biogeography and evolution of oriental green lizards. *Biological Journal of the Linnean Society* **110**: 398-408.
- Akaike H. 1974a.** New Look at Statistical-Model Identification. *Ieee Transactions on Automatic Control* **Ac19**: 716-723.
- Akaike H. 1974b.** New Look at Statistical-Model Identification. *IEEE Transactions on Automatic Control* **Ac-19**: 716-723.
- Akin C., Bilgin C. 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* **37**: 2111-2124.
- Alcaide M. 2010.** On the relative roles of selection and genetic drift in shaping MHC variation. *Molecular Ecology* **19**: 3842-3844.

- Alcaide M., Edwards S. V., Negro J. J., Serrano D., Tella J. L. 2008.** Extensive polymorphism and geographical variation at a positively selected MHC class II B gene of the lesser kestrel (*Falco naumanni*). *Molecular Ecology* **17**.
- Alcaide M., Lemus J. A., Blanco G., Tella J. L., Serrano D., Negro J. J., Rodríguez A., García-Montijano M. 2010.** MHC diversity and differential exposure to pathogens in kestrels (Aves: Falconidae). *Molecular Ecology* **19**: 691-705.
- Alexander G. J., Heever C. v. D., Lazenby S. L. 2001.** Thermal dependence of appetite and digestive rate in the flat lizard, *Platysaurus intermedius wilhelmi*. *Journal of Herpetology* **35**: 461-466.
- Alexis M. N., Papaparaskeva-Papoutsoglou E., Theochari V. 1985.** Formulation of practical diets for rainbow trout (*Salmo gairdneri*) made by partial or complete substitution of fish meal by poultry by-products and certain plant by-products. *Aquaculture* **50**: 61-73.
- Alibardi L. 2010.** *Morphological and cellular aspects of tail and limb regeneration in lizards. A model system with implication for tissue regeneration in mammals.* Springer Heidelberg: New York.
- Amo L., López P., Martín J. 2004.** Prevalence and intensity of haemogregarinid blood parasites in a population of the Iberian rock lizard, *Lacerta monticola*. *Parasitology Research* **94**: 290-293.
- Amo L., López P., Martín J. 2006.** Nature-based tourism as a form of predation risk affects body condition and health state of *Podarcis muralis* lizards. *Biological Conservation* **131**: 402-409.
- Amo L., López P., Martín J. 2007.** Habitat deterioration affects body condition of lizards: A behavioral approach with *Iberolacerta cyreni* lizards inhabiting ski resorts. *Biological Conservation* **135**: 77-85.
- Anderson R. A., McBrayer L. D., Herrel A. 2008.** Bite force in vertebrates: Opportunities and caveats for use of a nonpareil whole-animal performance measure. *Biological Journal of the Linnean Society* **93**: 709-720.
- Andersson M. 1994.** *Sexual selection.* Princeton University Press: Princeton, New Jersey.
- Andrews R. M. 1971.** Structural habitat and time budget of *Anolis polylepis* (Iguanidae). *Ecology* **52**: 262-270.
- Andrews R. M. 1982.** Patterns of growth in reptiles. Στο: *Biology of the Reptilia*. vol. 13, Gans C. and Pough F. H., eds. New York: Academic Press. 273-320.
- Andrews R. M., Mendez-de la Cruz F. R., Villagran-Santa Cruz M., Rodriguez-Romero F. 1999.** Field and selected body temperatures of the lizards *Sceloporus aeneus* and *Sceloporus bicanthalis*. *Journal of Herpetology* **33**: 93-100.
- Angelici F. M., Luiselli L., Rugiero L. 1997.** Food habits of the green lizard, *Lacerta bilineata*, in central Italy and a reliability test of faecal pellet analysis. *Italian Journal of Zoology* **64**: 267-272.
- Angelov P., Tomov V., Gruev B. 1966.** A study on the diet of some lizards in Bulgaria. *Scientific studies of the Superior Pedagogical Institute – Plovdiv, Biology* **4**: 99-105.
- Angilletta Jr M. J. 2009.** *Thermal Adaptation. A theoretical and empirical synthesis.* Oxford University Press: New York, USA.

- Angilletta M. J. J. 2001.** Variation in metabolic rate between populations of a geographically widespread lizard. *Physiological and Biochemical Zoology* **74**: 11-21.
- Angilletta M. J. J. 2009.** *Thermal Adaptation. A theoretical and empirical synthesis.* Oxford University Press: New York, USA.
- Apanius V., Penn D., Slev P. R., Ruff L. R., Potts W. K. 1997.** The nature of selection on the major histocompatibility complex. *Critical reviews in immunology* **17**: 179-224.
- Aparicio J. M., Bonal R., Cordero P. J. 2003.** Evolution of the structure of tail feathers: implications for the theory of sexual selection. *Evolution* **57**: 397-405.
- Archie J. W. 1989.** A randomization test for phylogenetic information in systematic data. *Systematic Biology* **38**: 239-252.
- Ardia R. D. 2005.** Tree swallows trade off immune function and reproductive effort differently across their range. *Ecology* **86**: 2040-2046.
- Arjamaa O., Vuorisalo T. 2010.** Gene-culture coevolution and human diet. *American Scientist* **98**: 140-147.
- Arkush K. D., Giese A. R., Mendonca H. L., McBride A. M., Marty G. D., Hedrick P. W. 2002.** Resistance to three pathogens in the endangered winter-run chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*): effects of inbreeding and major histocompatibility complex genotypes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **59**: 966-975.
- Arnold E. N. 1973.** Relationships of the Palearctic lizards assigned to the genera *Lacerta*, *Algyroides* and *Psammodromus* (Reptilia: Lacertidae). *Bulletin of The British Museum (Natural History) Zoology* **25**: 291-366.
- Arnold E. N. 1984.** Ecology of lowland lizards in the eastern United Arab Emirates. *Journal of Zoology* **204**: 329-354.
- Arnold E. N. 1987.** Resource partition among lacertid lizards in southern Europe. *Journal of Zoology* **1**: 739-782.
- Arnold E. N. 1988.** Caudal autotomy as a defense. Στο: *Biology of the Reptilia*. vol. 16: Ecology B: Defense and life history, Gans C. and Huey R. B., eds. New York: Alan R. Liss. 235-273.
- Arnold E. N. 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. N. 1991.** Relationships of the South African lizards assigned to *Aporosaura*, *Meroles* and *Pedioplanis* (Reptilia: Lacertidae). *Journal of Natural History* **25**: 783 - 807.
- Arnold E. N. 2002a.** *A field guide to the reptiles and amphibians of Britain and Europe.* Harper Collins: London.
- Arnold E. N. 2004.** Overview of morphological evolution and radiation in the Lacertidae. Στο: *The biology of lacertid lizards. Evolutionary and ecological perspectives.* Perez-Mellado V., Riera N. and Perera A., eds. Menorca: Institut Menorquí d'Estudis, Recerca. 11-36.

- Arnold E. N., Arribas O., Carranza S. 2007.** Systematics of the Palaearctic and Oriental lizard tribe Lacertini (Squamata: Lacertidae: Lacertinae), with descriptions of eight new genera. *Zootaxa* **1430**: 3-86.
- Arnold N. 2002b.** *A Field Guide to the Reptiles and Amphibians of Britain and Europe*. HarperCollins.
- Arnold S. J. 1993.** Foraging theory and prey-size–predator-size relations in snakes. Στο: *Snakes: ecology and behavior*. Seigel R. A. and Collins J. T., eds. New York: McGraw-Hill. 87-115.
- Austin J. D., Loughheed S. C., Moler P. E., Boag P. T. 2003.** Phylogenetics, zoogeography, and the role of dispersal and vicariance in the evolution of the *Rana catesbeiana* (Anura : Ranidae) species group. *Biological Journal of the Linnean Society* **80**: 601-624.
- Avery R. A. 1971.** Estimates of food consumption by the lizard *Lacerta vivipara* Jacquin. *Journal of Animal Ecology* **40**: 351-365.
- Avery R. A. 1982.** Field studies of body temperatures and thermoregulation. Στο: *Biology of the Reptilia*. vol. 12: Physiology C, Physiological Ecology, Gans C. and Pough F. H., eds. New York: Academic Press. 93-166.
- 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.
- Babik W. 2010.** Methods for MHC genotyping in non-model vertebrates. *Molecular Ecology Resources* **10**: 237-251.
- Babik W., Kawalko A., Wójcik J. M., Radwan J. 2012.** Low Major Histocompatibility Complex Class I (MHC I) Variation in the European Bison (*Bison bonasus*). *Journal of Heredity* **103**: 349-359.
- Babik W., Taberlet P., Ejsmond M. J., Radwan J. 2009.** New generation sequencers as a tool for genotyping of highly polymorphic multilocus MHC system. *Molecular Ecology Resources* **9**: 713-719.
- Bakken G. S. 1992.** Measurement and application of operative and standard operative temperatures in ecology. *American Zoologist* **32**: 194-216.
- Barata M., Carranza S., Harris D. J. 2012.** Extreme genetic diversity in the lizard *Atlantolacerta andreanskyi* (Werner, 1929): A montane cryptic species complex. *BMC Evolutionary Biology* **12**.
- Barret K. E. 2006.** *Lange Gastrointestinal Physiology*. 2nd, (edn). McGraw-Hill Medical: New York, USA.
- Bartholomew G. A. 1982.** Physiological control of body temperatures. Στο: *Biology of the Reptilia*. vol. 12: Physiology C, Physiological Ecology, Gans C. and Pough F. H., eds. New York: Academic Press. 167-211.
- Bartolomew G. A. 1982.** Physiological control of body temperatures. Στο: *Biology of the Reptilia*. vol. 12: Physiology C, Physiological Ecology, Gans C. and Pough F. C., eds. New York: Academic Press. 167-211.

- Barton N. H. 2001.** The role of hybridization in evolution. *Molecular Ecology* **10**: 551-568.
- Barton N. W. H., Houston D. C. 1993.** A comparison of digestive efficiency in birds of prey. *Ibis* **135**: 363-371.
- Barton N. W. H., Houston D. C. 1994.** Morphological adaptation of the digestive tract in relation to feeding ecology of raptors. *Journal of Zoology* **232**: 133-150.
- Bateman P. W., Fleming P. A. 2009.** To cut a long tail short: a review of lizard caudal autotomy studies carried out over the last 20 years. *Journal of Zoology* **277**: 1-14.
- Baucom R. S., de Roode J. C. 2011.** Ecological immunology and tolerance in plants and animals. *Functional Ecology* **25**: 18-28.
- Bauwens D. 1981.** Survivorship during hibernation in the European common lizard, *Lacerta vivipara*. *Copeia* **1981**: 741-744.
- Bauwens D., Castilla A. M., Van Damme R., Verheyen R. F. 1990.** Field body temperatures and thermoregulatory behavior of the high altitude lizard, *Lacerta bedriagae*. *Journal of Herpetology* **24**: 88-91.
- Bauwens D., Garland J. T., Castilla A. M., Vandamme R. 1995.** Evolution of sprint speed in lacertid lizards: Morphological, physiological and behavioral covariation. *Evolution* **49**: 848-863.
- Bauwens D., Hertz P. E., Castilla A. M. 1996.** Thermoregulation in a lacertid lizard: The relative contributions of distinct behavioral mechanisms. *Ecology* **77**: 1818-1830.
- Beldomenico P. M., Telfer S., Gebert S., Lukomski L., Bennett M., Begon M. 2008.** Poor condition and infection: a vicious circle in natural populations. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **275**: 1753-1759.
- Beldomenico P. M., Telfer S., Lukomski L., Gebert S., Bennett M., Begon M. 2009.** Host condition and individual risk of cowpox virus infection in natural animal populations: cause or effect? *Epidemiology and Infection* **137**: 1295-1301.
- Bell G. P. 1990.** Birds and mammals on an insect diet: a primer on diet composition analysis in relation to ecological energetics. Στο: *Avian Foraging: Theory, Methodology, and Applications. Studies in Avian Biology, Vol. 13.* Morrison M. L., Ralph C. J., Verner J. and Jehl J., eds. Lawrence, Kansas, USA: Cooper Ornithological Society and Allen Press. 416-422.
- Bell R. G., Hazell L. A., Price P. 1976.** Influence of dietary protein restriction on immune competence. II. Effect on lymphoid tissue. *Clinical and Experimental Immunology* **26**: 314-326.
- Belliure J., Smith L., Sorci G. 2004.** Effect of testosterone on T cell-mediated immunity in two species of Mediterranean lacertid lizards. *Journal of Experimental Zoology* **301A**: 411-418.
- Benacerraf B., McDevitt H. O. 1972.** Histocompatibility-linked immune response genes. *Science* **175**: 273-279.
- Bensch B., Thimme R., Blum H. 2009.** Role of host genetic factors in the outcome of hepatitis C virus infection. *Viruses* **1**: 104-125.
- Bennett A. F. 1980.** The thermal dependence of lizard behavior. *Animal Behaviour* **28**: 752-762.

- Bennett A. F. 1997.** Adaptation and the evolution of physiological characters. Στο: *Handbook of physiology, Sect. 13: comparative physiology*. vol. 1, Danzler W. H., ed. New York: Oxford University Press. 3-16.
- Bennett A. F., Dawson W. R. 1976.** Metabolism. Στο: *Biology of the Reptilia*. Gans C. and Dawson W. R., eds. London and New York: Academic Press. 127-223.
- Berg J. M., Tymoczko J. L., Stryer L. 2002.** *Biochemistry 5th Edition*. W. H. Freeman: New York.
- Bergholtz B., Albrechtsen D., Thorsby E. 1977.** Stimulation of T lymphocytes by autologous non-T lymphoid cells. Participation of HLA-D? *Tissue Antigens* **10**: 27-38.
- Berk M. L., Heath J. E. 1975.** An analysis of behavioral thermoregulation in the lizard, *Dipsosaurus dorsalis*. *Journal of Thermal Biology* **1**: 15-22.
- Bernatchez L., Landry C. 2003.** MHC studies in nonmodel vertebrates: what have we learned about natural selection in 15 years? *Journal of Evolutionary Biology* **16**: 363-377.
- Berne R. M., Levy M. N. 1996.** *Principles of physiology*. Mosby-Year Book Inc: New York.
- Binladen J., Gilbert M. T. P., Bollback J. P., Panitz F., Bendixen C., Nielsen R., Willerslev E. 2007.** The use of coded PCR primers enables high-throughput sequencing of multiple homolog amplification products by 454 parallel sequencing. *Plos One* **2**: e197.
- Bize P., Jeanneret C., Klopfenstein A., Roulin A. 2008.** What makes a host profitable? Parasites balance host nutritive resources against immunity. *The American Naturalist* **171**: 107-118.
- Bjorkman P. J., Saper M. A., Samraoui B., Bennett W. S., Strominger J. L., Wiley D. C. 1987.** The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class I histocompatibility antigens. *Nature* **329**: 512-518.
- Bjorndal K. A. 1985.** Nutritional ecology of sea turtles. *Copeia* **1985**: 736-751.
- Bjorndal K. A., Bolten A. B., Moore J. E. 1990.** Digestive fermentation in herbivores: effect of food particle size. *Physiological Zoology* **63**: 710-721.
- Blomberg S. P., Garland T., Ives A. R., Crespi B. 2003.** Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile. *Evolution* **57**: 717-745.
- Blondel J., Aronson J. 1999.** *Biology and wildlife of the Mediterranean region*. Oxford University Press: New York.
- Blondel J., Aronson J., Bodiou J.-Y., Boeuf G. 2010.** *The Mediterranean region: Biological diversity in space and time*. Second, (edn). Oxford University Press New York.
- Blouin-Demers G., Nadeau P. 2005.** The cost-benefit model of thermoregulation does not predict lizard thermoregulatory behavior. *Ecology* **86**: 560-566.
- Blouin-Demers G., Weatherhead P. J. 2001.** Thermal ecology of black rat snakes (*Elaphe obsoleta*) in a thermally challenging environment. *Ecology* **82**: 3025-3043.
- Blouin-Demers G., Weatherhead P. J. 2002.** Habitat-specific behavioural thermoregulation by black rat snakes (*Elaphe obsoleta obsoleta*). *Oikos* **97**: 59-68.

- Blumstein D. T., Daniel J. C. 2005.** The loss of anti-predator behaviour following isolation on islands. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **272**: 1663-1668.
- Boback S. M. 2003.** Body size evolution in snakes: Evidence from island populations. *Copeia* **1**: 81-94.
- Bock W. J. 1980.** The definition and recognition of biological adaptation. *American Zoologist* **20**: 217-227.
- Boer R. J. D., Perelson A. S. 1993.** How Diverse should the Immune System be? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **252**: 171-175.
- Bogert C. M. 1949.** Thermoregulation in reptiles, a factor in evolution. *Evolution* **3**: 195-211.
- Bogert C. M. 1959.** How reptiles regulate their body temperature. *Scientific American* **200**: 105-120.
- Böhme M. U., Fritz U., Kotenko T., Dzukic G., Ljubisavljevic K., Tzankov N., Berendonk T. U. 2007.** Phylogeography and cryptic variation within the *Lacerta viridis* complex (Lacertidae, Reptilia). *Zoologica Scripta* **36**: 119-131.
- Bollmer J., Hull J., Ernest H., Sarasola J., Parker P. 2011a.** Reduced MHC and neutral variation in the Galapagos hawk, an island endemic. *BMC Evolutionary Biology* **11**: 143.
- Bollmer J. L., Ruder E. A., Johnson J. A., Eimes J. A., Dunn P. O. 2011b.** Drift and selection influence geographic variation at immune loci of prairie-chickens. *Molecular Ecology*.
- Bollmer J. L., Vargas F. H., Parker P. G. 2007.** Low MHC variation in the endangered Galápagos penguin (*Spheniscus mendiculus*). *Immunogenetics* **59**: 593-602.
- Bonneaud C., Chastel O., Federici P., Westerdahl H., Sorci G. 2006a.** Complex Mhc-based mate choice in a wild passerine. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **273**: 1111-1116.
- Bonneaud C., Mazuc J., Chastel O., Westerdahl H., Sorci G., Poulin R. 2004a.** Terminal investment induced by immune challenge and fitness traits associated with major histocompatibility complex in the house sparrow. *Evolution* **58**: 2823-2830.
- Bonneaud C., Pérez-Tris J., Federici P., Chastel O., Sorci G. 2006b.** Major histocompatibility alleles associated with local resistance to malaria in a passerine. *Evolution* **60**: 383-389.
- Bonneaud C., Richard M., Faivre B., Westerdahl H., Sorci G. 2005.** An Mhc class I allele associated to the expression of T-dependent immune response in the house sparrow. *Immunogenetics* **57**: 782-789.
- Bonneaud C., Sorci G., Morin V., Westerdahl H., Zoorob R., Wittzell H. 2004b.** Diversity of Mhc class I and IIB genes in house sparrows (*Passer domesticus*). *Immunogenetics* **55**: 855-865.
- Bordes F., Ponlet N., Bellocq J., Ribas A., Krasnov B., Morand S. 2012.** Is there sex-biased resistance and tolerance in Mediterranean wood mouse (*Apodemus sylvaticus*) populations facing multiple helminth infections? *Oecologia* **170**: 123-135.

- Borghans J., Beltman J., Boer R. 2004.** MHC polymorphism under host-pathogen coevolution. *Immunogenetics* **55**: 732-739.
- Bouchard S. S., Bjørndal K. A. 2006.** Ontogenetic diet shifts and digestive constraints in the omnivorous freshwater turtle *Trachemys scripta*. *Physiological and Biochemical Zoology* **79**: 150-158.
- Bowen L., Aldridge B., Gulland F., Van Bonn W., DeLong R., Melin S., Lowenstine L., Stott J., Johnson M. 2004.** Class II multiformity generated by variable MHC-DRB region configurations in the California sea lion (*Zalophus californianus*). *Immunogenetics* **56**: 12-27.
- Brückner M., Klein B., Düring A., Mentel T., Rabus S., Soller J. T. 2001.** Phylogeographic analysis of the *Lacerta viridis/bilineata* complex: molecular patterns and distribution. *Mertensiella* **13**: 45-51.
- Bradley J. E., Jackson J. A. 2008.** Measuring immune system variation to help understand host-pathogen community dynamics. *Parasitology* **135**: 807-823.
- Bradshaw D. S. 1997.** *Homeostasis in desert reptiles*. Springer-Verlag: Heidelberg.
- Braña F. 1996.** Sexual dimorphism in lacertid lizards: male head increase vs female abdomen increase? *Oikos* **75**: 511-523.
- Brattstrom B. H. 1970.** Amphibia. Στο: *Comparative Physiology of Thermoregulation, Volume 1: Invertebrates and nonmammalian vertebrates*. Whittow G. C., ed. New York: Academic Press. 135-166.
- Brecko J., Huyghe K., Vanhooydonck B., Herrel A., Grbac I., Van Damme R. 2008.** Functional and ecological relevance of intraspecific variation in body size and shape in the lizard *Podarcis melisellensis* (Lacertidae). *Biological Journal of the Linnean Society* **94**: 251-264.
- Brock K. M., Donihue C. M., Pafilis P. 2014.** Novel records of frugivory and ovophagy in *Podarcis* lizards from East Mediterranean Islands. *North-Western Journal of Zoology* **10**: 223-225.
- Brooks D. R., McLennan D. A. 2002.** *The nature of diversity: An evolutionary voyage of discover*. University of Chicago Press: Chicago.
- Brown G. P., Weatherhead P. J. 2000.** Thermal ecology and sexual size dimorphism in northern water snakes, *Nerodia sipedon*. *Ecological Monographs* **70**: 311-330.
- Brown R. P. 1996.** Thermal biology of the gecko *Tarentola boettgeri*: Comparisons among populations from different elevations within Gran Canaria. *Herpetologica* **52**: 396-405.
- Brown R. P., Hoskisson P. A., Welton J. H., Báez M. 2006.** Geological history and within-island diversity: A debris avalanche and the Tenerife lizard *Gallotia galloti*. *Molecular Ecology* **15**: 3631-3640.
- Brown R. P., Pérez-Mellado V. 1994.** Ecological energetics and food acquisition in dense menorcan islet population of the lizard *Podarcis lilfordi*. *Functional Ecology* **8**: 427-434.
- Bruner E., Costantini D. 2009.** Head morphology and degree of variation in *Lacerta bilineata*, *Podarcis muralis* and *Podarcis sicula*. *International Journal of Morphology* **27**: 667-676.

- Burnham D. K., Susan N. K., Nicola J. N., Charles H. D. 2005.** T cell function in tuatara (*Sphenodon punctatus*). *Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases* **28**: 213-222.
- Burnham K. P., Anderson D. R. 2002.** *Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach*. Springer: New York.
- Burri R., Hirzel H. N., Salamin N., Roulin A., Fumagalli L. 2008.** Evolutionary patterns of MHC class II B in Owls and their implications for the understanding of avian MHC evolution. *Molecular Biology Evolution* **25**: 1180-1191.
- Butler M. A., King A. A. 2004.** Phylogenetic comparative analysis: A modeling approach for adaptive evolution. *The American Naturalist* **164**: 683-695.
- Butler M. A., Losos J. B. 2002.** Multivariate sexual dimorphism, sexual selection, and adaptation in Greater Antillean Anolis lizards. *Ecological Monographs* **72**: 541-559.
- Butler M. A., Sawyer S. A., Losos J. B. 2007.** Sexual dimorphism and adaptive radiation in *Anolis* lizards. *Nature* **447**: 202-205.
- Calsbeek R., Bonneaud C., Smith T. B. 2008.** Differential fitness effects of immunocompetence and neighbourhood density in alternative female lizard morphs. *Journal of Animal Ecology* **77**: 103-109.
- Camargo A., Sinervo B., Sites J. W. 2010.** Lizards as model organisms for linking phylogeographic and speciation studies. *Molecular Ecology* **19**: 3250-3270.
- Cambell S., Norman J. M. 1998.** *An introduction to environmental biophysics*. Springer: New York.
- Campbell D. R., Trowsdale J. 1993.** Map of the human MHC. *Immunology Today* **14**: 349-352.
- Capula M., Luiselli L. 1994.** Trophic niche overlap in sympatric *Tarentola mauritanica* and *Hemidactylus turcicus*: a preliminary study. *Herpetological Journal* **4**: 24-25.
- Carlquist S. 1965.** *Island life*. Natural History Press: Garden City, NY.
- Carlquist S. 1974.** *Island Biology*. Columbia University Press: Columbia.
- Carranza S., Arnold E. N., Amat F. 2004.** DNA phylogeny of *Lacerta* (*Iberolacerta*) and other lacertine lizards (Reptilia: Lacertidae): did competition cause long-term mountain restriction? *Systematics and Biodiversity* **2**: 57-77.
- 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.
- Carranza S., Harris D. J., Arnold E. N., Batista V., Gonzalez de la Vega J. P. 2006.** Phylogeography of the lacertid lizard, *Psammmodromus algirus*, in Iberia and across the Strait of Gibraltar. *Journal of Biogeography* **33**: 1279-1288.
- Carretero M. A. 2004.** From set menu to à la carte. Linking issues in trophic ecology of Mediterranean lacertids. *Italian Journal of Zoology* **2**: 121-133.
- Carretero M. A., Lo Cascio P., Corti C., Pasta S. 2010.** Sharing resources in a tiny Mediterranean island? Comparative diets of *Chalcides ocellatus* and *Podarcis filfolensis* in Lampione. *Bonn Zoological Bulletin* **57**: 111-118.

- Carretero M. A., Roig J. M., Llorente G. A. 2005.** Variation in preferred body temperature in an oviparous population of *Lacerta (Zootoca) vivipara*. *The Herpetological Journal* **15**: 51-55.
- Case T. J. 1975.** Species numbers, density compensation, and colonizing ability of lizards on islands in the Gulf of California. *Ecology* **56**: 3-18.
- Case T. J. 1978.** A general explanation for insular body size trends in terrestrial vertebrates. *Ecology* **59**: 1-18.
- Case T. J. 1982.** Ecology and evolution of the insular giant chuckawallas, *Sauromalus hispidus* and *Sauromalus varius*. Στο: *Iguanas of the world: their behavior, ecology and conservation*. N. Burghardt G. M. and Rand A. S., eds. Park Ridge, New Jersey: Noyes Publications. 184-212.
- Castilla A. M., Bauwens D. 1991.** Thermal biology, microhabitat selection and conservation of the insular lizard *Podarcis hispanica atrata*. *Oecologia* **85**: 366-374.
- Castilla A. M., Bauwens D. 2000.** Reproductive characteristics of the lacertid lizard *Podarcis atrata*. *Copeia* **2000**: 748-756.
- Castilla A. M., Bauwens D., Llorente G. A. 1991.** Diet composition of the lizard *Lacerta lepida* in central Spain. *Journal of Herpetology* **25**: 30-36.
- Castilla A. M., Van Damme R. 1996.** Cannibalistic propensities of the lizard *Podarcis hispanica atrata*. *Copeia* **1996**: 991-994.
- Castilla A. M., Van Damme R., Dirk B. 1999.** Field body temperatures, mechanisms of thermoregulation and evolution of thermal characteristics in lacertid lizards. *Natura Croatica* **8**: 253-274.
- Castro-Prieto A., Wachter B., Sommer S. 2011.** Cheetah paradigm revisited: MHC diversity in the world's largest free-ranging population. *Molecular Biology and Evolution* **28**: 1455-1468.
- Cavazza W., Wexel F. C. 2003.** The Mediterranean region - a geological primer. *Episodes* **26**: 160-168.
- Čerňanský A. 2010.** Earliest world record of green lizards (Lacertilia, Lacertidae) from the Lower Miocene of Central Europe. *Biologia* **65**: 737-741.
- Chapple D. G., Swain R. 2002.** Distribution of energy reserves in a viviparous skink: Does tail autotomy involve the loss of lipid stores? *Austral Ecology* **27**: 565-572.
- Chippindale A., Ngo A., Rose M. 2003.** The devil in the details of life-history evolution: Instability and reversal of genetic correlations during selection on *Drosophila* development. *Journal of Genetics* **82**: 133-145.
- Chivers D. J., Hladik C. M. 1980.** Morphology of the gastrointestinal tract in primates: comparisons with other mammals in relation to diet. *Journal of Morphology* **166**: 337-386.
- Clark R. J., Clark E. D. 1973.** Report on a collection of amphibians and reptiles from Turkey. *Occasional Papers of the California Academy of Sciences* **104**: 1-62.
- Clobert J., Oppliger A., Sorci G., Ernande B., Swallow J. G., Garland T. 2000.** Trade-offs in phenotypic traits: endurance at birth, growth, survival, predation and susceptibility to parasitism in a lizard, *Lacerta vivipara*. *Functional Ecology* **14**: 675-684.

- Cloudsley-Thompson J. L. 1999.** *Ecophysiology of desert arthropods and reptiles*. Springer-Verlag: Berlin.
- Clusella Trullas S., Terblanche J., Wyk J., Spotila J. 2007.** Low repeatability of preferred body temperature in four species of Cordylid lizards: Temporal variation and implications for adaptive significance. *Evolutionary Ecology* **21**: 63-79.
- Coldstream J. N. 1978.** Kythera and the Southern Peloponnese in the LM I Period *Thera and the Aegean world I*. London. 389-402.
- Collins T. M., Kraus F., Estabrook G. 1994.** Compositional effects and weighting of nucleotide sequences for phylogenetic analysis. *Systematic Biology* **43**: 449-459.
- Combes C. 1995.** *Interaction Durables - Ecologie et Evolution du Parasitisme*. Masson: Paris.
- Consuegra S., Ellison A., Allainguillaume J., Pachebat J., Peat K. M., Wright P. 2013.** Balancing selection and the maintenance of MHC supertype variation in a selfing vertebrate. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **280**.
- Cooper Jr W. E., Vitt L. J. 2002.** Distribution, extent, and evolution of plant consumption by lizards. *Journal of Zoology* **257**: 487-517.
- Cooper J. W. E., Vitt L. J. 2002.** Distribution, extent, and evolution of plant consumption by lizards. *Journal of Zoology* **257**: 487-517.
- Cowles R. B. 1941.** Observations on the winter activities of desert reptiles. *Ecology* **22**: 125-140.
- Cowles R. B., Bogert C. M. 1944.** A preliminary study of the thermal requirements of desert reptiles. *Bulletin of the American Museum of Natural History* **83**: 265-296.
- Cox R. M., Skelly S. L., John-Alder H. B. 2003.** A comparative test of adaptive hypotheses for sexual size dimorphism in lizards. *Evolution* **57**: 1653-1669.
- 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.
- Creutzburg N. 1963.** Paleogeographic evolution of Crete from Miocene till our days. *Cretan Annals* **15/16**: 336-342.
- Crochet P. A., Chaline O., Surget-Groba Y., Debain C., Cheylan M. 2004.** Speciation in mountains: phylogeography and phylogeny of the rock lizards genus *Iberolacerta* (Reptilia: Lacertidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **30**: 860-866.
- Crowder L. B., Magnuson J. J. 1983.** Cost benefit analysis of temperature and food resource use: a synthesis with an example from the fishes. Στο: *Behavioral Energetics: The Cost of Survival in Vertebrates.*, Aspey W. P. and Lustick S. I., eds. Columbus, OH: Ohio State University Press. 189-221.
- Cutrerera A. P., Lacey E. A. 2007.** Trans-species polymorphism and evidence of selection on class II MHC loci in tuco-tucos (Rodentia: Ctenomyidae). *Immunogenetics* **59**: 937-948.
- da C. Diefenbach C. O. 1975.** Gastric function in *Caiman crocodilus* (Crocodylia: Reptilia)—I. Rate of gastric digestion and gastric motility as a function of temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* **51**: 259-265.

- Dallman P. R. 1998.** *Plant life in the world's Mediterranean climates*. Oxford University Press, UK: Oxford.
- Darwin C. 1859.** *On the Origin of Species by Means of Natural Selection*. John Murray: London.
- Darwin C., Wallace A. 1858.** On the tendency of species to form varieties; and On the perpetuation of varieties and species by natural means of selection. *Journal of the Proceedings of the Linnean Society of London. Zoology* **3**: 45-62.
- Davenport C. B. 1897.** *Experimental methodology. Part first. Effect of chemical and physical agents upon protoplasm*. MacMillan: New York and London.
- Dawson W. R. 1967.** Interspecific variation in physiological responses of lizards to temperature. Στο: *Lizard ecology: A symposium*. Milstead M., ed. Columbia: University of Missouri Press. 230-257.
- Dawson W. R. 1975.** On the physiological significance of the preferred body temperatures of reptiles Στο: *Perspective of biophysical ecology*. vol. 12, Gates D. M. and Schmerl R. B., eds. Berlin, Germany: Springer-Verlag. 443-473.
- De Bellocq J. G., Morand S., Feliu C. 2002.** Patterns of parasite species richness of Western Palaearctic micro-mammals: Island effects. *Ecography* **25**: 173-183.
- De Eyto E., McGinnity P., Consuegra S., Coughlan J., Tufto J., Farrell K., Megens H. J., Jordan W., Cross T., Stet R. J. M. 2007.** Natural selection acts on Atlantic salmon major histocompatibility (MH) variability in the wild. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **274**: 861-869.
- Dermitzakis D. M. 1990.** Paleogeography, geodynamic processes and event stratigraphy during the Late Cenozoic of the Aegean area. *Atti Convegno Lincei* **85**: 263-288.
- Dermitzakis D. M., Papanikolaou D. J. 1981.** Paleogeography and geodynamics of the Aegean region during the Neogene. *Annales Geologique des Pays Hellenic* **30**: 245-289.
- Desdevises Y., Legendre P., Azouzi L., Morand S. 2003.** Quantifying phylogenetically structured environmental variation. *Evolution* **57**: 2647-2652.
- DeWitt C. B., Friedman R. M. 1979.** Significance of skewness in ectotherm thermoregulation. *The American Naturalist* **19**: 195-209.
- Dial B., Fitzpatrick L. 1981.** The energetic costs of tail autotomy to reproduction in the lizard *Coleonyx brevis* (Sauria: Gekkonidae). *Oecologia* **51**: 310-317.
- Díaz-Uriarte R., Garland T. 1996.** Testing hypotheses of correlated evolution using phylogenetically independent contrasts: sensitivity to deviations from Brownian motion. *Systematic Biology* **45**: 27-47.
- Díaz J. A. 1995.** Prey selection by lacertid lizards: a short review. *Herpetological Journal* **5**: 245-251.
- Díaz J. A. 1994.** Effects of body temperature on the predatory behavior of the lizard *Psammodromus algirus* hunting winged and wingless prey. *Herpetological Journal* **4**: 145-150.
- Díaz J. A. 1997.** Ecological correlates of the thermal quality of an ectotherm's habitat: a comparison between two temperate lizard populations. *Functional Ecology* **18**: 867-875.

- Díaz J. A., Cabezas-Díaz S. 2004.** Seasonal variation in the contribution of different behavioural mechanisms to lizard thermoregulation. *Functional Ecology* **18**: 867-875.
- Díaz J. A., Carrascal L. M. 1991.** Prey size and food selection of *Psammodromus algirus* (Lacertidae) in central Spain. *Journal of Herpetology* **24**: 342-347.
- Díaz J. A., Carrascal L. M. 1993.** Variation in the effect of profitability on prey size selection by the lacertid lizard *Psammodromus algirus*. *Oecologia* **94**: 23-29.
- Diniz-Filho J. A. F., Torres N. M. 2002.** Phylogenetic comparative methods and the geographic range size-body size relationship in new world terrestrial carnivora. *Evolutionary Ecology* **16**: 351-367.
- Dionne M., Miller K. M., Dodson J. J., Caron F., Bernatchez L. 2007.** Clinal variation in MHC diversity with temperature: evidence for the role of host-pathogen interaction on local adaptation in Atlantic salmon. *Evolution* **61**: 2154-2164.
- Doherty P. C., Zinkernagel R. M. 1975.** Enhanced immunological surveillance in mice heterozygous at the H-2 gene complex. *Nature* **256**: 50-52.
- Drummond A. J., Rambaut A. 2007.** BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* **7**: 214.
- Dryden I. L., Mardia K. V. 1998.** *Statistical shape analysis*. Wiley: Chichester.
- Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers B. A., Smith F. 1956.** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* **28**: 350-356.
- Duellman W. E., Trueb L. 1986.** *Biology of Amphibians*. McGraw-Hill: New York.
- Dunham A. E. 1983.** Realized niche overlap, resource abundance and intensity of interspecific competition. Στο: *Lizards Ecology: Studies of Model Organism*. Huey R. B., Pianka E. R. and Schoener T. W., eds. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press.
- Durtsche R. D. 2000.** Ontogenetic plasticity of food habits in the Mexican spiny-tailed iguana, *Ctenosaura pectinata*. *Oecologia* **124**: 185-195.
- Dyall R., Messaoudi I., Janetzki S., Nikolić-Žugić J. 2000.** MHC polymorphism can enrich the T cell repertoire of the species by shifts in intrathymic selection. *The Journal of Immunology* **164**: 1695-1698.
- Dzialowski E. M. 2005.** Use of operative temperature and standard operative temperature models in thermal biology. *Journal of Thermal Biology* **30**: 317-334.
- Edwards S., Tolley K. A., Vanhooydonck B., Measey G. J., Herrel A. 2013.** Is dietary niche breadth linked to morphology and performance in Sandveld lizards *Nucras* (Sauria: Lacertidae)? *Biological Journal of the Linnean Society* **110**: 674-688.
- Edwards S. V., Hedrick P. W. 1998.** Evolution and ecology of MHC molecules: from genomics to sexual selection. *Trends in Ecology & Evolution* **13**: 305-311.
- Eimes J. A., Bollmer J. L., Whittingham L. A., Johnson J. A., Van Oosterhout C., Dunn P. O. 2011.** Rapid loss of MHC class II variation in a bottlenecked population is explained by drift and loss of copy number variation. *Journal of Evolutionary Biology* **24**: 1847-1856.

- Eizaguirre C., Lenz T., Sommerfeld R., Harrod C., Kalbe M., Milinski M. 2011.** Parasite diversity, patterns of MHC II variation and olfactory based mate choice in diverging three-spined stickleback ecotypes. *Evolutionary Ecology* **25**: 605-622.
- Eizaguirre C., Lenz T. L., Kalbe M., Milinski M. 2012a.** Divergent selection on locally adapted major histocompatibility complex immune genes experimentally proven in the field. *Ecology Letters* **15**: 723-731.
- Eizaguirre C., Lenz T. L., Kalbe M., Milinski M. 2012b.** Rapid and adaptive evolution of MHC genes under parasite selection in experimental vertebrate populations. *Nature Communications* **3**.
- Eizaguirre C., Yeates S. E., Lenz T. L., Kalbe M., Milinski M. 2009.** MHC-based mate choice combines good genes and maintenance of MHC polymorphism. *Molecular Ecology* **18**: 3316-3329.
- Eklom R., SÆther S. A., Jacobsson P., Fiske P., Sahlman T., Grahm M., KÅLÅS J. A., HÖGLund J. 2007.** Spatial pattern of MHC class II variation in the great snipe (*Gallinago media*). *Molecular Ecology* **16**: 1439-1451.
- Elgert K. 1996.** *Immunology: Understanding the Immune System*. Wiley & Liss: New York, USA.
- Elliot S. L., Blanford S., Horton C. M., Thomas M. B. 2003.** Fever and phenotype: transgenerational effect of disease on desert locust phase state. *Ecology Letters* **6**: 830-836.
- Ellison A., Allainguillaume J., Girdwood S., Pachebat J., Peat K. M., Wright P., Consuegra S. 2012.** Maintaining functional major histocompatibility complex diversity under inbreeding: the case of a selfing vertebrate. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **279**: 5004-5013.
- Else P. L., Hulbert A. J. 1985.** An allometric comparison of the mitochondria of mammalian and reptilian tissues: implications for the evolution of endothermy. *Journal of Comparative Physiology B Biochemical Systemic and Environmental Physiology* **156**: 3-11.
- Espinoza R. E., Wiens J. J., Tracy C. R. 2004.** Recurrent evolution of herbivory in small, cold-climate lizards: Breaking the ecophysiological rules of reptilian herbivory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **101**: 16819-16824.
- Estes R. 1983.** *Handbuch der Paläoherpetologie, Part 10: Sauria terrestria, Amphisbaenia*. Gustav Fischer Verlag: Stuttgart.
- Evans M. E. K., Smith S. A., Flynn R. S., Donoghue M. J. 2009.** Climate, niche evolution, and diversification of the "bird-cage" evening primroses (*Oenothera*, sections *Anogra* and *Kleinia*). *The American Naturalist* **173**: 225-240.
- Ezenwa V. O., Stefan Ekernas L., Creel S. 2012.** Unravelling complex associations between testosterone and parasite infection in the wild. *Functional Ecology* **26**: 123-133.
- Farag M. A., El Ridi R. 1985.** Mixed leucocyte reaction (MLR) in the snake *Psammophis sibilans*. *Immunology* **55**: 173.

- Farrar W. L., Cleveland J. L., Beckner S. K., Bonvini E., Evans S. W. 1986.** Biochemical and molecular events associated with interleukin 2 regulation of lymphocyte proliferation. *Immunological Reviews* **92**: 49-66.
- Feder M. E. 1987.** The analysis of physiological diversity: the prospects for pattern documentation and general questions in ecological physiology. Στο: *New directions in ecological physiology*. Feder M. E., Bennett A. F., Burggren W. W. and Huey R. B., eds. New York, USA: Cambridge University Press.
- Feder M. E., Bennett A. F., Burggren W. W., Huey R. B. 1988.** *New directions in ecological physiology*. Cambridge University Press: New York, USA.
- Feder M. E., Watt W. B. 1993.** Functional biology of adaptation. Στο: *Genes in Ecology*. Barry R. J., Crawford T. J. and Hewitt G. M., eds. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 365-391.
- Felsenstein J. 1985.** Phylogenies and the comparative method. *The American Naturalist* **125**: 1-15.
- Fialho R. F., Rocha C. F. D., Vrcibradic D. 2000.** Feeding ecology of *Tropidurus torquatus*: ontogenetic shift in plant consumption and seasonal trends in diet. *Journal of Herpetology* **34**: 325-330.
- Figueroa F., Gunther E., Klein J. 1988.** Mhc polymorphism predating speciation. *Nature* **335**: 265-267.
- Fineblum W., Rausher M. 1995.** Tradeoff between resistance and tolerance to herbivore damage in a morning glory. *Nature* **377**: 517-520.
- Folstad I., Karter A. J. 1992.** Parasites, bright males, and the immunocompetence handicap. *The American Naturalist* **139**: 603-622.
- Fornoni J., Núñez-Farfán J., Valverde P. L., Rausher M. D. 2004.** Evolution of mixed strategies of plant defense allocation against natural enemies. *Evolution* **58**: 1685-1695.
- Foster J. B. 1964.** Evolution of mammals on islands. *Nature* **202**: 234-235.
- Foufopoulos J., Ives A. R. 1999a.** Reptile extinctions on land-bridge islands: Life-history attributes and vulnerability to extinction. *American Naturalist* **153**: 1-25.
- Foufopoulos J., Ives A. R. 1999b.** Reptile extinctions on land-bridge islands: lifehistory attributes and vulnerability to extinction. *The American Naturalist* **153**: 1-25.
- Foufopoulos J., Kilpatrick M. A., Ives A. R. 2011.** Climate change and elevated extinction rates of reptiles from Mediterranean Islands. *The American Naturalist* **177**: 119-129.
- Fox S. F., Rostker M. A. 1982.** Social cost of tail loss in *Uta strasburiana*. *Science* **218**: 692-693.
- Frankham R. 1997.** Do island populations have less genetic variation than mainland populations? *Heredity* **78**: 311-327.
- Freckleton R. P., Harvey P. H., Pagel M. 2002.** Phylogenetic analysis and comparative data: A test and review of evidence. *The American Naturalist* **160**: 712-726.
- Freeman-Gallant C. R., Meguerdichian M., Wheelwright N. T., Sollecito S. V. 2003.** Social pairing and female mating fidelity predicted by restriction fragment length polymorphism similarity at the major histocompatibility complex in a songbird. *Molecular Ecology* **12**: 3077-3083.

- Fromont E., Morvilliers L., Artois M., Pontier D. 2001.** Parasite richness and abundance in insular and mainland feral cats: Insularity or density? *Parasitology* **123**: 143-151.
- Frör E. 1979.** Intraspecific differentiation of the green lizards (*Lacerta trilineata* and *Lacerta viridis*) of Greece. *Biologia Gallo-Hellenica* **8**: 331-336.
- 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 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.
- Funk D. J., Omland K. E. 2003.** Species-level paraphyly and polyphyly: Frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* **34**: 397-423.
- Futuyma D. J. 2005.** *Evolution*. Sinauer Associates, Inc.: Sunderland, Massachusetts, USA.
- Fuxjager M. J., Foufopoulos J., Diaz-Uriarte R., Marler C. A. 2011.** Functionally opposing effects of testosterone on two different types of parasite: implications for the immunocompetence handicap hypothesis. *Functional Ecology* **25**: 132-138.
- Gadsen E. H., Palacios-Orona L. E. 1997.** Seasonal dietary patterns of the Mexican fringe-toed lizard (*Uma parapygas*). *Journal of Herpetology* **31**: 1-9.
- Galan M., Guivier E., Caraux G., Charbonnel N., Cosson J. F. 2010.** A 454 multiplex sequencing method for rapid and reliable genotyping of highly polymorphic genes in large-scale studies. *BMC genomics* **11**: 296.
- Gans C., Pough F. H. 1982.** Physiological ecology: Its debt to reptilian studies, its value to students of reptiles. Στο: *Biology of the Reptilia*. vol. 12: Physiology C, Physiological Ecology, Gans C. and Pough F. H., eds. New York: Academic Press. 1-13.
- Garland J. T., Adolph S. C. 1994a.** Why not to do two-species comparative studies: limitations on inferring adaptation. *Physiological Zoology* **67**: 797-828.
- Garland J. T., Bennett A. F., Rezende E. L. 2005.** Phylogenetic approaches in comparative physiology. *The Journal of Experimental Biology* **208**: 3015-3035.
- Garland J. T., Dickerman J. A. W., Janis C. M., Jones J. A. 1993.** Phylogenetic analysis of covariance by computer simulation. *Systematic Biology* **42**: 265-292.
- Garland J. T., Huey R. B., Bennett A. F. 1991.** Phylogeny and coadaptation of thermal physiology in lizards: A reanalysis. *Evolution* **45**: 1969-1975.
- Garland T., Adolph S. C. 1994b.** Why not to do two-species comparative studies: limitations on inferring adaptation. *Physiological Zoology* **67**: 797-828.
- Garland T., Ives A. R. 2000.** Using the Past to Predict the Present: Confidence Intervals for Regression Equations in Phylogenetic Comparative Methods. *The American Naturalist* **155**: 346-364.
- Garland T., Kelly S. A. 2006.** Phenotypic plasticity and experimental evolution. *Journal of Experimental Biology* **209**: 2344-2361.

- Garland T. J., Carter A. P. 1994.** Evolutionary physiology. *Annual Review of Physiology* **56**: 579-621.
- Garrido M., Pérez-Mellado V. 2013.** Prevalence and intensity of blood parasites in insular lizards. *Zoologischer Anzeiger - A Journal of Comparative Zoology* **252**: 588-592.
- Garrigan D., Hedrick P. W. 2003.** Perspective: detecting adaptive molecular polymorphism: lessons from the MHC. *Evolution* **57**: 1707-1722.
- Gasnier T. R., Magnusson W. E., Lima A. P. 1994.** Foraging activity and diet of four sympatric lizard species in a tropical rainforest. *Journal of Herpetology* **28**: 187-192.
- Gasparini J., McCoy K. D., Haussy C., Tveraa T., Boulinier T. 2001.** Induced maternal response to the Lyme disease spirochaete *Borrelia burgdorferi sensu lato* in a colonial seabird, the kittiwake *Rissa tridactyla*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **268**: 647-650.
- Gemmell N. J., Slate J. 2006.** Heterozygote advantage for fecundity. *Plos One* **1**: e125.
- German D. P., Nagle B. C., Villeda J. M., Ruiz A. M., Thomson A. W., Contreras Balderas S., Evans D. H. 2010.** Evolution of herbivory in a carnivorous clade of minnows (teleostei: cyprinidae): effects on gut size and digestive physiology. *Physiological and Biochemical Zoology* **83**: 1-18.
- Ghalambor C. K., Walker J. A., Reznick D. N. 2003.** Multi-trait selection, adaptation, and constraints on the evolution of burst swimming performance. *Integrative and Comparative Biology* **43**: 431-438.
- Gibbs A. G., Fukuzato F., Matzkin L. M. 2003.** Evolution of water conservation mechanisms in *Drosophila*. *Journal of Experimental Biology* **206**: 1183-1192.
- Gillis G. B., Kuo C.-Y., Irschic D. 2013.** The impact of tail loss on stability during jumping in green Anoles (*Anolis carolinensis*). *Physiological and Biochemical Zoology* **86**: 680-689.
- Glaberman S., Caccone A. 2008a.** Species-specific evolution of class I MHC genes in iguanas (Order: Squamata; Subfamily: Iguaninae). *Immunogenetics* **60**: 371-382.
- Glaberman S., Caccone A. 2008b.** Species-specific evolution of class I MHC genes in iguanas (Order: Squamata; Subfamily: Iguaninae). *Immunogenetics* **60**: 371-382.
- Glaberman S., Moreno M. A., Caccone A. 2009.** Characterization and evolution of MHC class II B genes in Galápagos marine iguanas (*Amblyrhynchus cristatus*). *Developmental & Comparative Immunology* **33**: 939-947.
- Go Y., Satta Y., Kawamoto Y., Rakotoarisoa G., Randrianjafy A., Koyama N., Hirai H. 2002.** Mhc-DRB genes evolution in lemurs. *Immunogenetics* **54**: 403-417.
- Goüy De Bellocq J., Charbonnel N., Morand S. 2008.** Coevolutionary relationship between helminth diversity and MHC class II polymorphism in rodents. *Journal of Evolutionary Biology* **21**: 1144-1150.
- Godinho R., Crespo E. G., Ferrand N. 2008.** The limits of mtDNA phylogeography: Complex patterns of population history in a highly structured Iberian lizard are only revealed by the use of nuclear markers. *Molecular Ecology* **17**: 4670-4683.

- Godinho R., Crespo E. G., Ferrand N., Harris D. J. 2005.** Phylogeny and evolution of the green lizards, *Lacerta* spp. (Squamata : Lacertidae) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Amphibia-Reptilia* **26**: 271-285.
- Golding B. 1992.** The prospects for polymorphisms shared between species. *Heredity* **68**: 263-276.
- Goldman N., Anderson J. P., Rodrigo A. G. 2000.** Likelihood-Based tests of topologies in phylogenetics. *Systematic Biology* **49**: 652-670.
- Goldsby R. A., Kindt T. J., Kuby J., Osborne B. A. 2002.** *Immunology*. 5th, (edn). W. H. Freeman and Company: New York, USA.
- Gotelli N. J., Entsminger G. L. 2001.** *EcoSim: Null Models Software for Ecology, Version 7.0*. Acquired Intelligence Inc. & Kesey-Bear: <http://homepages.together.net/~gentsmin/ecosim.htm>.
- Goto N., Kodama H., Okada K., Fujimoto Y. 1978.** Suppression of phytohemagglutinin skin response in thymectomized chickens. *Poultry Science* **57**: 246-250.
- Gottlieb A. B., Fu S. M., Yu D. T. Y., Wang C. Y., Halper J. P., Kunkel H. G. 1979.** The nature of the stimulatory cell in human allogeneic and autologous MLC reactions; Role of isolated IgM-bearing B cells. *The Journal of Immunology* **123**: 1497-1503.
- Grafen A. 1989.** The phylogenetic regression. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **326**: 119-157.
- Graham A. L., Hayward A. D., Watt K. A., Pilkington J. G., Pemberton J. M., Nussey D. H. 2010.** Fitness correlates of heritable variation in antibody responsiveness in a wild mammal. *Science* **330**: 662-665.
- Grant P. R. 1998.** *Evolution on Islands*. Oxford University Press: New York.
- Grant P. R., Grant B. R. 2011.** *How and why species multiply: The radiation of Darwin's Finches*. Princeton University Press: Princeton, USA.
- Grbac I., Bauwens D. 2001.** Constraints on temperature regulation in two sympatric *Podarcis* lizards during autumn. *Copeia*: 178-186.
- Greene H. W. 1982.** Dietary and phenotypic diversity in lizards: why are some organisms specialised? Στο: *Environmental adaptation and evolution*. Mossakowski D. and Roth G., eds. New York, USA: Gustav Fischer Verlag. 107-128.
- Greer A. 1980.** Critical thermal maximum temperatures in Australian scincid lizards: Their ecological and evolutionary significance. *Australian Journal of Zoology* **28**: 91-102.
- Guillou H., Carracedo J. C., Torrado F. P., Badiola E. R. 1996.** K-Ar ages and magnetic stratigraphy of a hotspot-induced, fast grown oceanic island: El Hierro, Canary Islands. *Journal of Volcanology and Geothermal Research* **73**: 141-155.
- Guo X., Dai X., Chen D., Papenfuss T. J., Ananjeva N. B., Melnikov D. A., Wang Y. 2011.** Phylogeny and divergence times of some racerunner lizards (Lacertidae: *Eremias*) inferred from mitochondrial 16S rRNA gene segments. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **61**: 400-412.
- Gvoždík L., Boukal M. 1998.** Sexual dimorphism and intersexual food niche overlap in the sand lizard, *Lacerta agilis* (Squamata: Lacertidae). *Folia Zoologica* **47**: 189-195.

- Gvozdik L., Castilla A. M. 2001.** A comparative study of preferred body temperatures and critical thermal tolerance limits among populations of *Zootoca vivipara* (Squamata : Lacertidae) along an altitudinal gradient. *Journal of Herpetology* **35**: 486-492.
- Hailer F., Helander B., Folkestad A. O., Ganusevich S. A., Garstad S., Hauff P., Koren C., Nygard T., Volke V., Vila C., Ellegren H. 2006.** Bottlenecked but long-lived high genetic diversity retained in white-tailed eagles upon recovery from population decline. *Biology Letters* **2**: 316-319.
- Hailey A. 1998.** The specific dynamic action of the omnivorous tortoise *Kinixys spekii* in relation to diet, feeding pattern, and gut passage. *Physiological Zoology* **71**: 57-66.
- Hamilton W., Zuk M. 1982.** Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science* **218**: 384-387.
- Hammer Ø., Harper D. A. T., Ryan P. D. 2001.** PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica* **4**: 1-9.
- Hanssen S. A., Hasselquist D., Folstad I., Erikstad K. E. 2004.** Costs of immunity: immune responsiveness reduces survival in a vertebrate. *Proceedings of the Royal Society B* **271**: 925-930.
- Harf R., Sommer S. 2005.** Association between major histocompatibility complex class II DRB alleles and parasite load in the hairy-footed gerbil, *Gerbillurus paeba*, in the southern Kalahari. *Molecular Ecology* **14**: 85-91.
- Harlow H., Hillman S., Hoffman M. 1976.** The effect of temperature on digestive efficiency in the herbivorous lizard, *Dipsosaurus dorsalis*. *Journal of Comparative Physiology* **111**: 1-6.
- 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. 2002.** Reassessment of comparative genetic distance in reptiles from the mitochondrial cytochrome b gene. *Herpetological Journal* **12**: 85-87.
- 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 B: Biological Sciences* **265**: 1939-1948.
- Harris D. J., Sá-Sousa P. 2001.** Species distinction and relationships of the western Iberian *Podarcis* lizards (Reptilia, Lacertidae) based on morphology and mitochondrial DNA sequences. *Herpetological Journal* **11**: 129-136.
- Harvey P. H., Pagel M. D. 1991.** *The comparative method in evolutionary biology*. Oxford University Press: Oxford.
- Harwood R. H. 1979.** The effect of temperature on the digestive efficiency of three species of lizards, *Cnemidophorus tigris*, *Gerrhonotus multicarinatus* and *Sceloporus occidentalis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology* **63**: 417-433.
- Hasegawa M., Kishino H., Yano T. A. 1985.** Dating of the human ape splitting by a molecular clock of mitochondrial-DNA. *Journal of Molecular Evolution* **22**: 160-174.

- Hasselquist D. 2007.** Comparative immunoecology in birds: hypotheses and tests. *Journal of Ornithology* **148**: S571-S582.
- Hasselquist D., Marsh J. A., Sherman P. W., Wingfield J. C. 1999.** Is avian humoral immunocompetence suppressed by testosterone? *Behavioral Ecology and Sociobiology* **45**: 167-175.
- Hawley D. M., Altizer S. M. 2011.** Disease ecology meets ecological immunology: understanding the links between organismal immunity and infection dynamics in natural populations. *Functional Ecology* **25**: 48-60.
- Heatwole H., Taylor J. R. L. 1987.** *Ecology of Reptiles*. Surrey Beatty & Sons Ltd: Australia.
- Hedrick P. W. 2001.** Conservation genetics: where are we now? *Trends in Ecology & Evolution* **16**: 629-636.
- Hedrick P. W. 2002.** Pathogen resistance and genetic variation at MHC loci. *Evolution* **56**: 1902-1908.
- Hedrick P. W., Kim T. J. 2000.** Genetics of complex polymorphisms: parasites and maintenance of the major histocompatibility complex variation. Στο: *Evolutionary genetics: from molecules to morphology*. vol. 1, Singh R. S. and Krimbas C. B., eds. Cambridge, U.K. : Cambridge University Press. 204-234.
- Hedrick P. W., Parker K. M., Gutiérrez-Espeleta G. A., Rattink A., Liewers K. 2000.** Major histocompatibility complex variation in the Arabian oryx. *Evolution* **54**: 2145-2151.
- Hedrick P. W., Thomson G. 1983.** Evidence for balancing selection at HLA. *Genetics* **104**: 449-456.
- Hedrick P. W., Thomson G., Klitz W. 1987.** Evolutionary genetics and HLA: another classic example. *Biological Journal of the Linnean Society* **31**: 311-331.
- Herrel A., Adriaens D., Verraes W., Aerts P. 2002.** Bite performance in clariid fishes with hypertrophied jaw adductors as deduced by bite modeling. *Journal of Morphology* **253**: 196-205.
- Herrel A., Aerts P., De Vree F. 1998.** Ecomorphology of the lizard feeding apparatus: a modelling approach. *Netherlands Journal of Zoology* **48**: 1-25.
- Herrel A., De Grauw E., Lemos-Espinal J. A. 2001a.** Head shape and bite performance in xenosaurid lizards. *Journal of Experimental Zoology* **290**: 101-107.
- Herrel A., Holanova V. 2008.** Cranial morphology and bite force in *Chamaeleolis* lizards - Adaptations to molluscivory? *Zoology* **111**: 467-475.
- Herrel A., Huyghe K., Vanhooydonck B., Backeljau T., Breugelmans K., Grbac I., Van Damme R., Irschick D. J. 2008.** Rapid large-scale evolutionary divergence in morphology and performance associated with exploitation of a different dietary resource. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**: 4792-4795.
- Herrel A., Joachim R., Vanhooydonck B., Irschick D. J. 2006.** Ecological consequences of ontogenetic changes in head shape and bite performance in the Jamaican lizard *Anolis lineatopus*. *Biological Journal of the Linnean Society* **89**: 443-454.
- Herrel A., Moore J. A., Bredeweg E. M., Nelson N. J. 2010.** Sexual dimorphism, body size, bite force and male mating success in tuatara. *Biological Journal of the Linnean Society* **100**: 287-292.

- Herrel A., Podos J., Huber S. K., Hendry A. P. 2005.** Evolution of bite force in Darwin's finches: a key role for head width. *Journal of Evolutionary Biology* **18**: 669-675.
- Herrel A., Schaerlaeken V., Moravec J., Ross C. F. 2009.** Sexual shape dimorphism in Tuatara. *Copeia* **2009**: 727-731.
- Herrel A., Spithoven L., Van Damme R., De Vree F. 1999.** Sexual dimorphism of head size in *Gallotia galloti*: testing the niche divergence hypothesis by functional analyses. *Functional Ecology* **13**: 289-297.
- Herrel A., Van Damme R., De Vree F. 1996.** Sexual dimorphism of head size in *Podarcis hispanica atrata*: Testing the dietary divergence hypothesis by bite force analysis. *Netherlands Journal of Zoology* **46**: 253-262.
- Herrel A., Van Damme R., Vanhooydonck B., De Vree F. 2001b.** The implications of bite performance for diet in two species of lacertid lizards. *Canadian Journal of Zoology* **79**: 662-670.
- Hertz P. E. 1992a.** Evaluating thermal resource partitioning by sympatric *Anolis cooki* and *A. cristatellus*: a field test using null hypotheses. *Oecologia* **90**: 127-136.
- Hertz P. E. 1992b.** Temperature regulation in Puerto-Rican *Anolis* lizards: A field test using null hypothesis. *Ecology* **73**: 1405-1417.
- Hertz P. E., Huey R. B. 1981.** Compensation for altitudinal changes in the thermal environment by some *Anolis* lizards on Hispaniola. *Ecology* **62**: 515-521.
- Hertz P. E., Huey R. B., Nevo E. 1983.** Homage to Santa Anita: Thermal sensitivity of sprint speed in agamid lizards. *Evolution* **37**: 1075-1084.
- Hertz P. E., Huey R. B., Stevenson R. D. 1993.** Evaluating temperature regulation by field-active ectotherms: The fallacy of the inappropriate question. *The American Naturalist* **142**: 796-818.
- Hewitt G. M. 2004.** Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **359**: 183-195.
- Hewitt G. M. 2011.** Mediterranean Peninsulas: The Evolution of Hotspots. Στο: *Biodiversity Hotspots - Distribution and protection of conservation priority areas*. Zachos F. E. and Habel J. C., eds. New York: Springer Berlin Heidelberg. 123-147.
- Hill A. V. S., Allsopp C. E. M., Kwiatkowski D., Anstey N. M., Twumasi P., Rowe P. A., Bennet S., Brewster D., McMichael A. J., Greenwood B. M. 1991.** Common West African HLA antigens are associated with protection from severe malaria. *Nature* **352**: 595-600.
- Hillis D. M., Mable B. K., Moritz C. 1996.** Applications of molecular systematics: The state of the field and a look to the future. Στο: *Molecular Systematics*. Hillis D. M., Moritz C. and Mable B. K., eds. Sunderland, MA: Sinauer. 515-543.
- Hitchcock M. A., McBrayer L. D. 2006.** Thermoregulation in nocturnal ectotherms: Seasonal and intraspecific variation in the Mediterranean gecko (*Hemidactylus turcicus*). *Journal of Herpetology* **40**: 185-195.
- Hochberg M. E., Møller A. P. 2001.** Insularity and adaptation in coupled victim-enemy associations. *Journal of Evolutionary Biology* **14**: 539-551.

- Hödar J. A., Campos F., Rosales B. A. 1996.** Trophic ecology of the ocellated lizard *Lacerta lepida* in an arid zone of southern Spain: relationships with availability and daily activity of prey. *Journal of Arid Environments* **33**: 95-107.
- Hofer R., Ladurner H., Gattringer A., Wieser W. 1975.** Relationship between the temperature preferenda of fishes, amphibians and reptiles, and the substrate affinities of their trypsins. *Journal of Comparative Physiology* **99**: 345-355.
- Holmes D. S., Bonner J. 1973.** Preparation, molecular weight, base composition, and secondary structure of giant nuclear ribonucleic acid. *Biochemistry* **12**: 2330-2338.
- Housworth E. A., Martins E. P., Lynch M. 2004.** The phylogenetic mixed model *The American Naturalist* **163**: 84-96.
- Huchard E., Cowlshaw G., Raymond M., Weill M., Knapp L. 2006.** Molecular study of Mhc-DRB in wild chacma baboons reveals high variability and evidence for trans-species inheritance. *Immunogenetics* **58**: 805-816.
- Huelsenbeck J. P., Ronquist F. 2001.** MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* **17**: 754-755.
- Huey R. 1991.** Physiological consequences of habitat selection. *The American Naturalist* **137**: S91-S115.
- Huey R. B. 1974.** Behavioral thermoregulation in lizards: importance of associated costs. *Science* **184**: 1001-1003.
- Huey R. B. 1982.** Temperature, physiology, and the ecology of reptiles. Στο: *Biology of the Reptilia*. vol. 12: Physiology C, Physiological Ecology, Gans C. and Pough F. H., eds. New York: Academic Press. 25-91.
- Huey R. B., Peterson C. R., Arnold S. J., Porter W. P. 1989.** Hot rocks and not-so-hot rocks: retreat-site selection by garter snakes and its thermal consequences. *Ecology* **70**: 931-944.
- Huey R. B., Pianka E. R. 1981.** Ecological consequences of foraging mode. *Ecology* **62**: 991-999.
- Huey R. B., Slatkin M. 1976.** Cost and benefits of lizard thermoregulation. *The Quarterly Review of Biology* **51**: 363-384.
- Hughes A. L., Nei M. 1989.** Nucleotide substitution at major histocompatibility complex class II loci: evidence for overdominant selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **86**: 958-962.
- Hughes A. L., Yeager M. 1998a.** Natural selection and the evolutionary history of major histocompatibility complex loci. *Frontiers in Bioscience* **3**: d509-516.
- Hughes A. L., Yeager M. 1998b.** Natural selection at major histocompatibility complex loci of vertebrates. *Annual Review of Genetics* **32**: 415-435.
- Hughes P. D. 2004.** Quaternary Glaciation in the Pindus Mountains. Ph.D., Darwin College, University of Cambridge
- Husak J. F., Fox S. F., Lovern M. B., Van Den Bussche R. A. 2006.** Faster lizards sire more offspring: sexual selection on whole-animal performance. *Evolution* **60**: 2122-2130.
- Huse S., Huber J., Morrison H., Sogin M., Welch D. 2007.** Accuracy and quality of massively parallel DNA pyrosequencing. *Genome Biology* **8**: R143.

- Huyghe K., Herrel A., Adriaens D., Tadić Z., Van Damme R. 2009.** It is all in the head: Morphological basis for differences in bite force among colour morphs of the Dalmatian wall lizard. *Biological Journal of the Linnean Society* **96**: 13-22.
- Huyghe K., Herrel A., Vanhooydonck B., Meyers J. J., Irschick D. J. 2007.** Microhabitat use, diet, and performance data on the Hispaniolan twig anole, *Anolis sheplani*: Pushing the boundaries of morphospace. *Zoology* **110**: 2-8.
- Huyghe K., Oystaeyen A., Pasmans F., Tadić Z., Vanhooydonck B., Damme R. 2010.** Seasonal changes in parasite load and a cellular immune response in a colour polymorphic lizard. *Oecologia* **163**: 867-874.
- Ibargüengoytía N. R., Acosta J. C., Boretto J. M., Villavicencio H. J., Marinero J. A., Krenz J. D. 2008.** Field thermal biology in *Phymaturus* lizards: Comparisons from the Andes to the Patagonian steppe in Argentina. *Journal of Arid Environments* **72**: 1620-1630.
- Iglesias S., Tracy C. R., Bedford G. S., McWhorter T. J., Christian K. A. 2009.** Seasonal effects on intestinal enzyme activity in the Australian agamid lizard, *Lophognathus temporalis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* **153**: 89-94.
- Ilmonen P., Hasselquist D., Langefors A., Wiehn J. 2003.** Stress, immunocompetence and leukocyte profiles of pied flycatchers in relation to brood size manipulation. *Oecologia* **136**: 148-154.
- Ilmonen P., Taarna T., Hasselquist D. 2000.** Experimentally activated immune defence in female pied flycatchers results in reduced breeding success. *Proceedings of the Royal Society B* **267**: 665-670.
- Irschick D. J., Garland T. 2001.** Integrating function and ecology in studies of adaptation: investigations of locomotor capacity as a model system. *Annual Review of Ecology and Systematics* **32**: 367-396.
- Irschick D. J., Herrel A., Vanhooydonck B., Damme R. V. 2007.** A functional approach to sexual selection. *Functional Ecology* **21**: 621-626.
- Iverson J. B. 1982.** Adaptations to herbivory in iguanine lizards. Στο: *Iguanas of the World: their Behavior, Ecology and Conservation*. Burghardt G. M. and Rand A. S., eds. New Jersey: Noyes, Park Ridge. 60-76.
- Jaccard P. 1908.** Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bulletin de la Societe Vaudoise des Sciences Naturelles* **44**: 223-270.
- Jaeger R. G., Barnard D. E. 1981.** Foraging tactics of a terrestrial salamander: choice of diet in structurally simple environments *The American Naturalist* **117**: 639-664.
- James C. D. 1991.** Temporal variation in diets and trophic partitioning by coexisting lizards (*Ctenotus*: Scincidae) in central Australia. *Oecologia* **85**: 553-561.
- Janzen D. H. 1973.** Sweep samples of tropical foliage insects: description of study sites, with data on species abundances and size distributions. *Ecology* **54**: 659-686.
- Jaratlerdsiri W., Isberg S. R., Higgins D. P., Gongora J. 2012.** MHC class I of saltwater crocodiles (*Crocodylus porosus*): polymorphism and balancing selection. *Immunogenetics*: 1-14.

- Jaratlerdsiri W., Isberg S. R., Higgins D. P., Miles L. G., Gongora J. 2014.** Selection and trans-species polymorphism of major histocompatibility complex class II genes in the order crocodylia. *Plos One* **9**.
- Jarvi S. I., Atkinson C. T., Fleischer R. C. 2001.** Immunogenetics and resistance to avian malaria in Hawaiian honeycreepers (Drepanidinae). Στο: *Evolution, ecology, conservation, and management of Hawaiian birds: a vanishing avifauna*. vol. 22, Scott J. M., Conant S. and van Riper C., eds: Camarillo, CA: Cooper Ornithological Society. 254-263.
- Joger U., Amann T., Veith M. 2001.** Phylogeographie und genetische differenzierung im *Lacerta viridis/bilineata* komplex. *Mertensiella* **13**: 60-68.
- Johnson D. R. 1966.** Diet and estimated energy assimilation of three Colorado lizards. *American Midland Naturalist* **76**: 504-509.
- Johnson R. N., Lillywhite H. B. 1979.** Digestive efficiency of the omnivorous lizard *Klauberina riversiana*. *Copeia* **1979**: 431-437.
- Jones M. E. H. 2008.** Skull shape and feeding strategy in *Sphenodon* and other rhynchocephalia (Diapsida: Lepidosauria). *Journal of Morphology* **269**: 945-966.
- Kaliontzopoulou A., Adams D. C., van der Meijden A., Perera A., Carretero M. A. 2012.** Relationships between head morphology, bite performance and ecology in two species of *Podarcis* wall lizards. *Evolutionary Ecology* **26**: 825-845.
- Kaliontzopoulou A., Carretero M. A., Liorentel G. A. 2007.** Multivariate and geometric morphometrics in the analysis of sexual dimorphism variation in *Podarcis* lizards. *Journal of Morphology* **268**: 152-165.
- Kaliontzopoulou A., Carretero M. A., Llorente G. A. 2008.** Head shape allometry and proximate causes of head sexual dimorphism in *Podarcis* lizards: Joining linear and geometric morphometrics. *Biological Journal of the Linnean Society* **93**: 111-124.
- Kaliontzopoulou A., Carretero M. A., Llorente G. A. 2010a.** Intraspecific ecomorphological variation: Linear and geometric morphometrics reveal habitat-related patterns within *Podarcis bocagei* wall lizards. *Journal of Evolutionary Biology* **23**: 1234-1244.
- Kaliontzopoulou A., Carretero M. A., Llorente G. A. 2010b.** Sexual dimorphism in traits related to locomotion: Ontogenetic patterns of variation in *Podarcis* wall lizards. *Biological Journal of the Linnean Society* **99**: 530-543.
- Kalyabina S. A., Milto K. D., Ananjeva N. B., Legal L., Joger U., Wink M. 2001.** Phylogeography and systematics of *Lacerta agilis* based on mitochondrial cytochrome b gene sequences: first results. *Russian Journal of Herpetology* **8**: 149-158.
- Kapli P., Botoni D., Ilgaz Ç., Kumlutaş Y., Avcı A., Rastegar-Pouyani N., Fathinia B., Lymberakis P., Ahmadzadeh F., Poulakakis N. 2013.** Molecular phylogeny and historical biogeography of the Anatolian lizard *Apathya* (Squamata, Lacertidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **66**: 992-1001.
- 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.
- Karasov W. H. 1986.** Energetics, physiology and vertebrate ecology. *Trends in Ecology & Evolution* **1**: 101-104.
- Karasov W. H. 1996.** Digestive plasticity in avian energetics and feeding ecology. Στο: *Avian Energetics and Nutritional Ecology*. Carey C., ed. New York: Chapman & Hall. 61-84.
- Karasov W. H., Martinez Del Rio C. 2007.** *Physiological ecology: How animals process energy, nutrients, and toxins*. Princeton University Press: New Jersey, US.
- Karasov W. H., Martínez Del Rio C., Caviedes-Vidal E. 2011.** Ecological physiology of diet and digestive systems. *Annual Review of Physiology* **73**: 69-93.
- Karasov W. H., Petrossian E., Rosenberg L., Diamond J. M. 1986.** How do food passage rate and assimilation differ between herbivorous lizards and nonruminant mammals? *Journal of Comparative Physiology B* **156**: 599-609.
- Kasapidis P., Magoulas A., Mylonas M., Zouros E. 2005a.** The phylogeography of the gecko *Cyrtopodion kotschy* (Reptilia: Gekkonidae) in the Aegean archipelago. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **35**: 612-623.
- Kasapidis P., Suchentrunk F., Magoulas A., Kotoulas G. 2005b.** The shaping of mitochondrial DNA phylogeographic patterns of the brown hare (*Lepus europaeus*) under the combined influence of Late Pleistocene climatic fluctuations and anthropogenic translocations. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **34**: 55-66.
- Kaufman J., Milne S., Göbel T. W. F., Walker B. A., Jacob J. P., Auffray C., Zoorob R., Beck S. 1999.** The chicken B locus is a minimal essential major histocompatibility complex. *Nature* **401**: 923-925.
- Kaunisto K. M., Suhonen J. 2013.** Parasite burden and the insect immune response: Interpopulation comparison. *Parasitology* **140**: 87-94.
- Keller M., Vassilakaki M. 2002.** Differenzierungsmuster bei Smaragdeidechsen (*Lacerta bilineata* und *L. viridis*) aus Italien und Griechenland: erste Ergebnisse, multivarianter Analysen von Pholidosemerkmalen. *Mertensiella* **13**: 69-77.
- Kennedy M. W., Nager R. G. 2006.** The perils and prospects of using phytohaemagglutinin in evolutionary ecology. *Trends in Ecology & Evolution* **21**: 653-655.
- Ketterson E. D., Nolan J. V. 1999.** Adaptation, exaptation, and constraint: a hormonal perspective. *The American Naturalist* **154**: S4-S25.
- Khokhlova I. S., Krasnov B. R., Kam M., Burdelova N. I., Degen A. A. 2002.** Energy cost of ectoparasitism: the flea *Xenopsylla ramesis* on the desert gerbil *Gerbillus dasyurus*. *Journal of Zoology* **258**: 349-354.
- Kiefer M. C., Sluys M. V., Rocha C. F. D. 2005.** Body temperatures of *Tropidurus torquatus* (Squamata, Tropiduridae) from coastal populations: Do body temperatures vary along their geographic range? *Journal of Thermal Biology* **30**: 449-456.
- Kimura M. 1981.** Estimation of evolutionary distances between homologous nucleotide sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **78**: 454-458.

- Kimura M. 1983.** *The neutral theory of molecular evolution*. Cambridge University Press: New York.
- King G. 1996.** Reptiles and Herbivory. London: Chapman and Hall.
- Kingsbury B. A. 1994.** Thermal constraints and eurythermy in the lizard *Elgaria multicarinata*. *Herpetologica* **50**: 266-273.
- Kingsolver J. G., Huey R. B. 2003.** Introduction: the evolution of morphology, performance, and fitness. *Integrative and Comparative Biology* **43**: 361-366.
- Klasing K. C. 1988.** Nutritional aspects of leukocytic cytokines. *The Journal of Nutrition* **118**: 1436-1446.
- Klasing K. C. 1998.** Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. *Poultry Science* **77**: 1119-1125.
- Klasing K. C., Laurin D. E., Peng R. K., Fry D. M. 1987.** Immunologically mediated growth depression in chicks: influence of feed intake, corticosterone and interleukin-1. *The Journal of Nutrition* **117**: 1629-1637.
- Klein J. 1980.** Generation of diversity at MHC loci: implications for T cell receptor repertoires. Στο: *Immunology*. vol. 80, Fougerau M. and Dausset J., eds. London.: Academic Press. 239-253.
- Klein J. 1986.** *Natural history of the major histocompatibility complex*. John Wiley and sons: New York.
- Klein J. 1989.** The MHC trans-species hypothesis: In the discussion period. *Immunology*: 36-39.
- Klein J., Figueroa F. 1986.** Evolution of the major histocompatibility complex. *Critical reviews in immunology* **6**: 295-386.
- Klein J., Sato A., Nagl S., O'hUigin C. 1998.** Molecular trans-species polymorphism. *Annual Review of Ecology and Systematics* **29**: 1-21.
- Klein J., Sato A., Nikolaidis N. 2007.** MHC, TSP, and the origin of species: From immunogenetics to evolutionary genetics. 281-304.
- Klingenberg C. P. 2010.** Evolution and development of shape: integrating quantitative approaches. *Nature Reviews Genetics* **11**: 623-635.
- Klingenberg C. P. 2011.** MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* **11**: 353-357.
- Klingenberg C. P., Barluenga M., Meyer A. 2002.** Shape analysis of symmetric structures: quantifying variation among individuals and asymmetry. *Evolution* **56**: 1909-1920.
- Klingenberg C. P., McIntyre G. S. 1998.** Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. *Evolution* **52**: 1363-1375.
- Kloch A., Babik W., Bajer A., Siński E., Radwan J. 2010.** Effects of an MHC-DRB genotype and allele number on the load of gut parasites in the bank vole *Myodes glareolus*. *Molecular Ecology* **19**: 255-265.
- Klossa-Kilia E., Kiliass G., Tryfonopoulos G., Koukou K., Sfenthourakis S., Parmakelis A. 2006.** Molecular phylogeny of the Greek populations of the genus *Ligidium* (Isopoda, Oniscidea) using three mtDNA gene segments. *Zoologica Scripta* **35**: 459-472.

- Knowles L. L., Maddison W. P. 2002.** Statistical phylogeography. *Molecular Ecology* **11**: 2623-2635.
- Kohl K., Brzek P., Caviedes-Vidal E., Karasov W. H. 2010.** Matching between dietary preferences and digestive capacity in passerine birds. *Integrative and Comparative Biology* **50**(Suppl. 1): e92.
- Kohlsdorf T., Grizante M. B., Navas C. A., Herrel A. 2008.** Head shape evolution in Tropidurinae lizards: does locomotion constrain diet? *Journal of Evolutionary Biology* **21**: 781-790.
- Kornilios P., Ilgaz Ç., Kumlutaş Y., Giokas S., Fraguedakis-Tsolis S., Chondropoulos B. 2011.** The role of Anatolian refugia in herpetofaunal diversity: An mtDNA analysis of *Typhlops vermicularis* Merrem, 1820 (Squamata, Typhlopidae). *Amphibia-Reptilia* **32**: 351-363.
- Kornilios P., Ilgaz Ç., Kumlutaş Y., Lymberakis P., Moravec J., Sindaco R., Rastegar-Pouyani N., Afroosheh M., Giokas S., Fraguedakis-Tsolis S., Chondropoulos B. 2012.** Neogene climatic oscillations shape the biogeography and evolutionary history of the Eurasian blindsnake. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **62**: 856-873.
- Kornilios P., Poulakakis N., Mylonas M., Vardinoyannis K. 2009.** The phylogeny and biogeography of the genus *Zonites* Montfort, 1810 (Gastropoda: Pulmonata): preliminary evidence from mitochondrial data. *Journal of Molluscan Studies* **75**: 109-117.
- Koshev Y. S. 2010.** Interspecific aggressive behaviour of european ground squirrel (*Spermophilus citellus l.*). *Biotechnology & Biotechnological Equipment* **24**: 671-674.
- Košmrlj A., Read E. L., Qi Y., Allen T. M., Altfeld M., Deeks S. G., Pereyra F., Carrington M., Walker B. D., Chakraborty A. K. 2011.** Effects of thymic selection of the T-cell repertoire on HLA class I-associated control of HIV infection. *Nature* **465**: 350-354.
- Kotini-Zabaka S. 1983.** Contribution to the study of the climate of Greece PhD thesis, University of Thessaloniki.
- Kotsakiozi P., Parmakelis A., Aggeli I.-K., Gaitanaki C., Giokas S., Valakos E. D. 2014.** Water balance and expression of heat-shock protein 70 in *Codringtonia* species: A study within a phylogenetic framework. *Journal of Molluscan Studies*: 1-13.
- Kotsakiozi P., Parmakelis A., Giokas S., Papanikolaou I., Valakos E. D. 2012.** Mitochondrial phylogeny and biogeographic history of the Greek endemic land-snail genus *Codringtonia* Kobelt 1898 (Gastropoda, Pulmonata, Helicidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **62**: 681-692.
- Krebs C. J. 1998.** *Ecological Methodology*. Harper Collins: New York, NY.
- Krebs H. A. 1975.** The August Krogh principle: "For many problems there is an animal on which it can be most conveniently studied". *Journal of Experimental Zoology* **194**: 221-226.
- Kroemer G., Martínez C. 1992.** Mechanisms of self tolerance. *Immunology Today* **13**: 401-404.

- Krogh A. 1929.** The progress of physiology. *American Journal of Physiology* **90**: 243-251.
- Kumar S., Tamura K., Nei M. 2004.** MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* **5**: 150-163.
- Kuo C.-C., Yao C.-J., Lin T.-E., Liu H.-C., Hsu Y.-C., Hsieh M.-K., Huang W.-S. 2013.** Tail loss compromises immunity in the many-lined skink, *Eutropis multifasciata*. *Naturwissenschaften* **100**: 379-384.
- Kwiatkowski M. A., Sullivan B. K. 2002.** Geographic variation in sexual selection among populations of an iguanid lizard, *Sauromalus obesus* (=ater). *Evolution* **56**: 2039-2051.
- Kyriazi P., Kornilios P., Nagy Z. T., Poulakakis N., Kumlutaş Y., Ilgaz Ç., Avcı A., Göçmen B., Lymberakis P. 2013.** Comparative phylogeography reveals distinct colonization patterns of Cretan snakes. *Journal of Biogeography* **40**: 1143-1155.
- 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.
- Lamb T., Bauer A. M. 2006.** Footprints in the sand: independent reduction of subdigital lamellae in the Namib–Kalahari burrowing geckos. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **273**: 855-864.
- Landry C., Garant D., Duchesne P., Bernatchez L. 2001.** ‘Good genes as heterozygosity’: the major histocompatibility complex and mate choice in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **268**: 1279-1285.
- Lanförs Å., von Schantz T., Widegren B. 1998.** Allelic variation of MHC class II in Atlantic Salmon; a population genetic analysis. *Heredity* **80**: 568-575.
- Lappin A. K., Hamilton P. S., Sullivan B. K. 2006.** Bite-force performance and head shape in a sexually dimorphic crevice-dwelling lizard, the common chuckwalla [*Sauromalus ater* (=obesus)]. *Biological Journal of the Linnean Society* **88**: 215-222.
- Lappin A. K., Husak J. F. 2005.** Weapon performance, not size, determines mating success and potential reproductive output in the collared lizard (*Crotaphytus collaris*). *The American Naturalist* **166**: 426-436.
- Laverty T. M., Dobson A. P. 2013.** Dietary overlap between black caimans and spectacled caimans in the Peruvian Amazon. *Herpetologica* **69**: 91-101.
- Layne E. 1957.** Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. *Methods in Enzymology* **10**: 447-455.
- Lazzaro B. P., Flores H. A., Lorigan J. G., Yourth C. P. 2008.** Genotype-by-environment interactions and adaptation to local temperature affect immunity and fecundity in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Pathog* **4**: e1000025.
- Lazzaro B. P., Little T. J. 2009.** Immunity in a variable world. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* **364**: 15-26.

- Lee K. A., Martin L. B. I., Hasselquist D., Ricklefs R. E., Wikelski M. 2006.** Contrasting adaptive immune defenses and blood parasite prevalence in closely related *Passer* sparrows. *Oecologia* **150**: 383-392.
- Leigh E. G. J., Hladik A., Hladik C. M., Jolly A. 2007.** The biogeography of large islands, or how does the size of the ecological theater affect the evolutionary play? *Revue d'Écologie* **62**: 105-168.
- Lenz T. L., Becker S. 2008.** Simple approach to reduce PCR artefact formation leads to reliable genotyping of MHC and other highly polymorphic loci - Implications for evolutionary analysis. *Gene* **427**: 117-123.
- Librado P., Rozas J. 2009.** DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* **25**: 1451-1452.
- Licht P., Dawson W. R., Shoemaker V. H., Main A. R. 1966.** Observations on the thermal relations of western Australian lizards. *Copeia*: 97-110.
- Lightbody J., Bernoco D., Miggiano V. C., Ceppellini R. 1971.** Cell mediated lympholysis in man after sensitization of effector lymphocytes through mixed leukocyte cultures. *Giornale di batteriologia, virologia, ed immunologia* **64**: 243-254.
- Lillywhite H. B. 1987.** Temperature, energetics, and physiological ecology. Στο: *Snakes: Ecology and evolutionary biology*. Siegel R. A., Collins J. T. and Novak S. S., eds. New York: McGraw-Hill. 422-477.
- Limaye N., Belobrajdic K. A., Wandstrat A. E., Bonhomme F., Edwards S. V., Wakeland E. K. 2008.** Prevalence and evolutionary origins of autoimmune susceptibility alleles in natural mouse populations. *Genes and Immunity* **9**: 61-68.
- Lind C., Ferriola D., Mackiewicz K., Heron S., Rogers M., Slavich L., Walker R., Hsiao T., McLaughlin L., D'Arcy M., Gai X., Goodridge D., Sayer D., Monos D. 2010.** Next-generation sequencing: the solution for high-resolution, unambiguous human leukocyte antigen typing. *Human Immunology* **71**: 1033-1042.
- Linder J. E., Owers K. A., Promislow D. E. L. 2008.** The effects of temperature on host-pathogen interactions in *D. melanogaster*: Who benefits? *Journal of Insect Physiology* **54**: 297-308.
- Lindström K. M., Foufopoulos J., Pärn H., Wikelski M. 2004.** Immunological investments reflect parasite abundance in island populations of Darwin's finches. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **271**: 1513-1519.
- Llorente M., Pérez-Mellado V. 1988.** Alimentación de *Lacerta schreiberi* Bedriaga, 1878 (Sauria: Lacertidae) en el Sistema Central. *Revista Española de Herpetología* **3**: 133-141.
- Lo Cascio P., Luiselli L., Corti C. 2006.** Preliminary data on the ecology of *Podarcis filfolensis* of Lampione islet (Pelagian Islands, Channel of Sicily, Italy). Στο: *Mainland and insular lacertid lizards: a Mediterranean Perspective*. Corti C., Lo Cascio P. and Biaggini M., eds. Firenze: Firenze University Press. 103-110.
- Lochmiller R. L., Deerenberg C. 2000.** Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? *Oikos* **88**: 87-98.

- Lochmiller R. L., Vestey M. R., Boren J. C. 1993.** Relationship between protein nutritional status and immunocompetence in northern bobwhite chicks. *The Auk* **110**: 503-510.
- Lohm J., Grahn M., Langefors Å., Andersen Ø., Storset A., Von Schantz T. 2002.** Experimental evidence for major histocompatibility complex-allele-specific resistance to a bacterial infection. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **269**: 2029-2033.
- Lomolino M. V. 2005.** Body size evolution in insular vertebrates: generality of the island rule. *Journal of Biogeography* **32**: 1683-1699.
- Longeri M., Zanotti M., Damiani G. 2002.** Recombinant DRB sequences produced by mismatch repair of heteroduplexes during cloning in *Escherichia coli*. *European Journal of Immunogenetics* **29**: 517-523.
- López P., Martín J. 2005.** Female Iberian wall lizards prefer male scents that signal a better cell-mediated immune response. *Biology Letters* **1**: 404-406.
- Lopez P., Martin J., Cuadrado M. 2004.** The role of lateral blue spots in intrasexual relationships between male Iberian rock-lizards, *Lacerta monticola*. *Ethology* **110**: 543-561.
- Losos J. B. 2009.** *Lizards in an evolutionary tree: Ecology and adaptive radiation of Anoles*. University of California Press: Harvard.
- Losos J. B., Butler M. A., Schoener T. W. 2003.** Sexual dimorphism in body size and shape in relation to habitat use among species of Caribbean *Anolis* lizards. Στο: *Lizard social behaviour*. Fox S. F., McCoy J. K. and Baird T. A., eds. Baltimore: John Hopkins University Press. 356-380.
- Losos J. B., Warheitt K. I., Schoener T. W. 1997.** Adaptive differentiation following experimental island. *Nature* **387**: 70-73.
- Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. 1951.** Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* **193**: 265-275.
- Luiselli L., Agrimi U. 1991.** Composition and variation of the diet of *Vipera aspis francisciredi* in relation to age and reproductive stage. *Amphibia-Reptilia* **12**: 137-144.
- Luo M. F., Pan H. J. 2013.** MHC II DRB variation and trans-species polymorphism in the golden snub-nosed monkey (*Rhinopithecus roxellana*). *Chinese Science Bulletin* **58**: 2119-2127.
- Lutterschmidt W. I., Reinert H. K. 2012.** Modeling body temperature and thermal inertia of large-bodied reptiles: Support for water-filled biophysical models in radiotelemetric studies. *Journal of Thermal Biology* **37**: 282-285.
- Lutz D., Bischoff W., Mayer W. 1986.** Chemosystematische Untersuchungen zur Stellung von *Lacerta jayakari* Boulenger, 1887 sowie der Gattungen *Gallotia* Boulenger und *Psammmodromus* Fitzinger (Sauria; Lacertidae). *Zeitschrift für Zoologische Systematik und Evolutionsforschung* **2**: 144-157.
- Lutz D., Mayer W. 1985.** Albumin evolution and its phylogenetic and taxonomic implications in several Lacertid lizards. *Amphibia-Reptilia* **6**: 53-61.
- 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.
- MacArthur R. H., Wilson E. O. 1967.** *The theory of island biogeography*. Princeton University Press: Princeton, NJ.
- Madsen T., Ujvari B. 2006.** MHC class I variation associates with parasite resistance and longevity in tropical pythons. *Journal of Evolutionary Biology* **19**: 1973-1978.
- Magnusson W. E., Paiva L. J. d., Rocha R. M. d., Franke C. R., Kasper L. A., Lima A. P. 1985.** The correlates of foraging mode in a community of Brazilian lizards. *Herpetologica* **41**: 324-332.
- Magurran A. 1988.** *Ecological diversity and its measurement* Princeton University Press: Princeton, New Jersey.
- Mahler D. L., Revell L. J., Glor R. E., Losos J. B. 2010.** Ecological opportunity and the rate of morphological evolution in the diversification of greater antillean anoles. *Evolution* **64**: 2731-2745.
- Main A. R., Bull C. M. 2000.** The impact of tick parasites on the behaviour of the lizard *Tiliqua rugosa*. *Oecologia* **122**: 574-581.
- Mangi R. J., Kantor F. S. 1975.** The multiple mixed lymphocyte reaction: variables important in the test as a measure of lymphocyte competence in man. *Yale Journal of Biology and Medicine* **48**: 217-228.
- Manjerovic M. B., Waterman J. M. 2012.** Immunological sex differences in socially promiscuous african ground squirrels. *PLoS ONE* **7**.
- Maragou P., Valakos E. D., Chondropoulos B. 1997.** Comparative ecology of two sympatric lizard species, *Lacerta graeca* and *Podarcis peloponnesiaca* (Sauria: Lacertidae) endemic to Peloponnisos (Greece). Στο: *Herpetologia Bonnensis*. Boehme W., Bischoff W. and Ziegler T., eds. Bonn. 265-271.
- Maragou P., Valakos E. D., Giannopoulos Z., Stavropoulou A., Chondropoulos B. 1996.** Spring aspect of feeding ecology in *Podarcis peloponnesiaca* (Bibron & Bory, 1933). *Herpetozoa* **9**: 105-110.
- Margulies M., Egholm M., Altman W. E., Attiya S., Bader J. S., Bembien L. A., Berka J., Braverman M. S., Chen Y.-J., Chen Z., Dewell S. B., Du L., Fierro J. M., Gomes X. V., Godwin B. C., He W., Helgesen S., Ho C. H., Irzyk G. P., Jando S. C., Alenquer M. L. I., Jarvie T. P., Jirage K. B., Kim J.-B., Knight J. R., Lanza J. R., Leamon J. H., Lefkowitz S. M., Lei M., Li J., Lohman K. L., Lu H., Makhijani V. B., McDade K. E., McKenna M. P., Myers E. W., Nickerson E., Nobile J. R., Plant R., Puc B. P., Ronan M. T., Roth G. T., Sarkis G. J., Simons J. F., Simpson J. W., Srinivasan M., Tartaro K. R., Tomasz A., Vogt K. A., Volkmer G. A., Wang S. H., Wang Y., Weiner M. P., Yu P., Begley R. F., Rothberg J. M. 2005.** Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature* **437**: 376-380.
- Marsh J. A. 1996.** The integration of the neuroendocrine and immune systems: a marriage of convenience or necessity. Στο: *Poultry Immunology*. Davison T. F., Morris T. R. and Payne L. V., eds: Abingdon: Carfax. 357-374.

- Marsh J. A., Combs G. F. J., Whitacre M. E., Dietert R. R. 1986.** Effect of selenium and vitamin E dietary deficiencies on chick lymphoid organ development. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **182**: 425-436.
- Martin C. J. 1903.** Thermal adjustment and respiratory exchange in monotremes and marsupials. A study in the development of homoeothermism. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B Biological Sciences* **195**: 1-37.
- Martín J., Salvador A. 1995.** Effects of tail loss on activity patterns of rock lizards, *Lacerta monticola*. *Copeia* **1995**: 984-988.
- Martin L. B., Han P., Lewittes J., Kuhlman J. R., Klasing K. C., Wikelski M. 2006.** Phytohemagglutinin-induced skin swelling in birds: histological support for a classic immunoecological technique. *Functional Ecology* **20**: 290-299.
- Martin L. B., Scheuerlein A., Wikelski M. 2002.** Immune activity elevates energy expenditure of house sparrows: a link between direct and indirect costs? *Proceedings of the Royal Society B* **270**: 153-158.
- Martínez del Río C., Stevens B. R. 1988.** Intestinal brush border membrane-bound disaccharidases of the American alligator, *Alligator mississippiensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* **91**: 751-754.
- Mateo J. A., Lopez-Jurado L. F. 1992.** Study of dentition in lizards from Gran Canaria Island (Canary Islands) and its ecological and evolutionary significance. *Biological Journal of the Linnean Society* **46**: 39-48.
- Matson K. D. 2006.** Are there differences in immune function between continental and insular birds? *Proceedings of the Royal Society B* **273**: 2267-2274.
- Matthews B., Harmon L. J., M'Gonigle L., Marchinko K. B., Schaschl H. 2010.** Sympatric and allopatric divergence of MHC genes in threespine stickleback. *Plos One* **5**: e10948.
- Mayer W., Beyerlein P. 2002.** Genetische Differenzierung des *Lacerta viridis/bilineata* Komplexes und von *Lacerta trilineata* in Griechenland: Mitochondriale DNA-Sequenzen. *Mertensiella* **13**: 52-59.
- Mayer W., Tiedemann F. 1982.** Chemotaxonomical investigations in the collective genus *Lacerta* (Sauria, Lacertidae) by means of protein electrophoresis. *Amphibia-Reptilia* **2**: 349-355.
- McBee R. H. 1971.** Significance of the intestinal microflora in herbivory. *Annual Review of Ecology and Systematics* **2**: 165-176.
- McBrayer L. D. 2004.** The relationship between skull morphology, biting performance and foraging mode in Kalahari lacertid lizards. *Zoological Journal of the Linnean Society* **140**: 403-416.
- McBrayer L. D., Anderson R. A. 2007.** Sexual size dimorphisms and bite force in the northern alligator lizard, *Elgaria coerulea*. *Journal of Herpetology* **41**: 554-559.
- McClelland E. E., Penn D. J., Potts W. K. 2003.** Major histocompatibility complex heterozygote superiority during coinfection. *Infection and Immunity* **71**: 2079-2086.
- McConnachie S., Alexander G. J. 2004.** The effect of temperature on digestive and assimilation efficiency, gut passage time and appetite in an ambush foraging lizard,

- Cordylus melanotus melanotus*. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* **174**: 99-105.
- McCorkle F., Olah I., Glick B. 1980.** The morphology of the phytohemagglutinin-induced cell response in the chicken's wattle. *Poultry Science* **59**: 616-623.
- McDonald P. R., Edwards A., Greenhalgh J. F. D. 1966.** *Animal nutrition*. Oliver and Boyd: London.
- McElroy E. J., Bergmann P. J. 2013.** Tail autotomy, tail size, and locomotor performance in lizards. *Physiological and Biochemical Zoology* **86**: 669-679.
- McKinon W., Alexander G. J. 1999.** Is temperature independence of digestive efficiency an experimental artefact in lizards? A test using the common flat lizard (*Platysaurus intermedius*). *Copeia* **1999**: 299-303.
- Medina M., Gutierrez J., Sclaro A., Ibargüengoytia N. 2009.** Thermal responses to environmental constraints in two populations of the oviparous lizard *Liolaemus bibronii* in Patagonia, Argentina. *Journal of Thermal Biology* **34**: 32-40.
- Meiri S. 2007.** Size evolution in island lizards. *Global Ecology and Biogeography* **16**: 702-708.
- Meiri S., Bauer A. M., Chirio L., Colli G. R., Das I., Doan T. M., Feldman A., Herrera F.-C., Novosolov M., Pafilis P., Pincheira-Donoso D., Powney G., Torres-Carvajal O., Uetz P., Van Damme R. 2013.** Are lizards feeling the heat? A tale of ecology and evolution under two temperatures. *Global Ecology and Biogeography* **22**: 834-845.
- Meiri S., Cooper N., Purvis A. 2008.** The island rule: made to be broken? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **275**: 141-148.
- Meiri S., Raia P., Phillimore A. B. 2011.** Slaying dragons: limited evidence for unusual body size evolution on islands. *Journal of Biogeography* **38**: 89-100.
- Meiri S., Simberloff D., Dayan T. 2005.** Insular carnivore biogeography: island area and mammalian optimal body size. *The American Naturalist* **165**: 505-514.
- Messaoudi I., Patiño J. A. G., Dyal R., LeMaout J., Nikolich-Žugich J. 2002.** Direct link between MHC polymorphism, T cell avidity, and diversity in immune defense. *Science* **298**: 1797-1800.
- Meulenkamp J. E. 1985.** Aspects of the Late Cenozoic Evolution of the Aegean Region. Στο: *Geological evolution of the Mediterranean Basin*. Stanley D. J. and Wezel F. C., eds. New York: Springer. 307-321.
- Meulenkamp J. E., van der Zwaan G. J., van Wamel W. A. 1994.** On late miocene to recent vertical motions in the Cretan segment of the Hellenic arc. *Tectonophysics* **234**: 53-72.
- Meulenkamp J. E., Wortel M. J. R., van Wamel W. A., Spakman W., Hoogerduyn Strating E. 1988.** On the Hellenic subduction zone and the geodynamic evolution of Crete since the late Middle Miocene. *Tectonophysics* **146**: 203-215.
- Meyer D., Thomson G. 2001.** How selection shapes variation of the human major histocompatibility complex: a review. *Annals of Human Genetics* **65**: 1-26.
- Meyer M., Stenzel U., Hofreiter M. 2008.** Parallel tagged sequencing on the 454 platform. *Nature Protocols* **3**: 267-278.

- Milinski M. 2006.** The Major Histocompatibility Complex, Sexual Selection, and Mate Choice. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **37**: 159-186.
- Miller H., Lambert D. 2004a.** Gene duplication and gene conversion in class II MHC genes of New Zealand robins (Petroicidae). *Immunogenetics* **56**: 178-191.
- Miller H. C., Allendorf F., Daugherty C. H. 2010.** Genetic diversity and differentiation at MHC genes in island populations of tuatara (Sphenodon spp.). *Molecular Ecology* **19**: 3894-3908.
- Miller H. C., Belov K., Daugherty C. H. 2006.** MHC Class I Genes in the Tuatara (Sphenodon spp.): Evolution of the MHC in an Ancient Reptilian Order. *Molecular Biology and Evolution* **23**: 949-956.
- Miller H. C., Lambert D. M. 2004b.** Genetic drift outweighs balancing selection in shaping post-bottleneck major histocompatibility complex variation in New Zealand robins (Petroicidae). *Molecular Ecology* **13**: 3709-3721.
- Miller H. C., Miller K. A., Daugherty C. H. 2008.** Reduced MHC variation in a threatened tuatara species. *Animal Conservation* **11**: 206-214.
- Miller K. M., Kaukinen K. H., Beacham T. D., Withler R. E. 2001.** Geographic heterogeneity in natural selection on an MHC locus in sockeye salmon. *Genetica* **111**: 237-257.
- Milstead M. 1967.** *Lizard ecology: A symposium*. University of Missouri Press: Columbia.
- Minnich J. E. 1982.** The use of water. Στο: *Biology of the Reptilia*. vol. 12: Physiology C, Physiological Ecology, Gans C. and Pough F. H., eds. London, UK: Academic Press. 325-395.
- Møller A. P., Martín-Vivaldi M., Soler J. J. 2004.** Parasitism, host immune defence and dispersal. *Journal of Evolutionary Biology* **17**: 603-612.
- Mollov I., Boyadzhiev P., Donev A. 2012.** Trophic niche breadth and niche overlap between two lacertid lizards (Reptilia: Lacertidae) from south Bulgaria. *Acta Zoologica Bulgarica Suppl.* **4**: 129-136.
- Mollov I., Petrova S. 2013.** A contribution to the knowledge of the trophic spectrum of three lacertid lizards from Bulgaria *Journal of BioScience and Biotechnology* **2**: 57-62.
- Monti D. M., Raia P., Vroonen J., Maselli V., Van Damme R., Fulgione D. 2013.** Physiological change in an insular lizard population confirms the reversed island syndrome. *Biological Journal of the Linnean Society* **108**: 144-150.
- Moreira P., López P., Martín J. 2006.** Femoral secretions and copulatory plugs convey chemical information about male identity and dominance status in Iberian rock lizards (*Lacerta monticola*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* **60**: 166-174.
- Morrison L. A., Lukacher A. E., Braciale V. L., Fan D. P., Braciale T. J. 1986.** Differences in antigen presentation to MHC class I-and class II-restricted influenza virus-specific cytolytic T lymphocyte clones. *The Journal of experimental medicine* **163**: 903-921.
- Mosauer W. 1936.** The toleration of solar heat in desert reptiles. *Ecology* **17**: 56-66.
- Mosimann J. E. 1970.** Size and shape variables with characterizations of the lognormal and generalized gamma distributions. *Journal of the American Statistical Association* **65**: 930-945.

- Mueller C. F. 1970.** Energy utilization in the lizards *Sceloporus graciosus* and *S. occidentalis*. *Journal of Herpetology* **4**: 131-134.
- Mylonas M. 1999.** The waves of evolution *8th International Congress on the Zoogeography and Ecology of Greece and Adjacent regions*. Kavala, May 1999.
- Nadachowska-Brzyska K., Zieliński P., Radwan J., Babik W. 2012.** Interspecific hybridization increases MHC class II diversity in two sister species of newts. *Molecular Ecology* **21**: 887-906.
- Nagy K., Milton K. 1979.** Aspects of dietary quality, nutrient assimilation and water balance in wild howler monkeys (*Alouatta palliata*). *Oecologia* **39**: 249-258.
- Nagy K. A., Girard I. A., Brown T. K. 1999.** Energetics of free-ranging mammals, reptiles, and birds. *Annual Review of Nutrition* **19**: 247-277.
- Natusch D. J. D., Lyons J. A. 2012.** Relationships between ontogenetic changes in prey selection, head shape, sexual maturity, and colour in an Australasian python (*Morelia viridis*). *Biological Journal of the Linnean Society* **107**: 269-276.
- Naya D. E., Veloso C., Sabat P., Bozinovic F. 2009.** Seasonal flexibility of organ mass and intestinal function for the Andean lizard *Liolaemus nigroviridis*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology* **311A**: 270-277.
- Naya D. E., Veloso C., Sabat P., Bozinovic F. 2011.** Physiological flexibility and climate change: The case of digestive function regulation in lizards. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* **159**: 100-104.
- Nei M., Gojobori T. 1986.** Simple methods for estimating the numbers of synonymous and nonsynonymous nucleotide substitutions. *Molecular Biology and Evolution* **3**: 418-426.
- Nei M., Kumar S. 2000.** *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press: New York.
- Nei M., Li W.-H. 1975.** Probability of identical monomorphism in related species. *Genetics Research* **26**: 31-43.
- Nei M., Maruyama T., Chakraborty R. 1975.** The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution* **29**: 1-10.
- Nemes S. 2002.** Foraging mode of the sand lizard, *Lacerta agilis*, at the beginning of its yearly activity period. *Russian Journal of Herpetology* **9**: 57-62.
- Nettman H. K. 2001.** Die Smaragdeidechsen (*Lacerta* s. str.) – Eine Übersicht über Verwandtschaft und Formenvielfalt. *Mertensiella* **13**: 11-32.
- Nettmann H. K., Rykena S. 1984.** *Lacerta trilineata* (Bedriaga, 1886) - Riesensmaragdeidechse [Balkan green lizard]. Στο: *Handbuch der Reptilien und Amphibien Europas, Echsen (Sauria) II*. Böhme W., ed. German: Wiesbaden: AULA-Verlag. 100-128.
- Nieto F. G. 2011.** Southern European glacial refugia: A tale of tales. *Taxon* **60**: 365-372.
- Niskanen A. K., Kennedy L. J., Ruokonen M., Kojola I., Lohi H., Isomursu M., Jansson E., Pyhäjärvi T., Aspi J. 2014.** Balancing selection and heterozygote advantage in major histocompatibility complex loci of the bottlenecked Finnish wolf population. *Molecular Ecology* **23**: 875-889.

- Norris K., Evans M. R. 2000. Ecological immunology: life history trade-offs and immune defense in birds. *Behavioral Ecology* **11**: 19-26.
- Novosolov M., Raia P., Meiri S. 2013. The island syndrome in lizards. *Global Ecology and Biogeography* **22**: 184-191.
- Nowak M. A., Tarczy-Hornoch K., Austyn J. M. 1992. The optimal number of major histocompatibility complex molecules in an individual. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **89**: 10896-10899.
- Oliver M. K., Piertney S. B. 2012. Selection maintains MHC diversity through a natural population bottleneck. *Molecular Biology and Evolution* **29**: 1713-1720.
- Olsson M., Madsen T., Wapstra E., Silverin B., Ujvari B., Wittzell H. 2004. MHC, health, color, and reproductive success in sand lizards. *Behavior Ecology Sociobiology* **58**: 289-294.
- Oppliger A., Clobert J. 1997. Reduced tail regeneration in the common lizard, *Lacerta vivipara*, parasitized by blood parasites. *Functional Ecology* **11**: 652-655.
- Oppliger A., Giorgi M. S., Conelli A., Nembrini M., John-Alder H. B. 2004. Effect of testosterone on immunocompetence, parasite load, and metabolism in the common wall lizard (*Podarcis muralis*). *Canadian Journal of Zoology* **82**: 1713-1719.
- Osborne A. J., Zavodna M., Chilvers B. L., Robertson B. C., Negro S. S., Kennedy M. A., Gemmell N. J. 2013. Extensive variation at MHC DRB in the New Zealand sea lion (*Phocarcos hookeri*) provides evidence for balancing selection. *Heredity* **111**: 44-56.
- Otting N., Heijmans C. M. C., Noort R. C., de Groot N. G., Doxiadis G. G. M., van Rood J. J., Watkins D. I., Bontrop R. E. 2005. Unparalleled complexity of the MHC class I region in rhesus macaques. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**: 1626-1631.
- Owen-Ashley N. T., Hasselquist D., Wingfield J. C. 2004. Androgens and the immunocompetence handicap hypothesis: unraveling direct and indirect pathways of immunosuppression in song sparrows. *The American Naturalist* **164**: 490-505.
- Pafilis P., Anastasiou I., Sagonas K., Valakos E. D. 2013. Grazing by goats on islands affects the populations of an endemic Mediterranean lizard. *Journal of Zoology* **290**: 255-264.
- Pafilis P., Foufopoulos J., Poulakakis N., Lymberakis P., Valakos E. 2007. Digestive performance in five Mediterranean lizard species: effects of temperature and insularity. *Journal of Comparative Physiology B Biochemical Systemic and Environmental Physiology* **177**: 49-60.
- Pafilis P., Foufopoulos J., Poulakakis N., Lymberakis P., Valakos E. D. 2009a. Tail shedding in island lizards [Lacertidae, Reptilia]: Decline of antipredator defenses in relaxed predation environments. *Evolution* **63**: 1262-1278.
- Pafilis P., Foufopoulos J., Sagonas K., Runemark A., Svensson E., Valakos E. D. 2011. Reproductive biology of insular reptiles: Marine subsidies modulate expression of the "Island Syndrome". *Copeia* **2011**: 545-552.
- Pafilis P., Maragou P. 2013. One more record of *Lacerta viridis* (Laurenti, 1768) from Macedonia. *Hepretozoa* **26**: 101-102.

- Pafilis P., Meiri S., Foufopoulos J., Valakos E. 2009b.** Intraspecific competition and high food availability are associated with insular gigantism in a lizard. *Naturwissenschaften* **96**: 1107-1113.
- Pafilis P., Pérez-Mellado V., Valakos E. D. 2008.** Post autotomy tail activity in Balearic wall lizard, *Podarcis lilfordi*. *Naturwissenschaften* **95**: 217-221.
- Pafilis P., Valakos E. D. 2004.** Temperature effect on the digestive efficiency of the main organic compounds in two Mediterranean lizards 10th MEDECOS. Rhodes, Greece.
- Pafilis P., Valakos E. D. 2008.** Loss of caudal autotomy during ontogeny of Balkan green lizard, *Lacerta trilineata*. *Journal of Natural History* **42**: 409-419.
- Pafilis P., Valakos E. D., Foufopoulos J. 2005.** Comparative postautotomy tail activity in six Mediterranean lacertid lizard species *Physiological and Biochemical Zoology* **78**: 828-838.
- Palacios R., Möller G. 1981.** HLA-DR antigens render resting T cells sensitive to Interleukin-2 and induce production of the growth factor in the autologous mixed lymphocyte reaction. *Cellular Immunology* **63**: 143-153.
- Palumbi S. R. 1996.** Nucleic Acids II: The Polymerase Chain Reaction. Στο: *Molecular Systematics*. Hillis D. M., Moritz C. and Mable B. K., eds: Sinauer, Sunderland, MA. 205-248.
- Pap P., Czirják G., Vágási C., Barta Z., Hasselquist D. 2010.** Sexual dimorphism in immune function changes during the annual cycle in house sparrows. *Naturwissenschaften* **97**: 891-901.
- 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. 2002.** Analysis of comparative data using generalized estimating equations. *Journal of Theoretical Biology* **218**: 175-185.
- Paradis E., Claude J., Strimmer K. 2004.** APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics* **20**: 289-290.
- Parmakelis A., Stathi I., Chatzaki M., Simaiakis S., Spanos L., Louis C., Mylonas M. 2006.** Evolution of *Mesobuthus gibbosus* (Brulle, 1832) (Scorpiones: Buthidae) in the northeastern Mediterranean region. *Molecular Ecology* **15**: 2883-2894.
- Parra R. 1978.** Comparison of foregut and hindgut fermentation in herbivores. Στο: *The ecology of arboreal folivores*. Montgomery G. G., ed. Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press. 205-229.
- Patterson J. W., Davies P. M. C. 1978.** Preferred body temperature: Seasonal and sexual differences in the lizard *Lacerta vivipara*. *Journal of Thermal Biology* **3**: 39-41.
- Paulo O. S., Dias C., Bruford M. W., Jordan W. C., Nichols R. A. 2001.** The persistence of Pliocene populations through the Pleistocene climatic cycles: evidence from the phylogeography of an Iberian lizard. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **268**: 1625-1630.
- Paulo O. S., Pinheiro J., Miraldo A., Bruford M. W., Jordan W. C., Nichols R. A. 2008.** The role of vicariance vs. dispersal in shaping genetic patterns in ocellated lizard species in the western Mediterranean. *Molecular Ecology* **17**: 1535-1551.

- Pavlicev M., Mayer W. 2009.** Fast radiation of the subfamily Lacertinae (Reptilia: Lacertidae): History or methodical artefact? *Molecular Phylogenetics and Evolution* **52**: 727-734.
- Peck S. B. 1996.** Diversity and distribution of the orthopteroid insects of the Galapagos Islands, Ecuador. *Canadian Journal of Zoology* **74**: 1497-1510.
- Pedersen A. B., Fenton A. 2007.** Emphasizing the ecology in parasite community ecology. *Trends in Ecology & Evolution* **22**: 133-139.
- Penn D., Potts W. 1998.** MHC-disassortative mating preferences reversed by cross-fostering. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* **265**: 1299-1306.
- Penn D. J. 2002a.** Major Histocompatibility Complex (MHC). Στο: *Encyclopedia of life science*. John Wiley & Sons.
- Penn D. J. 2002b.** The scent of genetic compatibility: sexual selection and the major histocompatibility complex. *Ethology* **108**: 1-21.
- Penn D. J., Damjanovich K., Potts W. K. 2002.** MHC heterozygosity confers a selective advantage against multiple-strain infections. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **99**: 11260-11264.
- Perelson A. S., Oster G. 1979.** Theoretical studies on clonal selection: minimal antibody repertoire size and reliability of self non-self discrimination. *Journal of Theoretical Biology* **81**: 645-670.
- Pérez-Mellado V. 1989.** Estudio ecológico de la lagartija balear *Podarcis lilfordi* (Gunther, 1874) en Menorca. *Revista de Minorca* **53**: 455-511.
- Pérez-Mellado V., Bauwens D., Gil M., Guerrero F., Lizana M., Ciudad M.-J. 1991.** Diet composition and prey selection in the lizard *Lacerta monticola*. *Canadian Journal of Zoology* **69**: 1728-1735.
- Pérez-Mellado V., Corti C. 1993.** Dietary adaptations and herbivory in lacertid lizards of the genus *Podarcis* from western Mediterranean islands (Reptilia: Sauria). *Bonn Zoological Bulletin* **44**: 193-220.
- Pérez-Mellado V., Corti C., Lo Cascio P. 1997.** Tail autotomy and extinction in Mediterranean lizards. A preliminary study of continental and insular populations. *Journal of Zoology* **243**: 533-541.
- Pérez-Mellado V., Perez-Cembranos A., Garrido M., Luiselli L., Corti C. 2011.** Using faecal samples in lizard dietary studies. *Amphibia-Reptilia* **32**: 1-7.
- Pérez-Orella C., Schulte-Hostedde A. I. 2005.** Effects of sex and body size on ectoparasite loads in the northern flying squirrel (*Glaucomys sabrinus*). *Canadian Journal of Zoology* **83**: 1381-1385.
- Perissoratis C., Conispoliatis N. 2003.** The impacts of sea-level changes during latest Pleistocene and Holocene times on the morphology of the Ionian and Aegean seas (SE Alpine Europe). *Marine Geology* **196**: 145-156.
- Perrin N., Travis J. 1992.** On the use of constraints in evolutionary biology and some allergic reactions to them. *Functional Ecology* **6**: 361-363.
- Perry G., LeVering K., Girard I., Garland J. T. 2004.** Locomotor performance and social dominance in male *Anolis cristatellus*. *Animal Behaviour* **67**: 37-47.

- Perry G. H., Dominy N. J., Claw K. G., Lee A. S., Fiegler H., Redon R., Werner J., Villanea F. A., Mountain J. L., Misra R., Carter N. P., Lee C., Stone A. C. 2007.** Diet and the evolution of human amylase gene copy number variation. *Nature Genetics* **39**: 1256-1260.
- Peters G. 1962.** Studien sur taxionomie, verbreitung und oekologie der smaragdeidechsen. I. *Lacerta trilineata, viridis* und *strigata* als selbstaendige. Arten. *Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum in Berlin* **38**: 127-152.
- Peters G. 1963.** Studien zur Taxonomie, Verbraitung und Okologie der Smaragdeidechsen. II. Okologische Notizen uber einige ostbulgarische Populationen von *Lacerta trilineata*. *Mittelungen aus dem Zoologischen Museum in Berlin* **4**: 53-74.
- Peterson C. R., Gibson A. R., Dorcas M. E. 1993.** Snake thermal ecology; the causes and consequences of body-temperature variation. Στο: *Snakes, ecology and Behavior*. Seigel R. A. and Collins J. T., eds. New York: McGraw-Hill Inc. 241-314.
- Pettigrew M., Bull C. M. 2011.** The impact of heavy grazing on burrow choice in the pygmy bluetongue lizard, *Tiliqua adelaidensis*. *Wildlife Research* **38**: 299-306.
- Pfau R. S., Van Den Bussche R. A., McBee K. 2001.** Population genetics of the hispid cotton rat (*Sigmodon hispidus*): patterns of genetic diversity at the major histocompatibility complex. *Molecular Ecology* **10**: 1939-1945.
- Pianka E. R. 1973.** The structure of lizard communities. *Annual Review of Ecology and Systematics* **4**: 53-74.
- Pianka E. R. 1975.** Niche relation of desert lizards. Στο: *Ecology and evolution of communities*. vol. 12, Gody M. and Diamond J., eds: Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press. 292-314.
- Pianka E. R. 1986.** *Ecology and natural history of desert lizards*. Princeton University Press: Princeton, New Jersey.
- Pichon X. L., Angelier J., Osmaston M. F., Stegena L. 1981.** The Aegean Sea [and Discussion]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences* **300**: 357-372.
- Piertney S. B., Oliver M. K. 2006.** The evolutionary ecology of the major histocompatibility complex. *Heredity* **96**: 7-21.
- Pincheira-Donoso D. 2008.** Testing the accuracy of fecal-based analyses in studies of trophic ecology in lizards. *Copeia* **2008**: 322-325.
- 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.
- Pitala N., Siitari H., Gustafsson L., Brommer J. E. 2009.** Ectoparasites help to maintain variation in cell-mediated immunity in the blue tit-hen flea system. *Evolutionary Ecology Research* **11**: 79-94.
- Pitt W. C., Ritchie M. E. 2002.** Influence of prey distribution on the functional response of lizards. *Oikos* **96**: 157-163.
- Pollo C. J., Pérez-Mellado V. 1988.** Trophic ecology of a taxocenosis of Mediterranean species of Lacertidae. *Ecologia Mediterranea* **XIV**: 131-147.

- Porter W. P., Gates D. M. 1969.** Thermodynamic equilibria of animals with environment. *Ecological Monographs* **39**: 227-244.
- Posada D. 2003.** Using MODELTEST and PAUP* to select a model of nucleotide substitution. Στο: *Current Protocols in Bioinformatics*. John Wiley & Sons, Inc. 6.5.1-6.5.14.
- Posada D., Crandall K. A. 1998.** MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* **14**: 817-818.
- Potti J., Moreno J., Merino S., Frõas O., Rodrõguez R. 1999.** Environmental and genetic variation in the haematocrit of fledgling pied flycatchers *Ficedula hypoleuca*. *Oecologia* **120**: 1-8.
- Potts W. K., Manning C. J., Wakeland E. K. 1991.** Mating patterns in seminatural populations of mice influenced by MHC genotype. *Nature* **352**: 619-621.
- Potts W. K., Slev P. R. 1995.** Pathogen-based models favoring MHC genetic diversity. *Immunological Reviews* **143**: 181-197.
- Pough F. H. 1973.** Lizard energetics and diet. *Ecology* **54**: 837-844.
- Pough F. H. 1980.** The advantages of ectothermy for tetrapods. *The American Naturalist* **115**: 92-112.
- Pough F. H. 1983.** Amphibians and reptiles as low energy systems. Στο: *Behavioral Energetics: The Cost of Survival in Vertebrates*. Aspey W. P. and Lustick S. I., eds. Columbus: Ohio State University Press. 141-188.
- Pough F. H., Andrews R. M. 1985.** Energy costs of subduing and swallowing prey for a lizard. *Ecology* **66**: 1525-1533.
- Pough F. H., Andrews R. M., Cadle J. E., Crump M. L., Savitsky A. H., Wells K. D. 1998.** *Herpetology*. Prentice Hall: New Jersey, USA.
- 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., Lymberakis P., Tsigenopoulos C. S., Magoulas A., Mylonas M. 2005a.** Phylogenetic relationships and evolutionary history of snake-eyed skink *Ablepharus kitaibelii* (Sauria: Scincidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **34**: 245-256.
- Poulakakis N., Lymberakis P., Valakos E., Pafilis P., Zouros E., Mylonas M. 2005b.** Phylogeography of Balkan wall lizard (*Podarcis taurica*) and its relatives inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Ecology* **14**: 2433-2443.
- Poulakakis N., Lymberakis P., Valakos E., Zouros E., Mylonas M. 2005c.** Phylogenetic relationships and biogeography of *Podarcis* species from the Balkan Peninsula, by Bayesian and maximum likelihood analyses of mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **37**: 845-857.
- Poulakakis N., Pakaki V., Mylonas M., Lymberakis P. 2008.** Molecular phylogeny of the Greek legless skink *Ophiomorus punctatissimus* (Squamata: Scincidae): The impact of the Mid-Aegean trench in its phylogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **47**: 396-402.

- Poulakakis N., Sfenthourakis S. 2008.** Molecular phylogeny and phylogeography of the Greek populations of the genus *Orthometopon* (Isopoda, Oniscidea) based on mitochondrial DNA sequences. *Zoological Journal of the Linnean Society* **152**: 707-715.
- Preest M. R. 1994.** Sexual size dimorphism and feeding energetics in *Anolis carolinensis*: Why do females take smaller prey than males? *Journal of Herpetology* **28**: 292-294.
- Promerová M., Babik W., Bryja J., Albrecht T., Stuglik M., Radwan J. 2012.** Evaluation of two approaches to genotyping major histocompatibility complex class I in a passerine - CE-SSCP and 454 pyrosequencing. *Molecular Ecology Resources* **12**: 285-292.
- Puertollano M. A., Puertollano E., de Cienfuegos G. Á., de Pablo M. A. 2011.** Dietary antioxidants: immunity and host defense. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **11**: 1752-1766.
- Purvis A., Gittleman J. L., Luh H.-K. 1994.** Truth or consequences: effects of phylogenetic accuracy on two comparative methods. *Journal of Theoretical Biology* **167**: 293-300.
- Puustinen S., Koskela T., Mutikainen P. 2004.** Direct and ecological costs of resistance and tolerance in the stinging nettle. *Oecologia* **139**: 76-82.
- Qu Y., Li H., Gao J., Xu X., Ji X. 2011.** Thermal preference, thermal tolerance and the thermal dependence of digestive performance in two *Phrynocephalus* lizards (Agamidae), with a review of species studied. *Current Zoology* **57**: 684-700.
- Qualls F. J., Shine R. 2000.** Post-hatching environment contributes greatly to phenotypic variation between two populations of the Australian garden skink, *Lampropholis guichenoti*. *Biological Journal of the Linnean Society* **71**: 315-341.
- R Development Core Team. 2011.** *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.
- Råberg L., Graham A. L., Read A. F. 2009.** Decomposing health: tolerance and resistance to parasites in animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **364**: 37-49.
- Råberg L., Grahm M., Hasselquist D., Svensson E. 1998.** On the adaptive significance of stress-induced immunosuppression. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **265**: 1637-1641.
- Råberg L., Sim D., Read A. F. 2007.** Disentangling genetic variation for resistance and tolerance to infectious diseases in animals. *Science* **318**: 812-814.
- Radwan J., Biedrzycka A., Babik W. 2010.** Does reduced MHC diversity decrease viability of vertebrate populations? *Biological Conservation* **143**: 537-544.
- Radwan J., Zagalska-Neubauer M., Cichoń M., Sendek J., Kulma K., Gustafsson L., Babik W. 2012.** MHC diversity, malaria and lifetime reproductive success in collared flycatchers. *Molecular Ecology* **21**: 2469-2479.
- Raia P., Barbera C., Conte M. 2003.** The fast life of a dwarfed giant. *Evolutionary Ecology* **17**: 293-312.
- Raia P., Meiri S. 2006.** The island rule in large mammals: Paleontology meets ecology. *Evolution* **60**: 1731-1742.

- Rambaut A. 2006-2009.** FigTree v.1.3.1. Tree Figure Drawing Tool. Institute of Evolutionary Biology (University of Edinburgh, UK).
- Rambaut A., Drummond A. J. 2008.** MCMC Trace Analysis Tool. Version v1.4.1, 2003-2008. <<http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>>.
- Rand A. S. 1978.** Reptilian arboreal folivores. Στο: *The ecology of arboreal folivores*. Montgomery G. G., ed. Washington, DC: Smithsonian Institution Press. 115-122.
- Rausher M. D. 2001.** Co-evolution and plant resistance to natural enemies. *Nature* **411**: 857-864.
- Rebouças R., Castro I. M., Solé M. 2013.** Diet of *Haddadus binotatus* (Spix, 1824) (Anura: Craugastoridae) in Brazilian atlantic rainforest, Bahia state. *North-Western Journal of Zoology* **9**: 293-299.
- Reed D. H., Lowe E. H., Briscoe D. A., Frankham R. 2003.** Inbreeding and extinction: Effects of rate of inbreeding. *Conservation Genetics* **4**: 405-410.
- Regal P. J. 1978.** Behavioral differences between reptiles and mammals: An analysis of activity and mental capabilities. Στο: *Behavior and neurology of lizards*. Greenberg N. and MacLean P. D., eds: NIMH, Rockville, Md. 183-202.
- Reid J. M., Arcese P., Keller L. F. 2003.** Inbreeding depresses immune response in song sparrows (*Melospiza melodia*): direct and inter-generational effects. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **270**: 2151-2157.
- Richardson D. S., Jury F. L., Blaakmeer K., Komdeur J., Burke T. 2001.** Parentage assignment and extra-group paternity in a cooperative breeder: the Seychelles warbler (*Acrocephalus sechellensis*). *Molecular Ecology* **10**: 2263-2273.
- Richardson D. S., Westerdahl H. 2003.** MHC diversity in two *Acrocephalus* species: the outbred Great reed warbler and the inbred Seychelles warbler. *Molecular Ecology* **12**: 3523-3529.
- Richman A. 2000.** Evolution of balanced genetic polymorphism. *Molecular Ecology* **9**: 1953-1963.
- Richman A. D., Herrera L. G., Deanna N., Schierup M. H. 2003.** Relative roles of mutation and recombination in generating allelic polymorphism at an MHC class II locus in *Peromyscus maniculatus*. *Genetics Research* **82**: 89-99.
- Ridley M. 1983.** *The explanation of organic diversity: The comparative method and adaptations for mating*. Clarendon: Oxford University Press: UK.
- Rink S. M., Lipman R., Alley S. C., Hopkins P. B., Tomasz M. 1996.** Bending of DNA by the mitomycin C-induced, GpG intrastrand cross-link. *Chemical Research in Toxicology* **9**: 382-389.
- Roberts M. L., Buchanan K. L., Evans M. R. 2004.** Testing the immunocompetence handicap hypothesis: A review of the evidence. *Animal Behaviour* **68**: 227-239.
- Roberts M. L., Buchanan K. L., Hasselquist D., Evans M. R. 2007.** Effects of testosterone and corticosterone on immunocompetence in the zebra finch. *Hormones and Behavior* **51**: 126-134.
- Robinson J., Malik A., Parham P., Bodmer J. G., Marsh S. G. E. 2000.** IMGT/HLA Database – a sequence database for the human major histocompatibility complex. *Tissue Antigens* **55**: 280-287.

- Rochet M.-J., Cornillon P.-A., Sabatier R., Pontier D. 2000.** Comparative analysis of phylogenetic and fishing effects in life history patterns of teleost fishes. *Oikos* **91**: 255-270.
- Rodda G. H., Dean-Bradley K. 2002.** Excess density compensation of island herpetofaunal assemblages. *Journal of Biogeography* **29**: 623-632.
- Rodriguez F., Oliver J. L., Marin A., Medina J. R. 1990.** The general stochastic-model of nucleotide substitution. *Journal of Theoretical Biology* **142**: 485-501.
- Roff D. A. 1990.** The evolution of flightlessness in insects. *Ecological Monographs* **60**: 389-421.
- Rohlf J. F. 2008a.** *tpsDig, Version 2.12*. Department of Ecology and Evolution, State University of New York, Stony Brook.
- Rohlf J. F. 2008b.** *tpsRelw, relative warps analysis, version 1.46*. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook, Stony Brook.
- Rohlf J. F., Marcus L. F. 1993.** A revolution morphometrics. *Trends in Ecology & Evolution* **8**: 129-132.
- Roitt I. M. 1997.** *Essential Immunology*. 9th, (edn). Blackwell Scientific: Oxford, UK.
- Romain P. L., Schlossman S. F., Reinherz E. L. 1984.** Surface molecules involved in self-recognition and T cell activation in the autologous mixed lymphocyte reaction. *The Journal of Immunology* **133**: 1093-1100.
- Rose M. R., Passananti H. B., Chippindale A. K., Phelan J. P., Matos M., Teotónio H., Mueller L. D. 2005.** The effects of evolution are local: Evidence from experimental evolution in *Drosophila*. *Integrative and Comparative Biology* **45**: 486-491.
- Rosenthal A. S., Shevach E. M. 1973.** Function of macrophages in antigen recognition by guinea pig T lymphocytes. I. Requirement for histocompatible macrophages and lymphocytes. *The Journal of experimental medicine* **138**: 1194-1212.
- Row J., Blouin-Demers G. 2006.** Thermal quality influences effectiveness of thermoregulation, habitat use, and behaviour in milk snakes. *Oecologia* **148**: 1-11.
- Roy B. A., Kirchner J. W. 2000.** Evolutionary dynamics of pathogen resistance and tolerance. *Evolution* **54**: 51-63.
- Ruibal R. 1961.** Thermal relations of five species of tropical lizards. *Evolution* **15**: 98-111.
- Ruibal R., Philibosian R. 1970.** Eurythermy and niche expansion in lizards. *Copeia* **4**: 645-653.
- Runemark A. 2012.** Island biogeography and population divergence in the Skyros wall lizard. Ph.D Thesis, Department of Biology, Animal Ecology, Lund University.
- Runemark A., Gabirot M., Svensson E. I. 2011.** Population divergence in chemical signals and the potential for premating isolation between islet- and mainland populations of the Skyros wall lizard (*Podarcis gaigeae*). *Journal of Evolutionary Biology* **24**: 795-809.
- Runemark A., Hansson B., Ljungqvist M., Brydegaard M., Svensson E. I. 2013.** Has the inbreeding load for a condition-dependent sexual signalling trait been purged in insular lizard populations? *Molecular Ecology* **22**: 1310-1321.

- Runemark A., Hey J., Hansson B., Svensson E. I. 2012.** Vicariance divergence and gene flow among islet populations of an endemic lizard. *Molecular Ecology* **21**: 117-129.
- Rykena S. 1987.** Egg incubation time and northern distribution boundary in green lizard species (*Lacerta s.str.*). Στο: van Gelder J. J., Strijbosch H. and Bergers P. J. M., eds. Proceedings of the 4th Ordinary General Meeting of the S.E.H. Nijmegen, the Netherlands, 339–342.
- Rykena S. 1991a.** Kreuzungsexperimente zur Prüfung der Artgrenzen im Genus *Lacerta sensu stricto*. *Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum in Berlin* **67**: 55-68.
- Rykena S. 1991b.** Kreuzungsexperimente zur Prüfung der Artgrenzen im Genus *Lacerta sensu stricto*. *Mitteilungen aus dem Museum für Naturkunde in Berlin. Zoologisches Museum und Institut für Spezielle Zoologie (Berlin)* **67**: 55-68.
- Rykena S. 2001.** Experimental hybridization in green lizards (*Lacerta s. str.*), a tool to study species boundaries. *Mertensiella* **13**: 78-88.
- Rykena S., Nettman H.-K., Mayer W. 2002.** *Lacerta viridis guentherpetersi* ssp. nov., eine neue unterart der smaragdeidechse aus Griechenland. *Mertensiella* **13**: 89-97.
- Rynkiewicz E. C., Hawlena H., Durden L. A., Hastriter M. W., Demas G. E., Clay K. 2013.** Associations between innate immune function and ectoparasites in wild rodent hosts. *Parasitology Research* **112**: 1763-1770.
- Saad A. H. 1989.** Sex-associated differences in the mitogenic responsiveness of snake blood lymphocytes. *Developmental and Comparative Immunology* **13**: 225-229.
- Saad A. H., El Ridi R. 1984.** Mixed leukocyte reaction, graft-versus-host reaction, and skin allograft rejection in the lizard, *Chalcides ocellatus*. *Immunobiology* **166**: 484-493.
- Sacchi R., Rubolini D., Gentili A., Pupin F., Razzetti E., Scali S., Galeotti P., Fasola M. 2007.** Morph-specific immunity in male *Podarcis muralis*. *Amphibia-Reptilia* **28**: 408-412.
- Sagonas K., Meiri S., Valakos E. D., Pafilis P. 2013.** The effect of body size on the thermoregulation of lizards on hot, dry Mediterranean islands. *Journal of Thermal Biology* **38**: 92-97.
- Sagonas K., Poulakakis N., Lymberakis P., Parmakelis A., Pafilis P., Valakos E. D. 2014.** Molecular systematics and historical biogeography of the green lizards (*Lacerta*) in Greece: Insights from mitochondrial and nuclear DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **76**: 144-154.
- Saino N., Möller A. P., Bolzerna A. M. 1995.** Testosterone effects on the immune system and parasite infestations in the barn swallow (*Hirundo rustica*): an experimental test of the immunocompetence hypothesis. *Behavioral Ecology* **6**: 397-404.
- Sanford G. M., Lutterschmidt W. I., Hutchison V. H. 2002.** The comparative method revisited. *Bioscience* **52**: 830-836.
- Sartorius S. S., do Amaral J. P. S., Durtsche R. D., Deen C. M., Lutterschmidt W. I. 2002.** Thermoregulatory accuracy, precision, and effectiveness in two sand-dwelling lizards under mild environmental conditions. *Canadian Journal of Zoology* **80**: 1966-1976.

- Savage A. E., Zamudio K. R. 2011.** MHC genotypes associate with resistance to a frog-killing fungus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
- Schüle W. 1993.** Mammals, vegetation and the initial human settlement of the Mediterranean islands: A palaeoecological approach. *Journal of Biogeography* **20**: 399-411.
- Schaerlaeken V., Holanova V., Boistel R., Aerts P., Velensky P., Rehak I., Andrade D. V., Herrel A. 2012.** Built to Bite: Feeding kinematics, bite forces, and head shape of a specialized durophagous lizard, *Dracaena guianensis* (Teiidae). *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology* **317**: 371-381.
- Scharf I., Meiri S. 2013.** Sexual dimorphism of heads and abdomens: Different approaches to ‘being large’ in female and male lizards. *Biological Journal of the Linnean Society* **110**: 665-673.
- Scheers H., Van Damme R. 2002.** Micro-scale differences in thermal habitat quality and a possible case of evolutionary flexibility in the thermal physiology of lacertid lizards. *Oecologia* **132**: 323-331.
- Schmid-Hempel P. 2003.** Variation in immune defence as a question of evolutionary ecology. *Proceedings of the Royal Society B* **270**: 357-366.
- Schmid-Hempel P., Ebert D. 2003.** On the evolutionary ecology of specific immune defence. *Trends in Ecology & Evolution* **18**: 27-32.
- Schmidt-Nielsen K. 1997.** *Animal physiology, adaptation and environment*. Cambridge University Press: Cambridge, UK.
- Schmidtler J. F. 1975.** Zur Taxonomie der Riesen-Smaragdeidechsen (*Lacerta trilineata* Bedriaga) Süd-Anatoliens (Reptilia, Lacertidae). *Veröffentlichungen der Zoologischen Staatssammlung München* **18**: 43-68.
- Schmidtler J. F. 1986.** Orientalische Smaragdeidechsen: 2. Zur systematik und Synökologie von *Lacerta trilineata*, *L. media* und *L. pamphylica* (Sauria: Lacertidae). *Salamandra* **22**: 126-146.
- Schneider D. S., Ayres J. 2008.** Two ways to survive infection: what resistance and tolerance can teach us about treating infectious diseases. *Nature Reviews Immunology* **8**: 889-895.
- Schoeler G. B., Wikel S. K. 2001.** Modulation of host immunity by haematophagous arthropods. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **95**: 755-771.
- Schoener T. W. 1971.** Theory of feeding strategies. *Annual Review of Ecology and Systematics* **2**: 369-404.
- Schoener T. W., Schoener A. 1980.** Ecological and demographic correlates of injury rates in some bahamian *Anolis* lizards. *Copeia* **4**: 839-850.
- Schrey A. W., Grispo M., Awad M., Cook M. B., McCoy E. D., Mushinsky H. R., Albayrak T., Bensch S., Burke T., Butler L. K., Dor R., Fokidis H. B., Jensen H., Imboma T., Kessler-Rios M. M., Marzal A., Stewart I. R. K., Westerdahl H., Westneat D. F., Zehindjiev P., Martin L. B. 2011.** Broad-scale latitudinal patterns of genetic diversity among native European and introduced house sparrow (*Passer domesticus*) populations. *Molecular Ecology* **20**: 1133-1143.

- Schulte-Hostedde A. I., Elsasser S. C. 2011.** Spleen mass, body condition, and parasite load in male American mink (*Neovison vison*). *Journal of Mammalogy* **92**: 221-226.
- Schut E., Aguilar J., Merino S., Magrath M., Komdeur J., Westerdahl H. 2011.** Characterization of MHC-I in the blue tit (*Cyanistes caeruleus*) reveals low levels of genetic diversity and trans-population evolution across European populations. *Immunogenetics* **63**: 531-542.
- Schwanner T. D. 1989.** A field study of thermoregulation in black tiger snakes (*Notechis ater niger*: Elapidae) on the Franklin Islands, South Australia. *Herpetologica* **45**: 393-401.
- Scott J. M., Conant S., van Riper C. 2001.** *Evolution, ecology, conservation and management of Hawaiian birds: a vanishing avifauna*. Camarillo, CA: Cooper Ornithological Society.
- Sears M. W., Angilletta Jr M. J. 2003.** Life-history variation in the sagebrush lizard: Phenotypic plasticity or local adaptation? *Ecology* **84**: 1624-1634.
- Sepil I., Moghadam H., Huchard E., Sheldon B. 2012.** Characterization and 454 pyrosequencing of Major Histocompatibility Complex class I genes in the great tit reveal complexity in a passerine system. *BMC Evolutionary Biology* **12**: 68.
- Sequeira A. S., Lanteri A. A., Scataglini A. M., Confalonieri V. A., Farrell B. D. 2000.** Are flightless *Galapaganus* weevils older than the Galápagos Islands they inhabit? *Heredity* **85**: 20-29.
- Sergeyev A. 1939.** The body temperature of reptiles in natural surroundings. *Doklady Akademia Nauk SSSR* **22**: 49-52.
- Shaw K. L. 1996.** Sequential radiations and patterns of speciation in the Hawaiian cricket genus *Laupala* inferred from DNA sequences. *Evolution* **50**: 237-255.
- Sheldon B. C., Verhulst S. 1996.** Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends in Ecology & Evolution* **11**: 317-321.
- Shelford V. E. 1911.** Physiological animal geography. *Journal of Morphology* **22**: 551-618.
- Shimodaira H., Hasegawa M. 1999.** Multiple comparisons of log-likelihoods with applications to phylogenetic inference. *Molecular Biology and Evolution* **16**: 1114-1116.
- Shine R. 2004.** Does viviparity evolve in cold climate reptiles because pregnant females maintain stable (not high) body temperatures? *Evolution* **58**: 1809-1818.
- Shine R., Madsen T. 1996.** Is thermoregulation unimportant for most reptiles? An example using water pythons (*Liasis fuscus*) in tropical Australia. *Physiological Zoology* **69**: 252-269.
- Sibly R. M. 1981.** Strategies of digestion and defecation. Στο: *Physiological ecology: An evolutionary approach to resource use*. Townsend C. R. and Calow P., eds. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associate. 109-139.
- Siliceo I., Díaz J. A. 2010.** A comparative study of clutch size, range size, and the conservation status of island vs. mainland lacertid lizards. *Biological Conservation* **143**: 2601-2608.

- Simaiakis S. M., Dimopoulou A., Mitrakos A., Mylonas M., Parmakelis A. 2012.** The evolutionary history of the Mediterranean centipede *Scolopendra cingulata* (Latreille, 1829) (Chilopoda: Scolopendridae) across the Aegean archipelago. *Biological Journal of the Linnean Society* **105**: 507-521.
- Simms E. L., Triplett J. 1994.** Costs and benefits of plant response to disease: resistance and tolerance. *Evolution* **48**: 1973-1985.
- Sinervo B., Calsbeek R. 2003.** Physiological epistasis, ontogenetic conflict and natural selection on physiology and life history. *Integrative and Comparative Biology* **43**: 419-430.
- Sinervo B., Losos J. B. 1991.** Walking the tight rope: arboreal sprint performance among *Sceloporus occidentalis* lizard populations. *Ecology* **72**: 1225-1233.
- Skoczylas R. 1978.** Physiology of the digestive tract. Στο: *Biology of the Reptilia*. vol. 8, Gans C. and Tinkle D. W., eds. London: Academic Press. 589-717.
- Slice D. E. 1999.** *Morpheus et al.: software for morphometric research*. Department of Ecology and Evolution: State University of New York, Stony Brook.
- Slos S., De Block M., Stoks R. 2009.** Autotomy reduces immune function and antioxidant defence. *Biology Letters* **5**: 90-92.
- Slowinski J. B. 2001.** Molecular Polytomies. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **19**: 114-120.
- Smith L. C., John-Alder H. B. 1999.** Seasonal specificity of hormonal, behavioral, and coloration responses to within- and between-sex encounters in male lizards (*Sceloporus undulatus*). *Hormones and Behavior* **36**: 39-52.
- Smith R. J., Cheverud J. M. 2002.** Scaling of sexual size dimorphism in body mass: a phylogenetic analysis of Rensch's rule in primates. *International Journal of Primatology* **23**: 1095-1135.
- Smits J. E., Bortolotti G. R., Tella J. L. 1999.** Simplifying the phytohaemagglutinin skin-testing technique in studies of avian immunocompetence. *Functional Ecology* **13**: 567-572.
- Snogerup S., Snogerup B. 2004.** Changes in the flora of some Aegean islets 1968-2000. *Plant Systematics and Evolution* **245**: 169-213.
- Sommer S. 2005a.** The importance of immune gene variability (MHC) in evolutionary ecology and conservation. *Frontiers in Zoology* **2**: 16.
- Sommer S. 2005b.** Major histocompatibility complex and mate choice in a monogamous rodent. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **58**: 181-189.
- Spellerberg I. F. 1973.** Critical minimum temperatures of reptiles. Στο: *Effects of temperature on ectothermic organisms*. Weiser W., ed. Berlin: Springer. 239-247.
- Spellerberg I. F. 1982.** *Biology of reptiles. An ecological approach*. Chapman & Hall: New York, USA.
- SPSS Inc. Released 2008.** *SPSS Statistics for Windows*. Chicago: SPSS Inc.
- Stadecker M. J., Lukic M., Dvorak A., Leskowitz S. 1977.** The cutaneous basophil response to phytohemagglutinin in chickens. *The Journal of Immunology* **118**: 1564-1568.
- Starck J. M., Wang T. 2004.** *Physiological and Ecological Adaptations to Feeding in Vertebrates*.

- Steadman D. W., Greiner E. C., Wood C. S. 1990.** Absence of blood parasites in indigenous and introduced birds from the Cook Islands, south pacific. *Conservation Biology* **4**: 398-404.
- Stearns S. C., Hoekstra R. F. 2005.** *Evolution: An Introduction*. 2nd, (edn). Oxford University Press: Oxford.
- Stephens D. W., Krebs J. R. 1986.** *Foraging Theory*. Princeton University Press: Princeton.
- Stevenson R. D. 1985.** The relative importance of behavioral and physiological adjustments controlling body temperature in terrestrial ectotherms. *The American Naturalist* **126**: 362-386.
- Stevenson R. D., Tuberty S. R., Defur P. L., Wingfield J. C. 2005.** EcoPhysiology and Conservation: The Contribution of Endocrinology and Immunology–Introduction to the Symposium. *Integrative and Comparative Biology* **45**: 1-3.
- Stowe K. A., Marquis R. J., Hochwender C. G., Simms E. L. 2000.** The evolutionary ecology of tolerance to consumer damage. *Annual Review of Ecology and Systematics* **31**: 565-595.
- Super P. E., Riper C. v. 1995.** A comparison of avian hematozoan epizootiology in two California coastal scrub communities. *Journal of Wildlife Diseases* **31**: 447-461.
- Swallow J. G., Garland T. 2005.** Selection experiments as a tool in evolutionary and comparative physiology: insights into complex traits - an introduction to the symposium. *Integrative and Comparative Biology* **45**: 387-390.
- Swofford D. L. 2002.** PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4: Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Swofford D. L., Olsen G. J., Waddel P. J., Hillis D. M. 1996.** Phylogenetic inference. Στο: *Molecular Systematics*. Hillis D. M., Moritz C. and Mable B. K., eds: Sinauer, Sunderland, MA. 407-514.
- Tajima F. 1989.** Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* **123**: 585-595.
- Takahata N., Nei M. 1990.** Allelic genealogy under overdominant and frequency-dependent selection and polymorphism of major histocompatibility complex loci. *Genetics* **124**: 967-978.
- Tamura K., Nei M. 1993.** Estimation of the Number of Nucleotide Substitutions in the Control Region of Mitochondrial-DNA in Humans and Chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* **10**: 512-526.
- 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.
- Tempfer M. P. 2005.** The herpetofauna (Amphibia: Caudata, Anura; Reptilia: Scleroglossa) of the Upper Miocene locality Kohfidisch (Burgenland, Austria). *Beiträge zur Paläontologie* **29**: 145-253.
- Theophilopoulos A. N. 1985.** Autoimmunity. Στο: *Basic and clinical immunology*. Futenberg H. H., Stobo J. B., Stites D. P. and Wells J. V., eds. California: Lange Medical Publications. 152.

- Thompson J. D., Gibson T. J., Plewniak F., Jeanmougin F., Higgins D. G. 1997.** The CLUSTALX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* **25**: 4876-4882.
- Thorpe R. S., Black H., Malhotra A. 1996.** Matrix correspondence tests on the DNA phylogeny of the Tenerife lacertid *Elucidate* both historical causes and morphological adaptation. *Systematic Biology* **45**: 335-343.
- Throckmorton G. 1973.** Digestive efficiency in the herbivorous lizard *Ctenosaura pectinata*. *Copeia* **1973**: 431-434.
- Thursz M. R., Kwiatkowski D., Allsopp C. E. M., Greenwood B. M., Thomas H. C., Hill A. V. S. 1995.** Association between an MHC Class II allele and clearance of Hepatitis B virus in the Gambia. *New England Journal of Medicine* **332**: 1065-1069.
- Tomasz M., Lipman R., Chowdary D., Pawlak J., Verdine G., Nakanishi K. 1987.** Isolation and structure of a covalent cross-link adduct between mitomycin C and DNA. *Science* **235**: 1204-1208.
- Townsend C. R., Calow P. 1981.** *Physiological ecology: An evolutionary approach to resource use*. Sinauer Associates: Sunderland, Massachusetts, USA.
- Townsend T. M., Alegre R. E., Kelley S. T., Wiens J. J., Reeder T. W. 2008.** Rapid development of multiple nuclear loci for phylogenetic analysis using genomic resources: An example from squamate reptiles. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **47**: 129-142.
- Townsend T. M., Mulcahy D. G., Noonan B. P., Sites Jr 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.
- Tracy C. R., Diamond J. 2005.** Regulation of gut function varies with life-history traits in chuckwalla (*Sauromalus obesus*: Iguanidae). *Physiological and Biochemical Zoology* **78**: 469-481.
- Trauth S. E. 1979.** Testicular cycle and timing of reproduction in the collared lizard (*Crotaphytus collaris*) in Arkansas. *Herpetologica* **35**: 184-192.
- Trihas A., Legakis A. 1991.** Phenology and patterns of activity of ground Coleoptera in an insular Mediterranean ecosystem (Cyclades, Greece). *Pedobiologia* **35**: 327-335.
- Troyer K. 1984.** Diet selection and digestion in *Iguana iguana*: the importance of age and nutrient requirements. *Oecologia* **61**: 201-207.
- Ujvari B., Belov K. 2011.** Major histocompatibility complex (MHC) markers in conservation biology. *International Journal of Molecular Sciences* **12**: 5168-5186.
- Urošević A., Ljubisavljević K., Ivanović A. 2013.** Patterns of cranial ontogeny in lacertid lizards: Morphological and allometric disparity. *Journal of Evolutionary Biology* **26**: 399-415.
- Ursenbacher S., Schweiger S., Tomović L., Crnobrnja-Isailović 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.

- Vaclav R., Prokop P., Fekia, V. 2007.** Expression of breeding coloration in European Green Lizards (*Lacerta viridis*): variation with morphology and tick infestation. *Canadian Journal of Zoology* **85**: 1199-1206.
- Valakos E. D. 1986.** The feeding ecology of *Podarcis erhardii* (Reptilia - Lacertidae) in a main insular ecosystem. *Herpetological Journal* **1**: 118-121.
- Valakos E. D., Adamopoulou C., Maragou P., Mylonas M. 1997.** The food of *Podarcis milensis* and *Podarcis erhardii* in the insular ecosystems of the Aegean. *Herpetologia Bonnensis*: 373-381.
- Valakos E. D., Kourkouli A., Skopeliti M., Pafilis P., Poulakakis N., Voutsas I. F., Lymberakis P., Simou C., Voelter W., Tsitsilonis O. E. 2007.** Combining immunological and molecular data to assess phylogenetic relations of some Greek *Podarcis* species. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* **147**: 1-10.
- Valakos E. D., Pafilis P., Sotiropoulos K., Lymberakis P., Maragou P., Foufopoulos J. 2008.** *The Amphibians and Reptiles of Greece*. Chimaira: Frankfurt am Main.
- Van Andel T. H. 1994.** *New views on an Old Planet. A history of global change*. Cambridge University Press: Cambridge.
- Van Damme R. 1999.** Evolution of herbivory in lacertid lizards: effects of insularity and body size. *Journal of Herpetology* **33**: 663-674.
- Van Damme R., Bauwens D., Castilla A. M., Verheyen R. F. 1989.** Altitudinal variation of the thermal biology and running performance in the lizard *Podarcis tiliguerta*. *Oecologia* **80**: 516-524.
- Van Damme R., Bauwens D., Castilla A. M., Verheyen R. F. 1990a.** Comparative thermal ecology of the sympatric lizards *Podarcis tiliguerta* and *Podarcis sicula*. *Acta Oecologica* **11**: 503-512.
- Van Damme R., Bauwens D., Verheyen R. F. 1986.** Selected body temperatures in the lizard *Lacerta vivipara*: Variation within and between populations. *Journal of Thermal Biology* **11**: 219-222.
- Van Damme R., Bauwens D., Verheyen R. F. 1990b.** Evolutionary rigidity of thermal physiology: the case of the cool temperate lizard *Lacerta vivipara*. *Oikos* **57**: 61-67.
- Van Damme R., Bauwens D., Verheyen R. F. 1991.** The thermal dependence of feeding behaviour, food consumption and gut-passage time in the lizard *Lacerta vivipara* Jacquin. *Functional Ecology* **5**: 507-517.
- van Marken Lichtenbelt W. D. 1992.** Digestion in an ectothermic herbivore, the green Iguana (*Iguana iguana*): Effect of food composition and body temperature. *Physiological Zoology* **65**: 649-673.
- van Riper III C., Scott J. M. 2001.** Limiting factors affecting Hawaiian native birds. Στο: *Evolution, ecology, conservation, and management of Hawaiian birds: a vanishing avifauna*. vol. 22, Scott J. M., Conant S. and van Riper C., eds: Camarillo, CA: Cooper Ornithological Society. 221-233.
- Van Soest P. J. 1982.** *Nutritional ecology of the ruminant*. Cornell University Press: New York.
- Van Valen L. M. 1973.** Pattern and the balance of nature. *Evolutionary Theory* **1**: 31-49.

- Vander A., Sherman J., Luciano D. 2001.** *Human Physiology: The Mechanisms of Body Function, 8th Edition*. 8, (edn). McGraw-Hill Higher Education: Boston, MA.
- Vanhooydonck B., Boistel R., Fernandez V., Herrel A. 2011.** Push and bite: Trade-Offs between burrowing and biting in a burrowing skink (*Acontias percivali*). *Biological Journal of the Linnean Society* **102**: 91-99.
- Vanhooydonck B., Herrel A., Van Damme R. 2007.** Interactions between habitat use, behavior and the trophic niche of lacertid lizards. Στο: *Lizard Ecology: The evolutionary consequences of foraging mode*. Reilly S. M., McBrayer L. D. and Miles D. B., eds. Cambridge: Cambridge University Press. 427-449.
- Vanhooydonck B., Van Damme R. 1999.** Evolutionary relationships between body shape and habitat use in lacertid lizards. *Evolutionary Ecology Research* **1**: 785–805.
- Vasconcelos R., Santos X., Carretero M. A. 2012.** High temperatures constrain microhabitat selection and activity patterns of the insular Cape Verde wall gecko. *Journal of Arid Environments* **81**: 18-25.
- Veiga J. P., Salvador A., Merino S., Puerta M. 1998.** Reproductive effort affects immune response and parasite infection in a lizard: a phenotypic manipulation using testosterone. *Oikos* **82**: 313-318.
- Venczel M. 2006.** Lizards from the late Miocene of Polgárdi (W-Hungary). *Nymphaea* **33**: 25-38.
- Veríssimo C. V., Carretero M. A. 2009.** Preferred temperatures of *Podarcis vaucheri* from Morocco: intraspecific variation and interspecific comparisons. *Amphibia-Reptilia* **30**: 17-23.
- Vervust B., Pafilis P., Valakos E. D., Van Damme R. 2010.** Anatomical and physiological changes associated with a recent dietary shift in the lizard *Podarcis sicula*. *Physiological and Biochemical Zoology* **83**: 632-642.
- Verwaijen D., Van Damme R., Herrel A. 2002.** Relationships between head size, bite force, prey handling efficiency and diet in two sympatric lacertid lizards. *Functional Ecology* **16**: 842-850.
- Vickers M., Manicom C., Schwarzkopf L. 2011.** Extending the cost-benefit model of thermoregulation: High-temperature environments. *The American Naturalist* **177**: 452-461.
- Vidovic D. M., Matzinger P. 1988.** Unresponsiveness to a foreign antigen can be caused by self-tolerance. *Nature* **336**: 222-225.
- Vincent S. E., Herrel A. 2007.** Functional and ecological correlates of ecologically-based dimorphisms in squamate reptiles. *Integrative and Comparative Biology* **47**: 172-188.
- Vitt L. J., Avila-Pires T. C. S., Caldwell J. P., Veronica R. L., Oliveira V. R. L. 1998.** The impact of individual tree harvesting on thermal environments of lizards in Amazonian rain forest. *Conservation Biology* **12**: 654-664.
- Vitt L. J., Caldwell J. P. 2014.** *Herpetology: An Introductory biology of Amphibians and Reptiles*. Fourth, (edn). Academic Press.
- Vitt L. J., Pianka E. R., Cooper J. W. E., Schwenk K. 2003.** History and the global ecology of squamate reptiles. *The American Naturalist* **162**: 44-60.

- Vitt L. J., Zani P. A., Monteiro de Barros A. A. 1997.** Ecological variation among populations of the gekkonid lizard *Gonatodes humeralis* in the Amazon basin. *Copeia* **1997**: 32-43.
- Wainwright P. C. 2007.** Functional versus morphological diversity in macroevolution. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **38**: 381-401.
- Walker Jeffrey A. 2007.** A general model of functional constraints on phenotypic evolution. *The American Naturalist* **170**: 681-689.
- Wallace A. R. 1880.** *Island life or, the phenomena and causes of insular faunas and floras, including a revision and attempted solution of the problem of geological climates.* MacMillan: London.
- Wallace A. R. 1902.** *Island life.* 3rd, (edn). Macmillan: London.
- Wallny H.-J., Avila D., Hunt L. G., Powell T. J., Riegert P., Salomonsen J., Skjødtt K., Vainio O., Vilbois F., Wiles M. V., Kaufman J. 2006.** Peptide motifs of the single dominantly expressed class I molecule explain the striking MHC-determined response to Rous sarcoma virus in chickens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**: 1434-1439.
- Watson G. E. I. 1964.** *Ecology and evolution of passerine birds in the islands of the Aegean Sea.* University Microfilms, Inc.: Ann Arbor, Michigan, USA.
- Wedekind C., Walker M., Little T. J. 2005.** The course of malaria in mice: Major histocompatibility complex (MHC) effects, but no general MHC heterozygote advantage in single-strain infections. *Genetics* **170**: 1427-1430.
- Wegner K. M., Kalbe M., Kurtz J., Reusch T. B. H., Milinski M. 2003a.** Parasite selection for immunogenetic optimality. *Science* **301**: 1343.
- Wegner K. M., Reusch T. B. H., Kalbe M. 2003b.** Multiple parasites are driving major histocompatibility complex polymorphism in the wild. *Journal of Evolutionary Biology* **16**: 224-232.
- Wei K., Zhang Z., Wang X., Zhang W., Xu X., Shen F., Yue B. 2010.** Lineage pattern, trans-species polymorphism, and selection pressure among the major lineages of feline Mhc-DRB peptide-binding region. *Immunogenetics* **62**: 307-317.
- Werner F. 1903.** *Lacerta viridis* var. *major*. *Blätter für Aquarien- und Terrarienkunde* **14**: 176-179.
- Westerdahl H., Stjernman M., Råberg L., Lannefors M., Nilsson J. Å. 2013.** MHC-I affects infection intensity but not infection status with a frequent avian malaria parasite in blue tits. *PLoS ONE* **8**.
- Westerdahl H., Wittzell H., von Schantz T. 2000.** MHC diversity in two passerine birds: no evidence for a minimal essential MHC. *Immunogenetics* **52**: 92-100.
- Whiteman N. K., Matson K. D., Bollmer J. L., Parker P. G. 2006.** Disease ecology in the Galápagos Hawk (*Buteo galapagoensis*): host genetic diversity, parasite load and natural antibodies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* **273**: 797-804.
- Whittaker R. J., Fernández-Palacios J. M. 2007.** *Island Biogeography: Ecology, Evolution and Conservation.* Second, (edn). Oxford University Press: Oxford.
- Wikelski M., Foufopoulos J., Vargas H., Snell H. 2004.** Galápagos birds and diseases: invasive pathogens as threats for island species. *Ecology and Society* **9**: 5.

- William E. P. 2008.** *Fundamental Immunology*. Sixth, (edn). Lippincott Williams & Wilkins, Wolter Kluwer: Philadelphia, USA.
- Williams E. E. 1969.** The ecology of colonization as seen in the zoogeography of anoline lizards on small islands. *The Quarterly Review of Biology* **44**: 345-389.
- Williamson M. 1981.** *Island Populations*. Oxford University Press: Oxford.
- Willmer P., Stone G., Johnston I. 2004.** *Environmental physiology of animals*. Blackwell Science Ltd: Oxford, UK.
- Wilson D. B., Nowell P. C. 1970.** Quantitative studies on the mixed lymphocyte interaction in rats. IV. Immunologic potentiality of the responding cells. *Journal of Experimental Medicine* **131**: 391-407.
- Wilson D. B., Silvers W. K., Nowell P. C. 1967.** Quantitative studies on the mixed lymphocyte interaction in rats. II. Relationship of the proliferative response to the immunologic status of the donors. *The Journal of experimental medicine* **126**: 655-665.
- Witz B. W., Lawrence J. M. 1993.** Nutrient absorption efficiencies of the lizard, *Cnemidophorus sexlineatus* (Sauria: Teiidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* **105**: 151-155.
- Woelfing B., Traulsen A., Milinski M., Boehm T. 2009.** Does intra-individual major histocompatibility complex diversity keep a golden mean? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **364**: 117-128.
- Woodcock B. A., Pywell R. F., Roy D. B., Rose R. J., Bell D. 2005.** Grazing management of calcareous grasslands and its implications for the conservation of beetle communities. *Biological Conservation* **125**: 193-202.
- Wright S. 1931.** Evolution in mendelian populations. *Genetics* **16**: 97-159.
- Xiang J., Weiguo D., Pingyue S. 1996.** Body temperature, thermal tolerance and influence of temperature on sprint speed and food assimilation in adult grass lizards, *Takydromus septentrionalis*. *Journal of Thermal Biology* **21**: 155-161.
- Xiang J., Wenhui Z., Guobiao H., Huiqing G. 1993.** Food intake, assimilation efficiency, and growth of juvenile lizards *Takydromus septentrionalis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology* **105**: 283-285.
- Yablokov A. V., Baranov A. S., Rozanov A. S. 1981.** Reconstruction of species microphylogenesis (following the example of sand lizard *Lacerta agilis* study). *Vestnik Zoologii* **3**: 11-16.
- Yang Z. H. 2006.** *Computational Molecular Evolution*. Oxford University Press, Oxford: New York.
- Yao Y. F., Dai Q. X., Li J., Ni Q. Y., Zhang M. W., Xu H. L. 2014.** Genetic diversity and differentiation of the rhesus macaque (*Macaca mulatta*) population in western Sichuan, China, based on the second exon of the major histocompatibility complex class II DQB (MhcMamu-DQB1) alleles. *BMC Evolutionary Biology* **14**: 130.
- Yao Y. F., Zhao J. J., Dai Q. X., Li J. Y., Zhou L., Wang Y. T., Ni Q. Y., Zhang M. W., Xu H. L. 2013.** Identification and characterization of the major histocompatibility complex class II DQB (MhcMath-DQB1) alleles in Tibetan macaques (*Macaca thibetana*). *Tissue Antigens* **82**: 113-121.

- Zagalska-Neubauer M., Babik W., Stuglik M., Gustafsson L., Cichon M., Radwan J. 2010.** 454 sequencing reveals extreme complexity of the class II Major Histocompatibility Complex in the collared flycatcher. *BMC Evolutionary Biology* **10**: 395.
- Zahavi A. 1975.** Mate selection - A selection for a handicap. *Journal of Theoretical Biology* **53**: 205-214.
- Zar J. H. 2010.** *Biostatistical analysis*. Prentice Hall Inc.: Upper Saddle River, New Jersey.
- Zimmerman L. C., Tracy R. C. 1989.** Interactions between the environment and ectothermy and herbivory in reptiles. *Physiological Zoology* **62**: 374-409.
- Zimmerman L. M., Vogel L. A., Bowden R. M. 2010.** Understanding the vertebrate immune system: insights from the reptilian perspective. *The Journal of Experimental Biology* **213**: 661-671.
- Zinkernagel R. M., Doherty P. C. 1974.** Immunological surveillance against altered self components by sensitised T lymphocytes in lymphocytes choriomeningitis. *Nature* **251**: 547-548.
- Zoppi G., Shmerling D. H. 1969.** Intestinal disaccharidase activities in some birds, reptiles and mammals. *Comparative Biochemistry and Physiology* **29**: 289-294.
- Zuffi M. A., Sacchi R., Pupin F., Cencetti T. 2011.** Sexual size and shape dimorphism in the Moorish gecko (*Tarentola mauritanica*, Gekkota, Phyllodactylidae). *North-Western Journal of Zoology* **7**: 189-197.
- Zuk M., Stoehr A. M. 2002.** Immune defense and host life history. *The American Naturalist* **160**: 9-22.
- Zwickl D. J. 2006.** *Genetic Algorithm Approaches for the Phylogenetic Analysis of Large Biological Sequence Datasets Under the Maximum Likelihood Criterion*. The University of Texas: Texas.
- Βαλάκος Ε. Α. 1990.** Η οικολογία της σαύρας *Podarcis erhardii* (Bedriaga, 1882) (Sauria: Lacertidae) σε τυπικό νησιωτικό οικοσύστημα στη Νάξο. Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Γκάγκα Α. 2006.** Έρευνα για την αειφόρο ανάπτυξη στη Μήλο *Δίκτυο Αειφόρων Νήσων - ΔΑΦΝΗ*. Αθήνα.
- Δημαλέξης Τ., Γαλάνη Π., Fric J., Τζαλή Μ., Γκορίτσας Β., Κόντου Α., Πάσουλας Ξ., Καστρίτης Θ., Saravia V., Ζωγράφου Χ., Προμπονά Μ., Σκανδαλή Κ., Γκιώκας Σ., Πουρσανίδης Δ., Νικολάου Ι. 2012.** Σχέδιο διαχείρισης της ζώνης ειδικής προστασίας (ΖΕΠ) «GR4220028 Άνδρος: Κεντρικό και νότιο τμήμα, γύρω νησίδες και παράκτια θαλάσσια ζώνη» *Δράση Α.1 του προγράμματος LIFE10NAT/GR/000637 ANDROSSPA*. Άνδρος.
- Καραμαούνα Μ. 1987.** Οικολογία των Διπλόποδων σε Μεσογειακούς βιότοπους κωνοφόρων της νότιας Ελλάδας. Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Καραμαούνα Μ. 1988.** Οικολογία των Διπλόποδων σε Μεσογειακούς βιότοπους κωνοφόρων της νότιας Ελλάδας. Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Κατσαδωράκης Γ., Παραγκαμιάν Κ. 2006.** *Οι υγροτοποι του Αιγαίου*. WWF-Ελλάς: Αθήνα.

- Κουρέλου Ε., Meiri S., Σαγώνας Κ., Βαλάκος Σ., Παφίλης Π. 2012.** Η επίδραση του γιγαντισμού στην πεπτική αποδοτικότητα της σαύρας της Σκύρου. 6ο Πανελλήνιο Συνέδριο Οικολογίας. Αθήνα.
- Λιαρικός Κ., Μαραγκού Π., Παπαγιάννης Θ., (επιμ. έκδοσης). 2012.** *Η Ελλάδα τότε και τώρα: Διαχρονική χαρτογράφηση των καλύψεων γης, 1987- 2007.* WWF Ελλάς: Αθήνα.
- Μάντζιου Γ. 2006.** Φυλογεωγραφία και πληθυσμιακή γενετική του είδους *Mauremys rivulata* (Chelonia: Geoemydidae) Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης.
- Μαραγκού Π. 1997.** Συγκριτική μελέτη της οικολογίας των συμπάτριων ενδημικών ειδών σαυρών της Πελοποννήσου *Lacerta graeca* (Bedriaga, 1886) και *Podarcis peloponnesiaca* (Bibron & Bory, 1883). Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών.
- Παπανικολάου Δ. 1978.** Γεωλογικές έρευνες στη νήσο Άνδρο. Διδακτορική διατριβή, Τμήμα Γεωλογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Παράσχη Α. Μ. 1988.** Μελέτη των Αραχνών σε οικοσυστήματα μακκίας της νότιας Ελλάδας (ηπειρωτικό-νησιωτικό). Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Παρμακέλης Α. 2003.** Η διαφοροποίηση του γένους *Mastus* (Gastropoda, Pulmonata, Buliminidae) στον Ελλαδικό χώρο. Μια συγκριτική μελέτη με μεθόδους οικολογίας, μορφομετρίας και μοριακής ανάλυσης. Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης.
- Παφίλης Π. 2003.** Προσαρμογές σαυρών της οικογένειας Lacertidae βάσει της θερμικής τους βιολογίας, του μεταβολικού τους ρυθμού και της φυλογενετικής τους ιστορίας. Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Παφίλης Π., Βαλάκος Ε. Δ. 2012.** *Αμφίβια και Ερπετά της Ελλάδας. Οδηγός αναγνώρισης.* Εκδόσεις Πατάκη: Αθήνα.
- Πουλακάκης Ν. 2005.** Διερεύνηση των φυλογενετικών διεργασιών στις σαύρες του γένους *Podarcis* (Sauria: Lacertidae) του ελληνικού χώρου. Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης.
- Σίμου Χ. 2009.** Η αυτοτομία της ουράς σε σαύρες (Reptilia-Sauria): Μηχανισμοί-προσαρμογές. Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Τριάντης Κ. Α. 2006.** Βιογεωγραφία και οικολογία των χερσαίων μαλακίων και ισοπόδων σε νησιά του Αιγαίου σε σχέση με τη έκταση και την περιβαλλοντική ετερογένεια. Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης.
- Χατζηνικολάου Ν. 2003.** Προμελέτη περιβαλλοντικών επιπτώσεων για την προκαταρκτική εκτίμηση και αξιολόγηση που αφορά στο ΧΥΤΑ Δήμου Μήλου: Αθήνα.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΟΙ ΠΙΝΑΚΕΣ

Συμπληρωματικοί Πίνακες Κεφαλαίου 2

Πίνακας Σ2.1. Αναλυτικά τα στοιχεία των δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη. Δίνεται ο κωδικός όπως αναφέρεται στην εικόνα 2.2, τα είδη, οι τοποθεσίες όπου συλλέχθηκαν, ο κωδικός καταχώρησης στην GenBank, πηγή προέλευσης και κωδικός μουσειακής συλλογής (NHMC: Natural History Museum of Crete). μ/δ αναφέρεται σε μη διαθέσιμες αλληλουχίες. ΠΜ. παρούσα μελέτη, 1. Mayer & Beyerlein (2002), 2. Godinho και συν. (2005), 3. Paulo και συν. (2001), 4. Guo και συν. (2011), 5. Bohme και συν. (2007), 6. Ahmadzadeh και συν. (2013b), 7. Fu (2000), 8. Carranza και συν. (2006), 9. Paulo και συν. (2008), 10. Harris και συν. (1998), 11. Pavlicev & Mayer (2009).

Είδη	Κωδικός	NHMC	Τοποθεσία	Χώρα	Cyt b	16S rRNA	NKTR	Αναφορά
<i>L. agilis</i> 1				Austria	DQ097090	AF149963	μ/δ	1, 2
<i>L. agilis</i> 2				Germany	–	AF373032	μ/δ	3
<i>L. agilis</i> 3				Holland	–	AF080300	μ/δ	2
<i>L. agilis</i> 4				Holland	AF080299	DQ097100	μ/δ	2
<i>L. agilis</i> 5	1	NHMC80.3.64.3	Makedonia: Drama	Greece	KJ940307	KJ940218	KJ940396	ΠΜ
<i>L. agilis</i> 6	2	NHMC80.3.64.9	Makedonia: Florina	Greece	KJ940308	KJ940219	KJ940397	ΠΜ
<i>L. agilis</i> 7			Fuhai: Xinjiang	China	–	DQ658846	μ/δ	4
<i>L. b. bilineata</i>			Bilbao	Spain	AM292988	AF149971	μ/δ	5, 2
<i>L. b. chloronota</i>			Calabria: Aspromonte	Italy	AF233421	AF149972	μ/δ	2
<i>L. b. chlorosecunda</i>			Puglia: Noci	Italy	AM233419	AF149973	μ/δ	2
<i>L. b. fejervaryi</i>			Melfi	Italy	AM292990	–	μ/δ	
<i>L. bilineata</i> ssp. 1	3	NHMC80.3.61.26	Epirus: Ioannina	Greece	KJ940309	KJ940220	KJ940398	ΠΜ
<i>L. bilineata</i> ssp. 2	4	NHMC80.3.61.82	Epirus: Ioannina	Greece	KJ940310	KJ940221	KJ940399	ΠΜ
<i>L. bilineata</i> ssp. 3	5	NHMC80.3.61.2	Epirus: Arta	Greece	KJ940311	KJ940222	KJ940400	ΠΜ
<i>L. bilineata</i> ssp. 4	6		Epirus: Arta	Greece	AM292971	AF149974	μ/δ	5, 2
<i>L. v. viridis</i>			Niederösterreich	Austria	AM087319	AF149978	μ/δ	5, 1
<i>L. v. meridionalis</i> 1	7	NHMC80.3.61.51	Thrace: Evros	Greece	KJ940312	KJ940223	KJ940401	ΠΜ
<i>L. v. meridionalis</i> 2	8	NHMC80.3.61.66	Thrace: Rodopi	Greece	KJ940313	KJ940224	μ/δ	ΠΜ
<i>L. v. meridionalis</i> 3	9	NHMC80.3.61.63	Thrace: Samothraki isl.	Greece	KJ940314	KJ940225	μ/δ	ΠΜ
<i>L. v. meridionalis</i> 4	10	NHMC80.3.61.62	Thrace: Samothraki isl.	Greece	KJ940315	KJ940226	KJ940402	ΠΜ
<i>L. v. meridionalis</i> 5	11	NHMC80.3.61.10	Makedonia: Kavala	Greece	KJ940316	KJ940227	μ/δ	ΠΜ
<i>L. v. meridionalis</i> 6	12	NHMC80.3.61.12	Makedonia: Kavala	Greece	KJ940317	KJ940228	KJ940403	ΠΜ
<i>L. v. meridionalis</i> YE1	13		Makedonia: Drama	Greece	AM087228	AF149976	μ/δ	5; 1
<i>L. v. meridionalis</i> 7	14	NHMC80.3.61.27	Makedonia: Drama	Greece	KJ940318	KJ940229	KJ940404	ΠΜ
<i>L. v. meridionalis</i> 8	15	NHMC80.3.61.33	Makedonia: Drama	Greece	KJ940319	KJ940230	KJ940405	ΠΜ
<i>L. v. meridionalis</i> 9	16	NHMC80.3.61.17	Makedonia: Drama	Greece	KJ940320	KJ940231	μ/δ	ΠΜ
<i>L. v. meridionalis</i> 10	17	NHMC80.3.61.23	Makedonia: Drama	Greece	KJ940321	KJ940232	KJ940406	ΠΜ
<i>L. v. meridionalis</i> 11	18	NHMC80.3.61.77	Makedonia: Drama	Greece	KJ940322	KJ940233	μ/δ	ΠΜ
<i>L. v. guentherpetersi</i> 1	19	NHMC80.3.61.1	Makedonia: Pierias	Greece	KJ940323	KJ940234	KJ940407	ΠΜ
<i>L. v. guentherpetersi</i> 2	20	NHMC80.3.61.41	Thessalia: Trikala	Greece	KJ940324	KJ940235	μ/δ	ΠΜ
<i>L. v. guentherpetersi</i> 3	21	NHMC80.3.61.38	Thessalia: Trikala	Greece	KJ940325	KJ940236	KJ940408	ΠΜ
<i>L. v. guentherpetersi</i> 4	22	NHMC80.3.61.40	Thessalia: Trikala	Greece	KJ940326	KJ940237	μ/δ	ΠΜ
<i>L. v. guentherpetersi</i> 5	23	NHMC80.3.61.15	Thessalia: Larissa	Greece	KJ940327	KJ940238	μ/δ	ΠΜ
<i>L. v. guentherpetersi</i> 6	24	NHMC80.3.61.13	Thessalia: Larissa	Greece	KJ940328	KJ940239	KJ940409	ΠΜ
<i>L. t. dobrogica</i> 1	25	NHMC80.3.60.316	Thrace: Rodopi	Greece	KJ940329	KJ940240	KJ940410	ΠΜ
<i>L. t. dobrogica</i> 2	26	NHMC80.3.61.67	Thrace: Evros	Greece	KJ940330	KJ940241	KJ940411	ΠΜ
<i>L. t. dobrogica</i> 3	27		Thrace: Evros	Greece	–	AF149935	μ/δ	1
<i>L. t. trilineata</i> 1	28	NHMC80.3.60.311	Makedonia: Florina	Greece	KJ940331	KJ940242	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 2	29	NHMC80.3.61.69	Makedonia: Imathia	Greece	KJ940332	KJ940243	KJ940412	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 3	30	NHMC80.3.61.85	Thessalia: Trikala	Greece	KJ940333	KJ940244	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 4	31	NHMC80.3.61.64	Thessalia: Magnisias	Greece	KJ940334	KJ940245	KJ940413	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 5	32	NHMC80.3.61.65	Thessalia: Magnisias	Greece	KJ940335	KJ940246	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 6	33	NHMC80.3.61.3	Thessalia: Karditsa	Greece	KJ940336	KJ940247	KJ940414	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 7	34	NHMC80.3.61.60	Thessalia: Larissa	Greece	KJ940337	KJ940248	μ/δ	ΠΜ

<i>L. t. trilineata</i> 8	35	NHMC80.3.60.293	St. Ellada: Karpenisi	Greece	KJ940338	KJ940249	KJ940415	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 9	36	NHMC80.3.61.50	St. Ellada: Messologi	Greece	KJ940339	KJ940250	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 10	37	NHMC80.3.60.315	St. Ellada: Messologi	Greece	KJ940340	KJ940251	KJ940416	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 11	38	NHMC80.3.60.317	St. Ellada: Evrytania	Greece	KJ940341	KJ940252	KJ940417	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 12	39	NHMC80.3.61.55	St. Ellada: Evvoia isl.	Greece	KJ940342	KJ940253	KJ940418	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 13	40	NHMC80.3.61.56	St. Ellada: Evvoia isl.	Greece	KJ940343	KJ940254	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 14	41	NHMC80.3.61.57	St. Ellada: Evvoia isl.	Greece	KJ940344	KJ940255	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 15	42	NHMC80.3.61.58	St. Ellada: Evvoia isl.	Greece	KJ940345	KJ940256	KJ940419	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 16	43	NHMC80.3.60.313	St. Ellada: Attiki	Greece	KJ940346	KJ940257	KJ940420	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 17	44		St. Ellada: Attiki	Greece	KJ940347	KJ940258	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 18	45	NHMC80.3.61.54	St. Ellada: Fthiotida	Greece	KJ940348	KJ940259	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 19	46	NHMC80.3.61.72	St. Ellada: Fokida	Greece	KJ940349	KJ940260	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 20	47	NHMC80.3.61.71	St. Ellada: Fokida	Greece	KJ940350	KJ940261	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 21	48		St. Ellada: Fokida	Greece	KJ940351	KJ940262	KJ940421	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 22	49	NHMC80.3.60.285	St. Ellada: Voiotia	Greece	KJ940352	KJ940263	KJ940422	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 23	50	NHMC80.3.60.170	Sporades: Skyros isl.	Greece	KJ940353	KJ940264	KJ940423	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 24	51		Sporades: Skyros isl.	Greece	KJ940354	KJ940265	KJ940424	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 25	52		Sporades: Skyros isl.	Greece	KJ940355	KJ940266	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 26	53	NHMC80.3.60.320	Peloponnisos: Lakonia	Greece	KJ940356	KJ940267	KJ940425	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 27	54	NHMC80.3.61.43	Peloponnisos: Achaia	Greece	KJ940357	KJ940268	KJ940426	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 28	55		Peloponnisos: Ileia	Greece	KJ940358	KJ940269	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 29	56	NHMC80.3.60.318	Peloponnisos: Ileia	Greece	KJ940359	KJ940270	KJ940427	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 30	57	NHMC80.3.60.296	Peloponnisos: Achaia	Greece	KJ940360	KJ940271	KJ940428	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 31	58	NHMC80.3.60.319	Peloponnisos: Arkadia	Greece	KJ940361	KJ940272	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. trilineata</i> 32	59	NHMC80.3.60.309	Peloponnisos: Arkadia	Greece	KJ940362	KJ940273	KJ940429	ΠΜ
<i>L. t. panakhaikensis</i> 1	60	NHMC80.3.60.310	Peloponnisos: Argolida	Greece	KJ940363	KJ940274	KJ940430	ΠΜ
<i>L. t. panakhaikensis</i> 2	61	NHMC80.3.60.210	Peloponnisos: Argolida	Greece	KJ940364	KJ940275	KJ940431	ΠΜ
<i>L. t. panakhaikensis</i> YK31	62		Peloponnisos: Korithia	Greece	—	AF149969	μ/δ	1
<i>L. t. major</i> 1	63	NHMC80.3.60.217	Ioannina: Mystras	Greece	KJ940365	KJ940276	KJ940432	ΠΜ
<i>L. t. major</i> 2	64	NHMC80.3.61.44	Ioannina: Elefthero	Greece	KJ940366	KJ940277	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. major</i> 3	65	NHMC80.3.61.45	Ioannina: Elefthero	Greece	KJ940367	KJ940278	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. major</i> 4	66	NHMC80.3.60.314	Ioannina: Voidomatis riv.	Greece	KJ940368	KJ940279	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. major</i> 5	67	NHMC80.3.61.76	Eptanisa: Kerkira isl.	Greece	KJ940369	KJ940280	KJ940433	ΠΜ
<i>L. t. major</i> 6	68	NHMC80.3.61.94	Eptanisa: Lefkada isl.	Greece	KJ940370	KJ940281	KJ940434	ΠΜ
<i>L. t. major</i> XAN1	69		Epirus: Metsovo	Greece	—	AF149965	μ/δ	1
<i>L. t. major</i> XAS1	70		Epirus: Preveza	Greece	—	AF149966	μ/δ	1
<i>L. t. polylepidota</i> 1	71	NHMC80.3.60.172	Kythera isl.	Greece	KJ940371	KJ940282	KJ940435	ΠΜ
<i>L. t. polylepidota</i> 2	72	NHMC80.3.60.208	Kythera isl.	Greece	KJ940372	KJ940283	KJ940436	ΠΜ
<i>L. t. polylepidota</i> 3	73	NHMC80.3.60.173	Kythera isl.	Greece	KJ940373	KJ940284	KJ940437	ΠΜ
<i>L. t. polylepidota</i> 4	74	NHMC80.3.60.174	Kythera isl.	Greece	KJ940374	KJ940285	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. polylepidota</i> 5	75	NHMC80.3.60.171	Crete isl: Irakleio	Greece	KJ940375	KJ940286	KJ940438	ΠΜ
<i>L. t. polylepidota</i> 6	76	NHMC80.3.60.175	Crete isl: Irakleio	Greece	KJ940376	KJ940287	KJ940439	ΠΜ
<i>L. t. polylepidota</i> 7	77	NHMC80.3.60.214	Crete isl: Irakleio	Greece	KJ940377	KJ940288	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. polylepidota</i> 8	78	NHMC80.3.60.187	Crete isl: Rethymno	Greece	KJ940378	KJ940289	KJ940440	ΠΜ
<i>L. t. polylepidota</i> 9	79	NHMC80.3.60.200	Crete isl: Rethymno	Greece	KJ940379	KJ940290	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. polylepidota</i> 10	80	NHMC80.3.60.216	Crete isl: Chania	Greece	KJ940380	KJ940291	KJ940441	ΠΜ
<i>L. t. polylepidota</i> 11	81	NHMC80.3.60.252	Crete isl: Chania	Greece	KJ940381	KJ940292	KJ940442	ΠΜ
<i>L. t. polylepidota</i> WK8	82		Crete isl: Chania	Greece	—	AF149964	μ/δ	1
<i>L. t. hansschweizeri</i> 1	83	NHMC80.3.60.209	Cyclades: Milos isl.	Greece	KJ940382	KJ940293	KJ940443	ΠΜ
<i>L. t. hansschweizeri</i> 2	84		Cyclades: Milos isl.	Greece	KJ940383	KJ940294	KJ940444	ΠΜ
<i>L. t. citrovittata</i> 1	85		Cyclades: Naxos isl.	Greece	KJ940384	KJ940295	KJ940445	ΠΜ
<i>L. t. citrovittata</i> 2	86		Cyclades: Andros isl.	Greece	KJ940385	KJ940296	KJ940446	ΠΜ
<i>L. t. citrovittata</i> 3	87		Cyclades: Andros isl.	Greece	KJ940386	KJ940297	KJ940447	ΠΜ
<i>L. t. diplochondroides</i> 1	88	NHMC80.3.60.277	Dodekanisa: Rodos isl.	Greece	KJ940387	KJ940298	KJ940448	ΠΜ
<i>L. t. diplochondroides</i> 2	89	NHMC80.3.60.278	Dodekanisa: Rodos isl.	Greece	KJ940388	KJ940299	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. diplochondroides</i> 3	90	NHMC80.3.60.276	Dodekanisa: Rodos isl.	Greece	KJ940389	KJ940300	KJ940449	ΠΜ
<i>L. t. diplochondroides</i> DB6424	91		Konya: Beyşehir	Turkey	KC897019	KC896963	μ/δ	6
<i>L. t. diplochondroides</i> DB6429	92		Konya: Beyşehir	Turkey	KC897020	KC896964	μ/δ	6
<i>L. t. cariensis</i> 1	93	NHMC80.3.60.286	Samos isl.	Greece	KJ940390	KJ940301	KJ940450	ΠΜ
<i>L. t. cariensis</i> 2	94	NHMC80.3.61.19	Chios isl.	Greece	KJ940391	KJ940302	KJ940451	ΠΜ
<i>L. t. cariensis</i> DB6417	95		Konya	Turkey	KC897014	KC896958	μ/δ	6

<i>L. t. cariensis</i> DB6418	96	Konya	Turkey	KC897015	KC896959	μ/δ	6
<i>L. t. cariensis</i> DB6419	97	Konya	Turkey	KC897016	KC896960	μ/δ	6
<i>L. t. cariensis</i> DB6420	98	Konya	Turkey	KC897017	KC896961	μ/δ	6
<i>L. t. cariensis</i> DB6422	99	Konya	Turkey	KC897018	KC896962	μ/δ	6
<i>L. trilineata</i> ssp. 1	100	NHMC80.3.60.185 Lesvos isl.	Greece	KJ940392	KJ940303	KJ940452	ΠΜ
<i>L. trilineata</i> ssp. 2	101	NHMC80.3.60.186 Lesvos isl.	Greece	KJ940393	KJ940304	KJ940453	ΠΜ
<i>L. trilineata</i> ssp. 3	102	NHMC80.3.60.264 Lesvos isl.	Greece	KJ940394	KJ940305	μ/δ	ΠΜ
<i>L. trilineata</i> ssp. 4	103	NHMC80.3.60.207 Lesvos isl.	Greece	KJ940395	KJ940306	μ/δ	ΠΜ
<i>L. t. galatiensis</i> DB6427	104	Ankara	Turkey	KC897021	KC896965	μ/δ	6
<i>L. m. ciliciensis</i> DB6411	105	Hatay	Turkey	KC896966	KC896910	μ/δ	6
<i>L. m. ciliciensis</i> DB6412	106	Hatay	Turkey	KC896968	KC896912	μ/δ	6
<i>L. m. ciliciensis</i> DB6413	107	Hatay	Turkey	KC896967	KC896911	μ/δ	6
<i>L. m. ciliciensis</i> DB6414	108	Hatay	Turkey	KC896969	KC896913	μ/δ	6
<i>L. m. ciliciensis</i> DB6440	109	Sivas	Turkey	KC896970	KC896914	μ/δ	6
<i>L. m. ciliciensis</i> DB6444	110	Osmaniye	Turkey	KC896971	KC896915	μ/δ	6
<i>L. m. ciliciensis</i> DB6445	111	Osmaniye	Turkey	KC896972	KC896916	μ/δ	6
<i>L. m. ciliciensis</i> DB6446	112	Adana	Turkey	KC896973	KC896917	μ/δ	6
<i>L. m. ciliciensis</i> DB6447	113	Kayseri	Turkey	KC896974	KC896918	μ/δ	6
<i>L. m. israelica</i>	114	Haifa	Israel	KC896975	KC896919	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB10163	115	Ararat	Armenia	KC896976	KC896920	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB10169	116	Syunik	Armenia	KC896977	KC896921	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6333	117	Ardabil	Iran	KC896978	KC896922	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6334	118	Ardabil	Iran	KC896979	KC896923	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6335	119	Ardabil	Iran	KC896980	KC896924	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6336	120	Ardabil	Iran	KC896981	KC896925	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6337	121	Ardabil	Iran	KC896982	KC896926	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6338	122	Ardabil	Iran	KC896983	KC896927	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6343	123	Lorestan	Iran	KC896984	KC896928	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6344	124	Lorestan	Iran	KC896985	KC896929	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6345	125	Lorestan	Iran	KC896986	KC896930	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6346	126	Lorestan	Iran	KC896987	KC896931	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6348	127	Lorestan	Iran	KC896988	KC896932	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6364	128	Malatya	Turkey	KC896989	KC896933	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6366	129	Malatya	Turkey	KC896990	KC896934	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6367	130	Erzurum	Turkey	KC896992	KC896936	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6368	131	Malatya	Turkey	KC896991	KC896935	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6421	132	Van	Turkey	KC896993	KC896937	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6425	133	Tokat	Turkey	KC896994	KC896938	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6428	134	Van	Turkey	KC896995	KC896939	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6432	135	Erzincan	Turkey	KC896996	KC896940	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6433	136	Erzincan	Turkey	KC896997	KC896941	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6434	137	Erzincan	Turkey	KC896998	KC896942	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6441	138	Erzincan	Turkey	KC896999	KC896943	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6442	139	Sivas	Turkey	KC897000	KC896944	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6443	140	Sivas	Turkey	KC897001	KC896945	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6449	141	Adiyaman	Turkey	KC897002	KC896946	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> DB6450	142	Adiyaman	Turkey	KC897003	KC896947	μ/δ	6
<i>L. m. media</i> 1	143	Abovyan	Armenia	U88603	AF206590	μ/δ	7
<i>L. m. wolterstorffi</i> DB6361	144	Bcharre	Lebanon	KC897004	KC896948	μ/δ	6
<i>L. m. wolterstorffi</i> DB6362	145	Zgharta	Lebanon	KC897005	KC896949	μ/δ	6
<i>L. m. wolterstorffi</i> DB6375	146	Bcharre	Lebanon	KC897006	KC896950	μ/δ	6
<i>L. m. wolterstorffi</i> Lme1	147		Lebanon	KC897007	KC896951	μ/δ	6
<i>L. m. wolterstorffi</i> Lme2	148		Lebanon	KC897008	KC896952	μ/δ	6
<i>L. m. wolterstorffi</i> Lme3	149		Lebanon	KC897009	KC896953	μ/δ	6
<i>L. m. wolterstorffi</i> DB6415	150	Hatay	Turkey	KC897010	KC896954	μ/δ	6
<i>L. m. wolterstorffi</i> DB6416	151	Hatay	Turkey	KC897011	KC896955	μ/δ	6
<i>L. m. wolterstorffi</i> DB6418	152	Hatay	Turkey	KC897012	KC896956	μ/δ	6
<i>L. pamphylica</i> DB6423	153	Antalya	Turkey	KC897013	KC896957	μ/δ	6
<i>L. pamphylica</i> 1			Turkey	DQ097089	AF149970	μ/δ	2, 1
<i>L. strigata</i>			Georgia	DQ097091	DQ097098	μ/δ	2
<i>L. schreiberi</i>		Serra da Lousa	Portugal	AF372103	DQ097097	μ/δ	2

<i>G. atlantica atlantica</i>	Fuerteventura	Canary isl.	AY151836	DQ298679	μ/δ	8
<i>G. intermedi</i>	Tenerife	Canary isl.	AY151844	DQ298681	μ/δ	8
<i>G. galloti galloti</i>	S. Tenerife	Canary isl.	AY151840	DQ298686	μ/δ	8
<i>G. caesaris gomerae</i>	La Gomera	Canary isl.	AY151842	DQ298683	μ/δ	8
<i>G. caesaris caesaris</i>	El Hierro	Canary isl.	AY151843	DQ298684	μ/δ	8
<i>G. stehlini</i>	Gran Canaria	Canary isl.	AY151838	DQ298688	μ/δ	8
<i>T. pater</i>	Tabarka	Tunisia	AF378964	AF378958	μ/δ	9
<i>T. tangitanus</i>	Azrou	Morocco	AF378957	AF378959	μ/δ	9
<i>T. princeps</i>	–	–	AF080383	AF080384	μ/δ	10
<i>T. lepida</i>	Alicante	Spain	GQ142119	GQ142094	μ/δ	11

Πίνακας Σ2.2. Γενετικές αποστάσεις (%) μεταξύ των υποειδών της *Lacerta trilineata*. Οι τιμές για το *cyt b* (κάτω διαγώνιος) και για το *16S rRNA* (επάνω διαγώνιος) βασίζονται στο εξελικτικό μοντέλο νουκλεοτιδικής υποκατάστασης Tamura & Nei (TrN). Οι τιμές στη διαγώνιο (έντονη γραμματοσειρά) αναφέρονται στις γενετικές αποστάσεις εντός του κάθε υποείδους [*cyt b* (16S)].

Υποείδη	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
(γενεαλογική γραμμή)	(I)	(I)	(I)	(II)	(III)	(III)	(IV)	(V)	(V)	(V)	(VI)
1. <i>L. t. t.</i> (I)	1,2(0,3)	0,6	0,8	1,7	0,6	0,5	2,3	2,6	2,4	2,5	2,6
2. <i>L. t. m.</i> (I)	0,9	0,7(0,5)	0,7	1,7	0,5	0,5	2,6	3,0	2,8	2,8	3,2
3. <i>L. t. h.</i> (I)	1,1	0,8	0,3(0,7)	1,7	0,4	0,4	2,8	3,1	3,1	3,1	3,1
4. <i>L. t. t.</i> (II)	3,6	3,5	3,6	0,9(0,9)	1,5	1,3	2,7	3,4	3,1	3,1	3,5
5. <i>L. t. pan.</i> (III)	3,3	3,2	3,4	3,8	0,5(0,4)	0,3	2,7	3,0	2,9	2,9	3,1
6. <i>L. t. pol.</i> (III)	4,4	4,4	4,6	4,9	2,0	1,8(0,3)	2,5	2,9	2,8	2,8	3,0
7. <i>L. t. cit.</i> (IV)	9,0	9,0	9,2	8,1	7,8	8,4	1,8(0,6)	2,5	2,3	2,3	2,8
8. <i>L. t. car.</i> (V)	9,4	9,4	9,8	8,7	8,4	9,4	6,4	0,3(0,2)	0,1	0,2	1,7
9. <i>L. t. dob.</i> (V)	9,8	9,7	10,3	9,3	8,3	9,2	6,5	1,5	0,8(0,0)	0,1	1,6
10. <i>L. t. dipl.</i> (V)	9,3	9,1	9,6	8,6	7,7	9,0	5,8	1,5	0,6	1,6(0,2)	1,7
11. <i>L. t. ssp.</i> (VI)	8,9	8,8	9,2	8,1	7,6	9,3	5,6	3,7	3,7	3,2	0,7(0,5)

Σημείωση: *L.t.t.*, *L. t. trilineata*; *L.t.pan.*, *L. t. panakhaikensis*; *L.t.m.*, *L. t. major*; *L.t.h.*, *L. t. hansschweizeri*; *L.t.p.*, *L. t. polylepidota*; *L.t.ci.*, *L. t. citrovittata*; *L.t.ca.*, *L. t. cariensis*; *L.t.do.*, *L. t. dobrogica*; *L.t.di.*, *L. t. diplochondroides*; *L.t.ssp.*, *L. trilineata ssp.*

Συμπληρωματικοί Πίνακες Κεφαλαίου 3

Πίνακας Σ3.1. Α) Σύγκριση ανά δύο για το δείκτη ομοιότητας Jaccard (Jaccard 1908), μεταξύ των φύλων και των ηλικιακών κλάσεων από τον ίδιο ή διαφορετικό τύπο περιβαλλοντος διαβίωσης (νησιά ή χέρσος), για τις τρεις εποχές που μελετήθηκαν και Β) Σύγκριση του δείκτη Jaccard, ύστερα από ομαδοποίηση των δύο φύλων από το ίδιο περιβάλλον, μεταξύ πληθυσμών και ηλικιακών κλάσεων από το ίδιο ή διαφορετικό περιβάλλον. Η αναφέρεται στη χέρσο, Ν στα νησιά, Α στις αρσενικές σαύρες, Θ στις θηλυκές, Αν στις ανήλικες, Ε στις ενήλικες ΑΝ στην άνοιξη, ΚΑΛ στο καλοκαίρι και ΦΘ στο φθινόπωρο.

A	N_AN_Θ	N_KAA_Θ	N_ΦΘ_Θ	H_AN_Θ	H_KAA_Θ	H_ΦΘ_Θ	N_AN_A	N_KAA_A	N_ΦΘ_A	H_AN_A	H_KAA_A	H_ΦΘ_A	N_AN_Av	N_KAA_Av	H_AN_Av	H_KAA_Av
N_AN_Θ	1															
N_KAA_Θ	0,5	1														
N_ΦΘ_Θ	0,71429	0,53333	1													
H_AN_Θ	0,71429			1												
H_KAA_Θ		0,5		0,75	1											
H_ΦΘ_Θ				0,5	0,58333	1										
N_AN_A	0,58824						1			0,76471	1					
N_KAA_A		0,66667					0,57143	0,52941	1							
N_ΦΘ_A			0,35714							0,57143						
H_AN_A				0,52941			0,70588									
H_KAA_A					0,6			0,76471		0,61111	1					
H_ΦΘ_A										0,5625		1				
N_AN_Av	0,78571						0,6						1			
N_KAA_Av		0,53333						0,58824					0,61538	1		
H_AN_Av				0,58333						0,47059			0,53846		1	
H_KAA_Av					0,66667						0,46667			0,46154	0,38462	1

B	N_AN_E	N_KAA_E	N_ΦΘ_E	N_AN_Av	N_KAA_Av	H_AN_E	H_KAA_E	H_ΦΘ_E	H_AN_Av	H_KAA_Av
N_AN_E	1									
N_KAA_E	0,8500	1								
N_ΦΘ_E	0,8333	0,7895	1							
N_AN_Av	0,6667			1						
N_KAA_Av				0,6429	1					
H_AN_E	0,8947					1				
H_KAA_E		0,8421				0,7000	1			
H_ΦΘ_E			0,5263			0,6000	0,7647	1		
H_AN_Av				0,5000		0,4211			1	
H_KAA_Av					0,4286		0,4706		0,3846	1

Πίνακας Σ3.2. Σύγκριση ανά δύο του εύρους της τροφικής διάστασης του οικολογικού θόκου (niche breadth, H'), μεταξύ των φύλων και των ηλικιακών κλάσεων, που προέρχονται από το ίδιο ή διαφορετικό περιβάλλον διαβίωσης (νησιωτικό ή ηπειρωτικό), για τις τρείς εποχές του έτους που μελετήθηκαν. Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0.05$) δίνονται με έντονη γραμματοσειρά. Η αναφέρεται στη χέρσο, N στο νησί, A στις αρσενικές σάυρες, Θ στις θηλυκές, AN στα ανήλικα, AN στην άνοιξη, KAA στο καλοκαίρι και ΦΘ στο φθινόπωρο.

	N AN Θ	N KAA Θ	N ΦΘ Θ	H AN Θ	H KAA Θ	H ΦΘ Θ	N AN A	N KAA A	N ΦΘ A	H AN A	H KAA A	H ΦΘ A	N AN Av	N KAA Av	H AN Av	H KAA Av
N AN_Θ																
N KAA_Θ																
N ΦΘ_Θ																
H AN_Θ																
H KAA_Θ																
H ΦΘ_Θ																
N AN_A	$t = 0.664,$ $df = 263.56,$ $p = 0.507$															
N KAA_A		$t = 0.903,$ $df = 190.49,$ $p = 0.368$														
N ΦΘ_A			$t = 0.304,$ $df = 100.93,$ $p = 0.762$													
H AN_A			$t = 0.232,$ $df = 320.39,$ $p = 0.817$													
H KAA_A			$t = 0.729,$ $df = 246.04,$ $p = 0.467$													
H ΦΘ_A			$t = 1.191,$ $df = 95.599,$ $p = 0.236$													
N AN_Av	$t = 1.471,$ $df = 102.33,$ $p = 0.1443$						$t = 2.161,$ $df = 97.131,$ $p = 0.033$									
N KAA_Av		$t = 1.547,$ $df = 39.482,$ $p = 0.013$						$t = 2.076,$ $df = 42.65,$ $p = 0.044$								
H AN_Av			$t = 0.923,$ $df = 44.15,$ $p = 0.361$							$t = 0.748,$ $df = 45.813,$ $p = 0.458$						
H KAA_Av			$t = 1.647,$ $df = 66.592,$ $p = 0.104$							$t = 2.332,$ $df = 57.867,$ $p = 0.023$						

Πίνακας Σ3.3. Συμμετρικός δείκτης του Pianka για την ομοιότητα της τροφικής διάστασης του οικολογικού θόκου (Qjk, Pianka 1975), μεταξύ των φύλων και των ηλικιακών κλάσεων από το ίδιο ή διαφορετικό περιβάλλον διαβίωσης (ηπειρωτικό ή νησιωτικό), για τις τρεις εποχές του έτους που εξετάστηκαν. Α) Σύμφωνα με το ποσοστό του συνολικού αριθμού ατόμων λείας στα στομάγια (%n) και Β) Σύμφωνα με το ποσοστό των σαυρών ενός πληθυσμού που έχουν καταναλώσει ένα συγκεκριμένο taxon λείας (f). Η αναφέρεται στη χέρσο, Ν στο νησί, Α στις αρσενικές σάυρες, Θ στις θηλυκές, Αν στα ανήλικα, ΑΝ στην άνοιξη, ΚΑΛ στο καλοκαίρι και ΦΘ στο φθινόπωρο.

%n	N_AN_Θ	N_KAA_Θ	N_ΦΘ_Θ	H_AN_Θ	H_KAA_Θ	H_ΦΘ_Θ	N_AN_A	N_KAA_A	N_ΦΘ_A	H_AN_A	H_KAA_A	H_ΦΘ_A	N_AN_Αν	N_KAA_Αν	H_AN_Αν	H_KAA_Αν
N_AN_Θ	1	0,7721	0,9242	0,9299			0,9412						0,8025			
N_KAA_Θ		1	0,8751		0,8072			0,7789						0,7869		
N_ΦΘ_Θ			1			0,8679			0,8737							
H_AN_Θ				1	0,9353	0,9569									0,8408	
H_KAA_Θ					1	0,9327		0,9223								0,8615
H_ΦΘ_Θ						1			0,9473							
N_AN_A							1		0,9703	0,9447			0,6974			
N_KAA_A								1	0,954		0,9204			0,9669		
N_ΦΘ_A									1			0,9291				
H_AN_A										1	0,9642	0,9522			0,8546	
H_KAA_A											1	0,9907				0,7611
H_ΦΘ_A												1				
N_AN_Αν													1	0,7839	0,8063	
N_KAA_Αν														1		0,8181
N_ΦΘ_Αν															1	
H_AN_Αν																1
H_KAA_Αν																
F	N_AN_Θ	N_KAA_Θ	N_ΦΘ_Θ	H_AN_Θ	H_KAA_Θ	H_ΦΘ_Θ	N_AN_A	N_KAA_A	N_ΦΘ_A	H_AN_A	H_KAA_A	H_ΦΘ_A	N_AN_Αν	N_KAA_Αν	H_AN_Αν	H_KAA_Αν
N_AN_Θ	1	0,879	0,9349	0,9312			0,8498						0,9053			
N_KAA_Θ		1	0,9434		0,8734			0,8358						0,8424		
N_ΦΘ_Θ			1			0,7729			0,7976							
H_AN_Θ				1	0,9257	0,8761									0,7147	
H_KAA_Θ					1	0,9287		0,9333								0,8793
H_ΦΘ_Θ						1			0,8198							
N_AN_A							1		0,9619	0,8908			0,7399			
N_KAA_A								1	0,8992		0,9066			0,9574		
N_ΦΘ_A									1		0	0,8804				
H_AN_A										1	0,9411	0,8871			0,8151	
H_KAA_A											1	0,941				0,8689
H_ΦΘ_A												1				
N_AN_Αν													1	0,8306	0,8179	
N_KAA_Αν														1		0,8648
N_ΦΘ_Αν															1	
H_AN_Αν																1
H_KAA_Αν																

Πίνακας Σ3.4. Έλεγχος Chi-squared για την ταξινομητική σύνθεση της λείας, μεταξύ των φύλων και των ηλικιακών κλάσεων από το ίδιο ή διαφορετικό περιβάλλον διαβίωσης (ηπειρωτικό ή νησιωτικό), για τις τρεις εποχές του έτους που εξετάστηκαν. Η αναφέρεται στη χέρσο, Ν στο νησί, Ε στις ενήλικες σαύρες, ΑΝ στις ανήλικες, ΑΝ στην άνοιξη, ΚΑΛ στο καλοκαίρι και ΦΘ στο φθινόπωρο.

	N_AN_E	N_KAΛ_E	N_ΦΘ_E	H_AN_E	H_KAΛ_E	H_ΦΘ_E	N_AN_Av	N_KAΛ_Av	H_AN_Av	H_KAΛ_Av
N_AN_E										
N_KAΛ_E	$\chi^2 = 44,023$, $df = 18$, $p = 0,048$									
N_ΦΘ_E	$\chi^2 = 14,454$, $df = 16$, $p = 0,498$	$\chi^2 = 14,454$, $df = 16$, $p = 0,498$								
H_AN_E	$\chi^2 = 36,854$, $df = 17$, $p = 0,003$									
H_KAΛ_E		$\chi^2 = 59,223$, $df = 18$, $p < 0,001$		$\chi^2 = 39,622$, $df = 18$, $p = 0,001$						
H_ΦΘ_E			$\chi^2 = 39,088$, $df = 16$, $p < 0,001$	$\chi^2 = 62,812$, $df = 18$, $p < 0,001$	$\chi^2 = 20,426$, $df = 15$, $p = 0,023$					
N_AN_Av	$\chi^2 = 38,456$, $df = 16$, $p = 0,001$									
N_KAΛ_Av		$\chi^2 = 30,486$, $df = 17$, $p = 0,008$					$\chi^2 = 12,149$, $df = 12$, $p = 0,445$			
H_AN_Av				$\chi^2 = 35,327$, $df = 17$, $p = 0,021$			$\chi^2 = 13,677$, $df = 12$, $p = 0,322$			
H_KAΛ_Av					$\chi^2 = 60,675$, $df = 15$, $p < 0,001$			$\chi^2 = 14,784$, $df = 12$, $p = 0,203$	$\chi^2 = 19,544$, $df = 12$, $p = 0,014$	

Πίνακας Σ3.5. Συμμετρικός δείκτης του Pianka για την ομοιότητα της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου (Qjk, Pianka 1975), ύστερα από ομαδοποίηση των δύο φύλων από το ίδιο περιβάλλον, μεταξύ των πληθυσμών και των ηλικιακών κλάσεων από το ίδιο ή διαφορετικό περιβάλλον διαβίωσης (πειρωτικό ή νησιωτικό), για τις τρεις εποχές του έτους που εξετάστηκαν. Α) Σύμφωνα με το ποσοστό του συνολικού αριθμού ατόμων λείας στα στοιχεία (%) και Β) Σύμφωνα με το ποσοστό των σαυρών ενός πληθυσμού που έχουν καταναλώσει ένα συγκεκριμένο taxon λείας (f). Η αναφέρεται στη χέρσο, Ν στο νησί, Ε στις ενήλικες σάυρες, Αν στις ανήλικες, ΑΝ στην άνοιξη, ΚΑΛ στο καλοκαίρι και ΦΘ στο φθινόπωρο.

%n	N_AN_E	N_KAA_E	N_ΦΘ_E	N_AN_Av	N_KAA_Av	H_AN_E	H_KAA_E	H_ΦΘ_E	H_AN_Av	H_KAA_Av
N_AN_E	1	0,956	0,985	0,751		0,977				
N_KAA_E		1	0,954		0,945		0,917			
N_ΦΘ_E			1					0,934		
N_AN_Av				1	0,784				0,806	
N_KAA_Av					1					0,818
H_AN_E						1	0,973	0,973	0,86	
H_KAA_E							1	0,981		0,801
H_ΦΘ_E								1		
H_AN_Av									1	0,699
H_KAA_Av										1

F	N_AN_E	N_KAA_E	N_ΦΘ_E	N_AN_Av	N_KAA_Av	H_AN_E	H_KAA_E	H_ΦΘ_E	H_AN_Av	H_KAA_Av
N_AN_E	1	0,979	0,967	0,831		0,934				
N_KAA_E		1	0,953		0,935		0,941			
N_ΦΘ_E			1					0,873		
N_AN_Av				1	0,829				0,808	
N_KAA_Av					1					0,86
H_AN_E						1	0,961	0,927	0,786	
H_KAA_E							1	0,949		0,872
H_ΦΘ_E								1		
H_AN_Av									1	0,644
H_KAA_Av										1

Πίνακας Σ3.6. Σύγκριση ανά δύο του εύρους της τροφικής διάστασης του οικολογικού θώκου (niche breadth, H'), ύστερα από ομαδοποίηση των φύλων από το ίδιο περιβάλλον διαβίωσης, μεταξύ των πληθυσμών και των ηλικιακών κλάσεων, που προέρχονται από το ίδιο ή διαφορετικό περιβάλλον διαβίωσης (νησιωτικό ή ηπειρωτικό), για τις τρεις εποχές του έτους που μελετήθηκαν. Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0.05$) δίνονται με έντονη γραμματοσειρά. Η αναφέρεται στη χέρσο, N στο νησί, E στις ενήλικες σαύρες, An στις ανήλικες, AN στην άνοιξη, KAL στο καλοκαίρι και ΦΘ στο φθινόπωρο.

	N_AN_E	N_KAL_E	N_ΦΘ_E	H_AN_E	H_KAL_E	H_ΦΘ_E	N_AN_Av	N_KAL_Av	H_AN_Av	H_KAL_Av
N_AN_E										
N_KAL_E	$t = 3,669,$ $df = 454,26,$ $p < 0,001$									
N_ΦΘ_E	$t = 1,154,$ $df = 184,35,$ $p = 0,249$	$t = 3,892,$ $f = 177,63,$ $p < 0,001$								
H_AN_E	$t = 2,133,$ $df = 595,82,$ $p = 0,033$									
H_KAL_E		$t = 7,173,$ $df = 165,98,$ $p < 0,001$		$t = 3,305,$ $df = 169,61,$ $p = 0,001$						
H_ΦΘ_E			$t = 2,570,$ $df = 193,78,$ $p = 0,011$	$t = 2,854,$ $df = 610,21,$ $p = 0,004$	$t = 1,335,$ $df = 177,58,$ $p = 0,186$					
N_AN_Av	$t = 1,207,$ $df = 74,758,$ $p = 0,231$									
N_KAL_Av		$t = 2,821,$ $df = 34,549,$ $p = 0,008$					$t = 1,661,$ $df = 42,642,$ $p = 0,104$			
H_AN_Av			$t = 0,291,$ $df = 35,157,$ $p = 0,773$				$t = 1,688,$ $df = 46,237,$ $p = 0,098$			
H_KAL_Av					$t = 2,588,$ $df = 82,707,$ $p = 0,011$			$t = 0,059,$ $df = 52,008,$ $p = 0,952$	$t = 0,150,$ $df = 53,894,$ $p = 0,881$	

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ

**ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗ
ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

Κατάλογος δημοσιεύσεων που σχετίζονται με την παρούσα διατριβή

1. **Sagonas K., Pafilis P., Lymberakis P., Donihue C. M., Herrel A., Valakos E. D. 2014a.** Insularity affects head morphology, bite force and diet in a Mediterranean lizard. *Biological Journal of the Linnean Society* **112**: 469-484.
2. **Sagonas K., Pafilis P., Lymberakis P., Valakos E. D.** Trends and patterns in the feeding ecology of the widespread Balkan lizard *Lacerta trilineata* (Squamata: Lacertidae) in insular and continental Greece. *North-Western Journal of Zoology* (accepted).
3. **Sagonas K., Poulakakis N., Lymberakis P., Parmakelis A., Pafilis P., Valakos E. D. 2014b.** Molecular systematics and historical biogeography of the green lizards (*Lacerta*) in Greece: Insights from mitochondrial and nuclear DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **76**: 144-154.
4. **Sagonas K., Valakos E. D., Pafilis P. 2013b.** The impact of insularity on the thermoregulation of a Mediterranean lizard. *Journal of Thermal Biology* **38**: 480-486.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

(Τελευταία ενημέρωση: Οκτώβρης 2014)

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΣΑΓΩΝΑΣ

Βιολόγος, Υποψήφιος Διδάκτορας, ΕΚΠΑ

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας
Πανεπιστήμιο Αθηνών

Τόπος και ημερομηνία γέννησης: Αθήνα, 16-05-1985

E-mail: ksagonas@biol.uoa.gr

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- 2009- Υποψήφιος Διδάκτορας**, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Αθηνών. Τίτλος: Φυλογένεση και φυσιολογικές προσαρμογές του γένους *Lacerta sensu lato* στην Ελλάδα. Επιβλέπων: Αναπλ. Καθηγητής Ε.Δ. Βαλάκος.
- 2009 Πτυχίο Βιολογίας**, Βαθμός πτυχίου (7,33) «Λίαν Καλώς»

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- 01/2013-12/2013:** Μέλος της ερευνητικής ομάδας στο ερευνητικό πρόγραμμα με τίτλο: «Ξερολοθίες, στηρίγματα βιοποικιλότητας». **Συντονιστής:** Επίκ. Καθηγητής Π. Παφίλης. Φορέας Χρηματοδότησης: Κοινωφελές Ίδρυμα Ι.Σ. Λάτσης. Τρόπος εμπλοκής στο πρόγραμμα: μέλος.
- 2012-2013:** Ερευνητικό πρόγραμμα ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΣ (φορέας χρηματοδότησης ΕΚΠΑ): «Ενδοειδική διαφοροποίηση των χημικών μηνυμάτων και η δυναμική της προ-συζευκτικής απομόνωσης σε νησιωτικούς και ηπειρωτικούς πληθυσμούς της σαύρας *Lacerta trilineata*». **Συντονιστής:** Αναπ. Καθηγητής: Ε.Δ. Βαλάκος. Τρόπος εμπλοκής στο πρόγραμμα: κύριος ερευνητής.
- 2011-2012:** Ερευνητικό πρόγραμμα ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΣ (φορέας χρηματοδότησης ΕΚΠΑ): «Συνδυασμός φυλογενετικών και ανοσολογικών δεδομένων σε πληθυσμούς της σαύρας *Lacerta trilineata*». **Συντονιστής:** Αναπ. Καθηγητής: Ε.Δ. Βαλάκος. Τρόπος εμπλοκής στο πρόγραμμα: κύριος ερευνητής.
- 2011-2012:** Μέλος της ερευνητικής ομάδας στο ερευνητικό πρόγραμμα με τίτλο: «*The relative importance of stabilizing selection and genetic drift for coding and non-coding genetic markers in isolated islet populations of Skyros wall lizard*». **Συντονιστής:** Επίκ. Καθηγητής B. Hansson, Φορέας Χρηματοδότησης: Πανεπιστήμιο Lund, Σουηδία. Τρόπος εμπλοκής στο πρόγραμμα: ερευνητής.
- 2011-2012:** Ερευνητικό πρόγραμμα Axson Johnson Project: «*Effects of inbreeding on immune response*». **Συντονιστής:** Καθηγητής. E. Svensson., Φορέας Χρηματοδότησης: Πανεπιστήμιο Lund, Σουηδία. Τρόπος εμπλοκής στο πρόγραμμα: κύριος ερευνητής.
- Μέλος της ερευνητικής ομάδας στο ερευνητικό πρόγραμμα με τίτλο: «*Τι κρύβεται πίσω από ένα γίγαντα: η περίπτωση της σαύρας της Σκύρου*». **Συντονιστής:** Επίκ. Καθηγητής Π. Παφίλης, Φορέας Χρηματοδότησης: Κοινωφελές Ίδρυμα Ι.Σ. Λάτσης. Τρόπος εμπλοκής στο πρόγραμμα: ερευνητής.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1. Pafilis P., Foufopoulos J., **Sagonas K.**, Runemark A., Svensson E., Valakos E. D., 2011. Reproductive biology of insular reptiles: Marine subsidies modulate expression of the “Island Syndrome”. *Copeia* **2011**: 545-552.
2. **Sagonas K.**, Meiri S., Valakos E. D., Pafilis P., 2013. The effect of body size on the thermoregulation of lizards on hot, dry Mediterranean islands. *Journal of Thermal Biology* **38**: 92-97.
3. Pafilis P., Anastasiou I., **Sagonas K.**, Valakos E. D., 2013. Grazing by goats on islands affects the populations of an endemic Mediterranean lizard. *Journal of Zoology* **290**: 255-264.
4. **Sagonas K.**, Valakos E. D., Pafilis P., 2013. The impact of insularity on the thermoregulation of a Mediterranean lizard. *Journal of Thermal Biology* **38**: 480-486.
5. **Sagonas K.**, Poulakakis N., Lymberakis P., Parmakelis A., Pafilis P., Valakos E. D., 2014. Molecular systematics and historical biogeography of the green lizards (*Lacerta*) in Greece: Insights from mitochondrial and nuclear DNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **76**: 144-154.
6. **Sagonas K.**, Pafilis P., Lymberakis P., Donihue C. M., Herrel A., Valakos E. D., 2014. Insularity affects head morphology, bite force and diet in a Mediterranean lizard. *Biological Journal of the Linnean Society* **112**: 469-484.
7. **Sagonas K.**, Pafilis P., Lymberakis P., Valakos E. D., 2014. Trends and patterns in the feeding ecology of the widespread Balkan lizard *Lacerta trilineata* (Squamata: Lacertidae) in insular and continental Greece. *North-Western Journal of Zoology*. *Accepted for publication pending minor revision*.
8. Runemark A., **Sagonas K.** and Svensson E., 2014. Dietary niche divergence drives changes in morphology and feeding performance among mainland and islet lizard populations. *Under review*.
9. Runemark A., **Sagonas K.**, Svensson E. I., Hansson B., 2014. Interaction between genetic drift and selection shapes MHC variation in insular lizard populations. *Under review*.

ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Pafilis P., **Sagonas K.**, Runemark A., Svensson E. and E.D. Valakos. *Reproductive advantages of gigantism and how intraspecific competition could be involved*. 6th International Symposium on the Lacertids of the Mediterranean Basin, Molyvos, Lesvos 2008.
2. **Sagonas K.**, Pafilis P. and E.D. Valakos. *Does body size affect thermal biology? The case of an endemic lizard in Skyros Archipelago (East Mediterranean, Greece)*. THERMADAPT Science Meeting, Tartu, Estonia 2011.
3. Pafilis P., **K. Sagonas** and E.D. Valakos. *The impact of grazing on lizard populations from East Mediterranean islets*. 16th European Congress of Herpetology (SEH) and 47th Deutsche Gesellschaft für Herpetologie und Terrarienkunde, Luxemburg 2011.
4. Karambotsi N., **Sagonas K.**, Pafilis P. and Valakos E.D. *Tail regeneration induces changes in the digestive efficiency of a Mediterranean lizard*. 12th International Congress on the Zoogeography and Ecology of Greece and Adjacent Regions, Athens, Greece, 2012.
5. Runemark A., **Sagonas K.**, Brydegaard M., and E. Svensson. *Predation release and selection for bite force drive phenotypic divergence in island lizards*. 14th Congress of the International Society for Behavioral Ecology (12–18 August) Lund University, Lund, Sweden, 2012.
6. **Sagonas K.**, Pafilis P., Lymberakis P., Donihue C.M., Herrel A., and E.D. Valakos. *Relationships between head morphology, bite force and diet in island and mainland*

- populations of the Balkan green lizard (*Lacerta trilineata*) from Greece. 8th International Symposium on the Lacertids of the Mediterranean Basin. Koper, Slovenia, 2013.
7. **Sagonas K.**, Poulakakis N., Lymberakis P., Parmakelis A., Pafilis P. and E.D. Valakos. *Phylogenetic relationships and phylogeography of the genus Lacerta in Greece*. 17th European Congress of Herpetology (SEH), Veszprem, Hungary, 2013.
 8. Mitsi-Lizan V., Karameta E., **Sagonas K.**, Valakos D.E., Sfenthourakis S. and P. Pafilis. *Habitat effect on the digestive efficiency of a Mediterranean lizard*. 17th European Congress of Herpetology (SEH), Veszprem, Hungary, 2013.

ΕΘΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. **Σαγώνας Κ.**, Τερζοπούλου Σ., Σπαγοπούλου Φ., Σταλημέρου Μ., Αναστασίου Ι., Παφίλης Π., Ε. Δ. Βαλάκος. *Διαφοροποιήσεις στην ηλικία σεξουαλικής ωρίμανσης σε σαύρες του γένους Podarcis στο κεντρικό Αιγαίο*. 30^ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Ε.Ε.Β.Ε., Θεσσαλονίκη, 2008.
2. **Σαγώνας Κ.**, Τερζοπούλου Σ., Σπαγοπούλου Φ., Σταλημέρου Μ., Αναστασίου Ι., Foufopoulos J., Παφίλης Π., Ε. Δ. Βαλάκος. *Σχέση αναπαραγωγικών χαρακτηριστικών και μέγεθος νεογέννητων. Η περίπτωση των σαυρών του γένους Podarcis στο αρχιπέλαγος του Αιγαίου*. 4^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Οικολογίας, Βόλος, 2008.
3. **Σαγώνας Κ.**, Κοτσακιάζη Π., Παφίλης Π., Ε. Δ. Βαλάκος. *Η επίδραση της θερμοκρασίας στη δραστηριότητα των πεπτικών ενζύμων σε είδη του γένους Podarcis*. 31^ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Ε.Ε.Β.Ε., Πάτρα, 2009.
4. Βελώνα Θ., **Σαγώνας Κ.**, Φραγκοπούλου Α.Φ., Βαλάκος Ε. Δ., Λ. Χ. Μαργαρίτης. *Προσδιορισμός επιπέδων κορτικοστερόνης και μελέτη του ρυθμού αναγέννησης της ουράς σε ερπετά του είδους Podarcis gaigeae έπειτα από ακτινοβολήση με βάση ασυρμάτου τηλεφώνου*. 32^ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Ε.Ε.Β.Ε. Καρπενήσι, 2010.
5. **Σαγώνας Κ.**, Πουλακάκης Ν., Λυμπεράκης Π., Μυλωνάς Μ., Ε.Δ. Βαλάκος. *Πράσινες σαύρες της Ελλάδας-Φυλογένεση και κατανομή*. 5^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Οικολογίας. Πάτρα, 2010.
6. Παφίλης Π., **Σαγώνας Κ.**, Βαλάκος Ε. Δ. *Επίδραση της βόσκησης σε πληθυσμούς σαυρών βραχονησίδων*. 5^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Οικολογίας, Πάτρα, 2010.
7. Γιαννακοπούλου Ε., Ξυρογιανοπούλου Π., **Σαγώνας Κ.**, Παφίλης Π., Ε. Δ. Βαλάκος. *Επίδραση της θήρευσης στην απόδοση αντιθηρευτικών μηχανισμών στις σαύρες*. 33^ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Ε.Ε.Β.Ε., Έδεσσα, 2011.
8. Καραμπότσι Ν., **Σαγώνας Κ.**, Παναγιώτης Π., Ε. Δ. Βαλάκος. *Επίδραση της αναγέννησης της ουράς στην πεπτική αποδοτικότητα στο είδος Podarcis erhardii*. 34^ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Ε.Ε.Β.Ε., Τρίκαλα, 2012.
9. Ρώτα Ι., **Σαγώνας Κ.**, Ιωάννου Κ., Βερούλη Μ., Παναγιώτης Π., Τσιτσιλώνη Ο., Ε.Δ. Βαλάκος. *Έλεγχος μεθοδολογικής προσέγγισης για μελέτες του ανοσοποιητικού συστήματος σε σαύρες*. 34^ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Ε.Ε.Β.Ε., Τρίκαλα, 2012.
10. Παφίλης Π., Αναστασίου Ι., **Σαγώνας Κ.**, Ε.Δ. Βαλάκος. *Η επίδραση της βόσκησης σε έναν νησιωτικό πληθυσμό σαυρών στο Αρχιπέλαγος της Σκύρου*. 6^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Οικολογίας, Αθήνα, 2012.
11. Κουρελού Ε., Meiri S., **Σαγώνας Κ.**, Βαλάκος Ε.Δ., Π. Παφίλης. *Η επίδραση του γιγαντισμού στη πεπτική αποδοτικότητα της σαύρας της Σκύρου*. 6^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Οικολογίας, Αθήνα, 2012.
12. Μαυροθαλασσίτη Η., **Σαγώνας Κ.**, Ε.Δ. Βαλάκος. *Διερεύνηση της συμπεριφοράς και των γνωσιακών ικανοτήτων σε σαύρες του είδους Lacerta trilineata*. 35^ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Ε.Ε.Β.Ε., Ναύπλιο, 2013.

13. Δαγκωνάκη Α., Μαυροθαλασσίτη Η., **Σαγώνας Κ.**, Ε.Δ. Βαλάκος. *Συγκριτική μελέτη των γνωσιακών ικανοτήτων σε δύο είδη σαυρών της οικογένειας Lacertidae*. 36^ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Ε.Ε.Β.Ε., Ιωάννινα, 2014.
14. Παφίλης Π., Καραμέτα Ε., **Σαγώνας Κ.**, Foufopoulos J., Ε. Δ. Βαλάκος. *Η επίδραση των ξερολιθιών σε νησιωτικούς πληθυσμούς ερπετών*. 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Οικολογίας, Μυτιλήνη, 2014.
15. **Σαγώνας Κ.**, Παφίλης Π., Λυμπεράκης Π., Πουλακάκης Ν., Ε. Δ. Βαλάκος. *Επίδραση του νησιωτισμού στη βιολογία της Lacerta trilineata (Sauria: Lacertidae)*. 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Οικολογίας, Μυτιλήνη, 2014.
16. Βουτσελά Α., Δαγκωνάκη Α., Μπλέτσα Α., Καραμπότση Ν., **Σαγώνας Κ.**, Παφίλης Π., Ε. Δ. Βαλάκος. *Επίδραση της αναγέννησης της ουράς στην πεπτική αποδοτικότητα σε σαύρες του γένους Podarcis*. 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Οικολογίας, Μυτιλήνη, 2014.