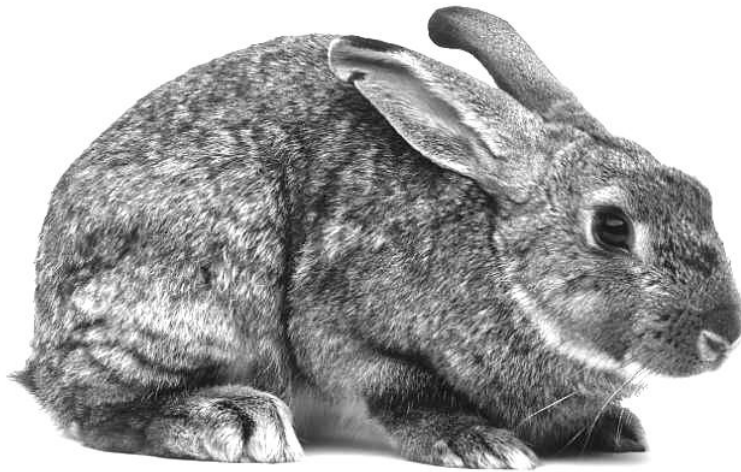


Α΄ ΚΥΝΗΓΕΤΙΚΗ ΟΜΟΣΠΟΝΔΙΑ ΚΡΗΤΗΣ & ΔΩΔΕΚΑΝΗΣΟΥ
ΜΟΥΣΕΙΟ ΦΥΣΙΚΗΣ ΙΣΤΟΡΙΑΣ ΚΡΗΤΗΣ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΑΓΡΙΟΚΟΥΝΕΛΟΥ
(*Oryctolagus cuniculus*) ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ



Καπλή Πασχαλιά
Λυμπεράκη Πέτρο
Πουλακάκη Νίκο

ΔΕΚΕΜΒΡΙΟΣ 2008

1. Εισαγωγή

1.1. *Oryctolagus cuniculus*

Το γένος *Oryctolagus*, (Lagomorpha; Leporidae) διαφοροποιήθηκε στην Ιβηρική χερσόνησο πριν από περίπου 3,5 εκατομμύρια χρόνια, όπου και χρονολογούνται τα παλαιότερά του απολιθώματα (Lopez-Martinez, 2007). Απολιθώματα του ανώτερου Μειόκαινου (6 εκ. χρ. πριν), που έχουν αποδοθεί στο γένος, είναι υπό αμφισβήτηση.

Το μοναδικό είδος του γένους, σήμερα, είναι το *Oryctolagus cuniculus*, που είναι γνωστό ως Ευρωπαϊκό κουνέλι (ή απλώς κουνέλι). Ως είδος πρωτοεμφανίστηκε στη νότια Ισπανία πριν από 900.000 χρόνια και αρκετά αργότερα, 300.000 χρόνια πριν, στη νότια Γαλλία (Ferrand και Branco, 2007). Η φυσική του κατανομή, πριν την παρέμβαση του ανθρώπου, ήταν περιορισμένη στην Ιβηρική χερσόνησο (Hardy et al., 1994).

Όσο αφορά τη γενετική ποικιλότητα του είδους μια σειρά μελετών βάσει δεδομένων πυρηνικού DNA (van der Loo et al. 1991 και 1999, Branco και Ferrand, 1998, Geraldès et al., 2005), μιτοχονδριακού DNA (Biju-Duval et al. 1991, Monnerot et al. 1994, Branco et al. 2000) και εκτοπαρασίτων (Beaucougnou, 1980), κατέληξαν στο ίδιο συμπέρασμα. Υποστηρίζουν ότι οι φυσικοί πληθυσμοί, στην περιοχή της Ιβηρικής χερσονήσου, χωρίζονται σε δύο διακριτές γενεαλογικές γραμμές. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε αντίθεση με τους φυσικούς πληθυσμούς τα εξημερωμένα ζώα, που απαντώνται παγκοσμίως, δεν παρουσιάζουν ανάλογη ποικιλομορφία (Geraldès et al., 2005).

Από την έρευνα των Biju-Duval et al. (1991), που εξέτασαν το σύνολο του μιτοχονδριακού DNA προέκυψε ότι η γενετική απόσταση μεταξύ των δύο κλάδων είναι περίπου 4%. Σύμφωνα με την γενετική αυτή απόσταση ο διαχωρισμός των δύο κλάδων εκτιμάται ότι προέκυψε περίπου 2 εκ. χρ. πριν. Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξε και ο Branco et al. (2000) εξετάζοντας το κυτόχρωμα β του mtDNA. Την περίοδο εκείνη στην Ιβηρική χερσόνησο, σύμφωνα με τα απολιθώματα, δεν απαντάται το *O. cuniculus*, αλλά δύο άλλα είδη του γένους τα *O. laynensis* και *O. lacosti*, με χαρακτηριστικά ενδιάμεσα του σημερινού κουνελιού και του λαγού (Lopez-Martinez 1989). Το πιθανότερο συμπέρασμα είναι ότι ο διαχωρισμός που καταγράφεται σύμφωνα με το mtDNA δεν αφορά διαχωρισμό οργανισμών άλλα μορίων, τα οποία άρχισαν να διαφοροποιούνται στα προγονικά είδη του *O. cuniculus* και επιβίωσαν μέχρι και σήμερα. Η θεωρία αυτή ενισχύεται από μια πιο πρόσφατη μελέτη (Ferrand και Branco, 2007) στην οποία βασιζόμενοι στον πολυμορφισμό πρωτεϊνών, ο διαχωρισμός των δύο κλάδων τοποθετείται στα 275 με 550

χιλιάδες χρόνια. Ωστόσο, η χρονολόγηση του χωρισμού των δύο κλάδων παραμένει ακόμα ασαφής και απαιτεί περαιτέρω έρευνα.

1.2. Υποείδη του *O. cuniculus*

Η γεωγραφική σύμπτωση των δύο μιτοχονδριακών κλάδων με τις κατανομές των υποειδών *O. cuniculus algirus* (Ισπανία και Βόρεια Αφρική) και *O. cuniculus cuniculus* (Γαλλία) οδήγησε τους Biju Duval et al. (1991) στη συσχέτιση των δύο.

Βιβλιογραφικά έχουν αναφερθεί τουλάχιστον 7 υποείδη κουνελιών (*O. c. cuniculus*, *O. c. algirus*, *O. c. brachyotus*, *O. c. cnossius*, *O. c. habetensis*, *O. c. huxleyi* και *O. c. oreas*). Οι περιγραφές των περισσότερων από αυτά έχουν στηριχθεί στο χρώμα της γούνας τους ή στο μέγεθός τους. Σύμφωνα με τον Corbet (1994) οι χαρακτηρισμοί υποειδών με βάση τα χρωματικά πρότυπα της γούνας είναι αμφισβητήσιμα, καθώς σε πολλές τέτοιες περιπτώσεις ο αριθμός των δειγμάτων υπήρξε περιορισμένος χωρίς αναφορά σε γεωγραφική έκταση και ποικιλότητα.

Οι Sharples et al. (1996) εξέτασαν οστεολογικούς χαρακτήρες σε 260 άτομα της δυτικής Ευρώπης και της Βόρειας Αφρικής, σε μια προσπάθεια ανασκόπησης της ταξινομικής κατάστασης των υποειδών του *O. cuniculus*. Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής κατέληξαν ότι δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία, σύμφωνα με την οστεολογία κρανίων, που να δικαιολογούν τη διάκριση σε υποείδη. Η παρατηρούμενη αλλαγή μεγέθους στη συγκεκριμένη περίπτωση θα μπορούσε να εξηγηθεί σύμφωνα με τον νόμο του Bergman ότι «το μέγεθος αυξάνει με την αύξηση του γεωγραφικού πλάτους», μη δικαιολογώντας τον χαρακτηρισμό υποειδών σύμφωνα με αυτόν τον χαρακτήρα όπως γινόταν παλαιότερα.

Στην εργασία αυτή οι Sharples et al. (1996) αμφισβητούν επίσης τη συσχέτιση των δύο μιτοχονδριακών κλάδων των Biju Duval et al. (1991) με τα υποείδη *O. c. cuniculus* και *O. c. algirus*, λόγω έλλειψης επαρκών στοιχείων. Η άποψη αυτή βρίσκει αντίθετους πολλούς επιστήμονες, οι οποίοι βασιζόμενοι σε μοριακά δεδομένα (π.χ., Biju-Duval et al., 1991, van der Loo et al. 1991, 1999, Ferrand και Branco, 2007), βρίσκουν ισχυρές ενδείξεις ότι υπάρχουν δύο μεγάλες πληθυσμιακά ομάδες, οι οποίες εξελίσσονταν ανεξάρτητα για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα, γεγονός που εναρμονίζεται με τη σύγχρονη έννοια των υποειδών (Avisé & Hamrick 1997). Κοινά αποδεκτή άποψη και με τους περισσότερους υποστηρικτές είναι ότι το είδος *O. cuniculus* αποτελείται από δύο υποείδη *O.c.algirus* και *O.c.cuniculus*, τα οποία αντιστοιχούν στους δύο γενετικούς κλάδους.

Ιδιαίτερη σημασία ίσως πρέπει να δοθεί σε ένα από τα υποείδη του είδους, το *O. c. cnossius*, το οποίο έχει χαρακτηριστεί ως ενδημικό υποείδος της Κρήτης. Σε όλες τις μελέτες που

αναφέρθηκαν παραπάνω πότε δεν συμπεριλήφθηκαν δείγματα από την Ελλάδα, με αποτέλεσμα να είναι ασαφής η εικόνα της ταξινομικής κατάστασης του ελληνικού υποείδους.

1.3. Ο ρόλος του ανθρώπου

Παλαιοντολογικά, ιστορικά και αρχαιολογικά δεδομένα δείχνουν ότι κατά τους πρώτους ιστορικούς χρόνους ο άνθρωπος έπαιξε θεμελιώδη ρόλο στην εξαπλώση πολλών ζώων, ανάμεσά τους και του Ευρωπαϊκού κουνελιού (Hardy et al., 1994). Μέχρι περίπου 2.300 χρόνια πριν το *O. cuniculus* ήταν περιορισμένο στην Ιβηρική χερσόνησο (Flux, 1983). Ως αποτέλεσμα της μεταφοράς του ανθρώπου σήμερα το κουνέλι απαντάται παγκοσμίως (Flux, 1994) είτε σε άγριους πληθυσμούς είτε ως κατοικίδιο. Το είδος αυτό είναι από τα ελάχιστα θηλαστικά που εξημερώθηκαν στην δυτική Ευρώπη (Monerrot, 1994).

Στη Βόρεια Αφρική εισήχθη κατά τους ιστορικούς χρόνους, στη Βρετανία έφτασε κατά τον 11^ο αιώνα και αργότερα εξαπλώθηκε στο μεγαλύτερο μέρος της κεντρικής και νοτιοανατολικής Ευρώπης (19^{ος} και 20^{ος} αιώνες). Επίσης εισήχθη στην Αυστραλία, τη Νέα Ζηλανδία, τη Χιλή και την Αργεντινή, καθώς και σε περισσότερα από 800 νησιά σε όλο τον κόσμο. Αυτή η τόσο επιτυχής διαδικασία μεταφοράς και εποίκησης ξεκίνησε πριν από 1000 περίπου χρόνια από ναυτικούς της Μεσογείου και συνεχίζεται μέχρι και σήμερα. (Ferrand και Branco, 2007 και αναφορές εκεί)

Η ομοιότητα μεταξύ των οστών του λαγού και του κουνελιού προκαλούν μεγάλη δυσκολία στην αναγνώριση απολιθωμάτων (Athanasίου, 1994), αποτέλεσμα αυτού είναι η ασαφής εικόνα που επικρατεί για το πότε ακριβώς εισήχθησαν τα κουνέλια στην Ελλάδα. Σύμφωνα με τον Jarman (1996) το παλαιότερο εύρημα στην Κρήτη χρονολογείται κατά τη ρωμαϊκή εποχή. Ενώ οι Voutsialou και Tatolas (2005) κάνουν λόγο για κουνέλια στον Ελλαδικό χώρο κατά την Ομηρική εποχή, χωρίς όμως να παρέχουν κάποια αναφορά για την υπόθεση αυτή.

2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Δείγματα

Το σύνολο των ελληνικών δειγμάτων (35) που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη, βρίσκονται κατατεθειμένα στις συλλογές του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας του Πανεπιστημίου Κρήτης και αφορούν δείγματα τα οποία συλλέχθηκαν από την Α' Κυνηγητική Ομοσπονδία

Κρήτης-Δωδεκανήσου και από τους ερευνητές του Μουσείου. Στο Παράρτημα Ι παρατίθενται πληροφορίες για την περιοχή προέλευσης και τον κωδικό της μουσειακής συλλογής.

Συμπληρωματικά, σε κάποιες αναλύσεις συμπεριλήφθηκαν 123 αλληλουχίες της Περιοχής Ελέγχου (D-loop), που αντλήθηκαν από την βάση γενετικών δεδομένων GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Από την ίδια βάση δεδομένων ανακτήθηκαν οι αντίστοιχες αλληλουχίες άλλων ειδών (*Sylvilagus palustris*, *Lepus europaeus*, *Lepus americanus*) που συμπεριλήφθηκαν στις αναλύσεις ως παραομάδες (outgroups) (βλ. Παράρτημα Ι). Τα είδη αυτά, βάσει μορφολογικών αλλά και μοριακών δεδομένων, θεωρούνται από τους πιο κοντινούς συγγενείς του γένους *Oryctolagus* (Robinson και Matthee, 2005).

2.2. Εργαστηριακές αναλύσεις

Κατά την διάρκεια των εργαστηριακών αναλύσεων, οι οποίες πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Μοριακής Συστηματικής και Εξέλιξης του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας Κρήτης, ελήφθησαν όλες οι απαραίτητες προφυλάξεις, τόσο για την ασφάλεια του ερευνητή και του εξοπλισμού που χρησιμοποιήθηκε, όσο και για την αποφυγή μόλυνσεων των δειγμάτων που θα οδηγούσαν σε λανθασμένα αποτελέσματα (γάντια, αποστείρωση των υλικών, καθαρισμού του πάγκου εργασίας μετά το πέρας των εργασιών κ.α.). Το σύνολο αυτών των εργαστηριακών αναλύσεων περιλαμβάνει συνοπτικά τα ακόλουθα:

- α) εξαγωγή ολικού γενωμικού DNA,
- β) πολλαπλασιασμός του επιθυμητού γονιδίου μέσω της τεχνικής της PCR (αλυσιδωτή αντίδραση πολυμερισμού) και
- γ) προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας (sequencing) σε αυτοματοποιημένη συσκευή αλληλούχισης.

2.3. Φυλογενετικές αναλύσεις

Το σύνολο των ελληνικών αλληλουχιών (35 αλληλουχίες) υποβλήθηκαν σε ανάλυση «Σύνδεσης Γειτόνων» (Neighbor-Joining, NJ) (Saitou & Nei 1987) και «Μέγιστης Φειδωλότητας» (Maximum Parsimony, MP) (Swofford et al. 1996). Στις αναλύσεις αυτές συμπεριλήφθηκαν 4 επιπλέον αλληλουχίες από άτομα *O. cuniculus* από την Ισπανία καθώς και άτομα άλλων ειδών, με σκοπό την σωστότερη επίλυση των σχέσεων εντός των ελληνικών δειγμάτων (εικόνα 1).

Στη συνέχεια δημιουργήθηκε ένα μεγαλύτερο σύνολο δεδομένων που περιείχε όλα τα ελληνικά δείγματα αλλά και όλες τις αντίστοιχες διαθέσιμες αλληλουχίες από την GenBank (βλ. παράγραφος Δείγματα). Με τη βοήθεια του προγράμματος DNASP 4.5 (Rozas et al., 2003)

αναγνωρίστηκε, από αυτό το σύνολο αλληλουχιών ο αριθμός των διαφορετικών απλοτύπων¹. Κατόπιν δημιουργήθηκε ένα σύνολο δεδομένων αποτελούμενο αποκλειστικά από ένα αντιπρόσωπο του κάθε απλοτύπου. Οι αλληλουχίες αυτές υποβλήθηκαν σε αναλύσεις: «Σύνδεσης Γειτόνων» και «Μέγιστης Φειδωλότητας». Οι αναλύσεις αυτές πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας τα προγράμματα MEGA (v 3.1, Kumar et al. 2004) και PAUP*4.0b10 (Swofford, 2002). Τα φυλογενετικά δένδρα που προέκυψαν εξετάστηκαν ως προς τη στατιστική τους ισχύ με τη δοκιμασία bootstrap (1000 ψευδοεπαναλήψεις) (Felsenstein, 1985).

Οι γενετικές αποστάσεις (ανά ζεύγη) των αλληλουχιών εκτιμήθηκαν με βάση το μοντέλο Tamura-Nei (Tamura και Nei 1993), με τη βοήθεια του φυλογενετικού προγράμματος MEGA.

¹ Απλότυπος στην παρούσα εργασία ορίζεται ως μια νουκλεοτιδική αλληλουχία (DNA) που διαφέρει τουλάχιστον σε μια θέση από τις υπόλοιπες αλληλουχίες.

3. Αποτελέσματα – Συζήτηση

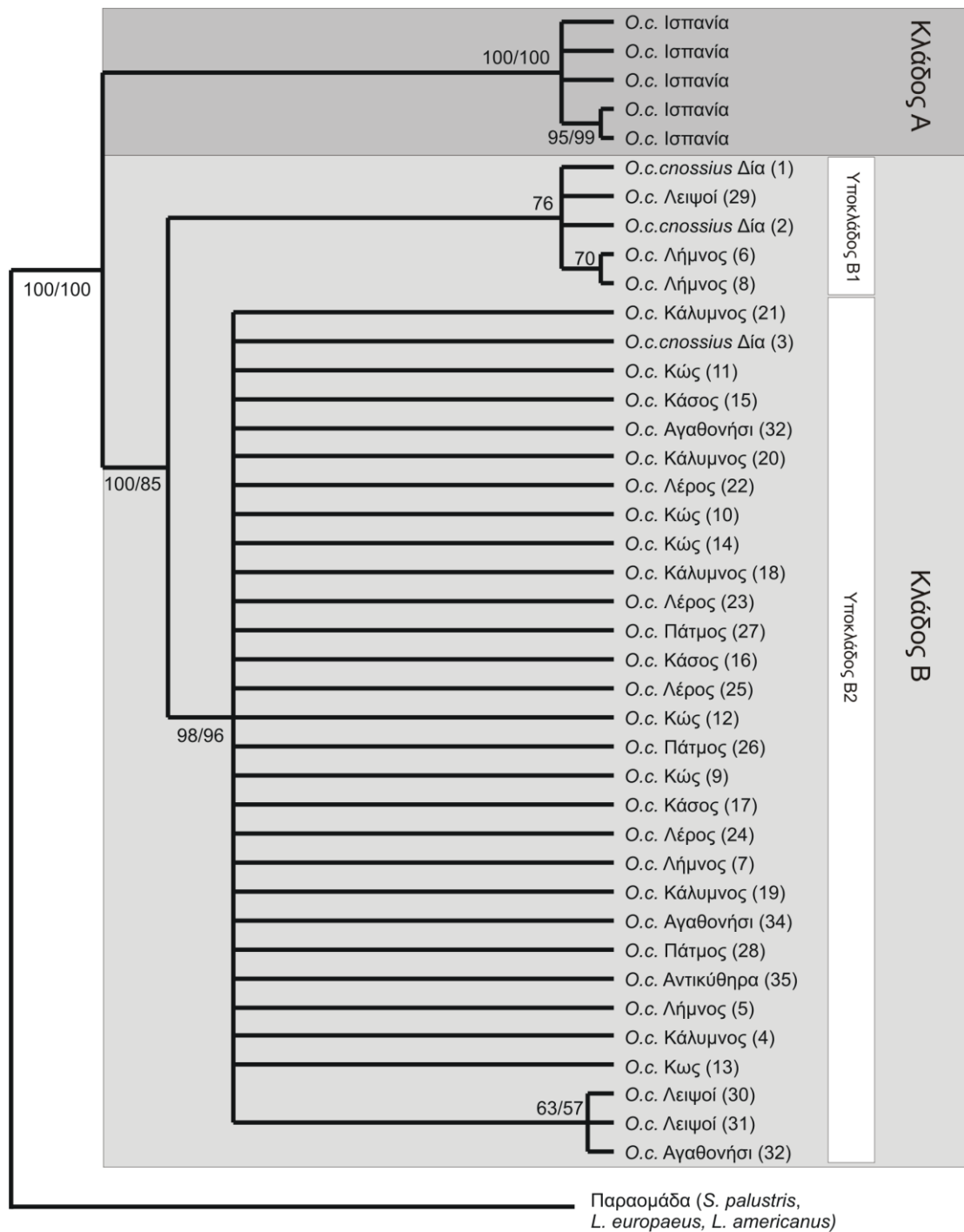
3.1. Ελλαδικός χώρος

Τα ελληνικά δείγματα, όπως προκύπτει από τις αναλύσεις, χωρίζονται σε δύο διακριτούς υποκλάδους (B1 και B2). Ο πρώτος περιλαμβάνει αλληλουχίες από την Λήμνο και τους Λειψούς, αλλά και το ενδημικό είδος *O. c. cnoossius* της νήσου Ντίας. Στον υποκλάδο B2 περιέχονται όλες οι υπόλοιπες ελληνικές αλληλουχίες καθώς και αλληλουχίες από τις τρεις περιοχές του υποκλάδου B1.

Η μέση γενετική απόσταση μεταξύ των B1 και B2 είναι 2% (Tamura και Nei 1993). Η γενετική αυτή απόσταση είναι αρκετά σημαντική αν αναλογιστεί κανείς ότι εντός των ομάδων είναι σχεδόν μηδαμινή, 0,3% και 0,1% για τους υποκλάδους B1 και B2 αντίστοιχα. Το στοιχείο αυτό σε συνδυασμό με τη μη γεωγραφική συσχέτιση των δύο κλάδων, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η εικόνα που παίρνουμε στην Ελλάδα σήμερα δεν οφείλεται στην εξέλιξη του είδους στον χώρο αυτό, αλλά πιθανότατα σε επέμβαση του ανθρώπου. Στο σενάριο αυτό συμβάλει και η ιστορική γνώση που προέρχεται είτε από αρχαιολογικές ανασκαφές (οστά, απεικονίσεις ζώων) είτε από δοκίμια, σύμφωνα με την οποία το κουνέλι εισάχθηκε πολύ πρόσφατα στην Ελλάδα.

Όσο αφορά το *O. c. cnoossius*, γίνεται σαφές από την παρούσα εργασία ότι δεν δικαιολογείται η ταξινόμηση του ως υποείδος, αφού οι αλληλουχίες της νήσου Ντίας δεν δημιουργούν μονοφυλετική ομάδα. Αντιθέτως, οι γενετικές αποστάσεις μεταξύ τους είναι ανάλογες με τις γενετικές αποστάσεις μεταξύ δειγμάτων άλλων περιοχών. Στην παρούσα μελέτη που περιλαμβάνονται ελληνικά και μάλιστα της νήσου Ντίας, δείγματα επιβεβαιώνεται η μέχρι πρότινος υπόθεση ότι το υποείδος *O.c.cnoossius* δεν υφίσταται.

Αυτό που απορρέει από την φυλογενετική εικόνα που παίρνουμε είναι ότι πρόκειται πιθανότατα για δύο ανεξάρτητες εισαγωγές του *O. cuniculus* στον Ελλαδικό χώρο από τον άνθρωπο. Ο ακριβής προσδιορισμός των εισαγωγών αυτών δεν μπορεί να εκτιμηθεί από την παρούσα εργασία, καθώς απαιτεί κυρίως μελέτη ιστορικών πηγών, αλλά και διαφορετικές μοριακές τεχνικές.



Εικόνα 1.: Οι φυλογενετικές σχέσεις μεταξύ των ελληνικών δειγμάτων του *O. cuniculus*. Τα δείγματα *S. palustris*, *L. europaeus*, και *L. americanus* χρησιμοποιήθηκαν ως παραομάδα. Από τις δύο φυλογενετικές αναλύσεις: Σύνδεσης Γειτόνων (NJ) και Μέγιστης Φειδωλότητας (MP) ανακτήθηκε δέντρο με παρόμοια τοπολογία, όσο αφορά τους κύριους κλάδους. Το δέντρο που παρουσιάζεται είναι της MP. Οι αριθμοί αντιστοιχούν στις τιμές bootstrap (μόνο οι τιμές μεγαλύτερες από 50% παρουσιάζονται για 1.000 επαναλήψεις) για τη MP και ακολουθούνται από τις τιμές bootstrap για την NJ (όπου υπάρχει ένας αριθμός αντιστοιχεί στην MP, ενώ της NJ είναι <50%). Στην παρένθεση σημειώνεται ο αριθμός που αντιστοιχεί στα στοιχεία του κάθε δείγματος στο Παράρτημα Ι.

Τέλος, γίνεται εμφανές από το φυλογενετικό δέντρο ότι δεν υπάρχει καμία ομαδοποίηση μεταξύ των νησιών του Αιγαίου, δεν παρατηρείται για παράδειγμα διαχωρισμός μεταξύ ανατολικών και δυτικών

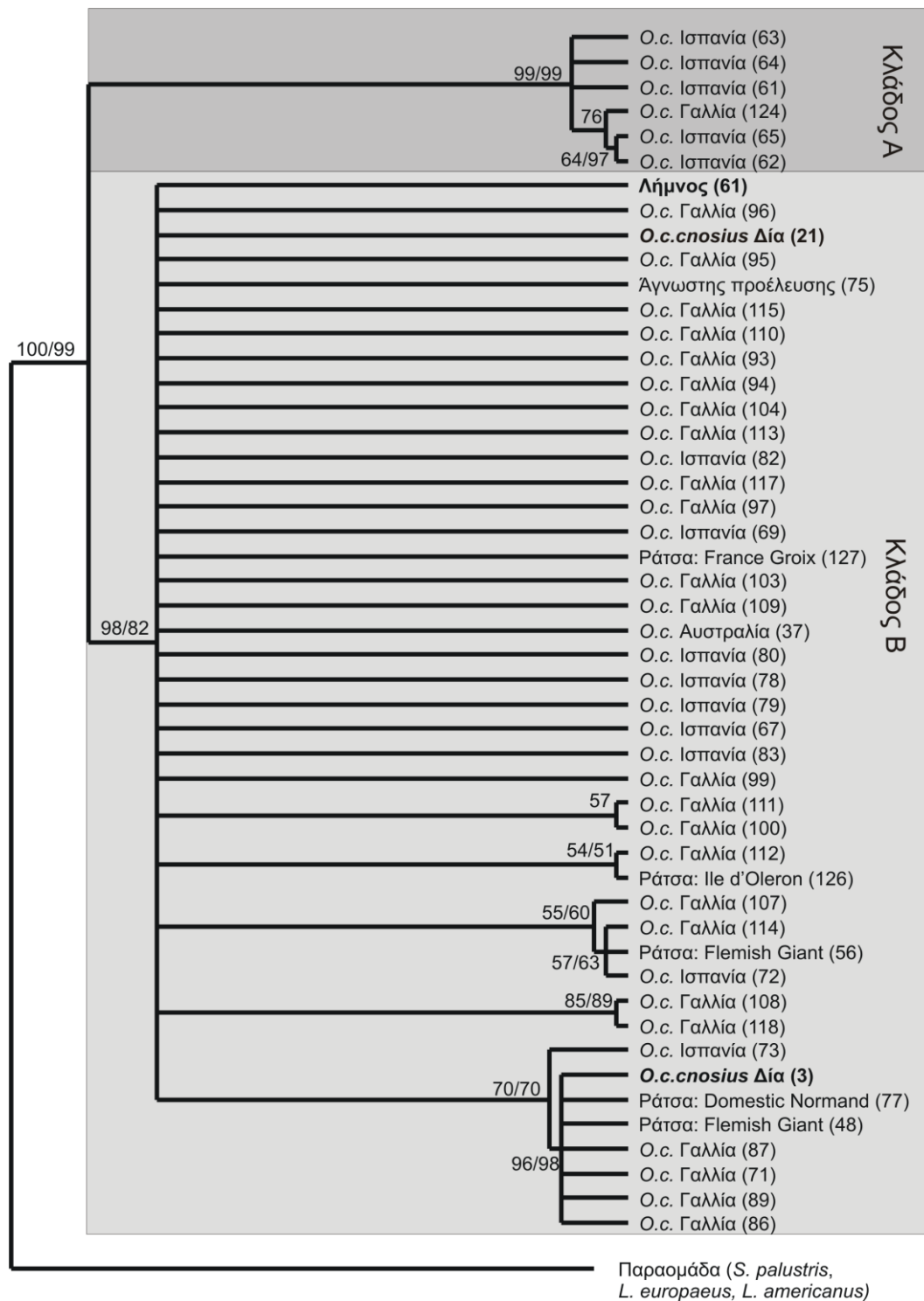
νησιών όπως έχει αναδειχτεί σε άλλα ζώα που έχουν εξεταστεί στον χώρο. Αυτό δικαιολογείται πιθανότατα λόγω της πολύ πρόσφατης ιστορίας του κουνελιού στο Αιγαίο που δεν επέτρεψε την διαφοροποίηση τους μέσα σε αυτό.

3.2. Σύγκριση Ελλαδικού χώρου με υπόλοιπες περιοχές

Παρατηρώντας το φυλογενετικό δέντρο της Εικόνας 2, γίνεται αντιληπτό ότι η πηγή των ατόμων που εισήχθησαν στην Ελλάδα είναι κοινή. Αυτό συμπεραίνεται από το γεγονός ότι και οι τρεις Ελληνικοί απλότυποι περιλαμβάνονται στον κλάδο Β. Στον κλάδο αυτό εμπίπτουν τόσο οι εμπορικές ράτσες κουνελιών, όσο και τα άγρια κουνέλια που απαντώνται παγκοσμίως ως αποτέλεσμα ανθρώπινης μεταφοράς. Αρχική πηγή για τις μεταφορές αυτές, υπήρξε η βόρεια Ισπανία και η Μεσογειακή πλευρά της Γαλλίας (όπου εντοπίζονταν το ένα μέρος του φυσικού πληθυσμού του κουνελιού). Μία πιθανή εξήγηση γιατί αυτή η περιοχή και όχι η νότια Ισπανία έπαιξε τόσο σημαντικό ρόλο στη ανθρωπογενή μεταφορά του κουνελιού, είναι ότι εκεί εντοπίζονται μεγάλα λιμάνια, όπου η ανταλλαγή αγαθών ή ο εφοδιασμός των πλοίων της Μεσογείου, πιθανότατα αποτελούσε κοινή πρακτική.

Επόμενο λοιπόν είναι ότι η διαφοροποίηση που παρατηρούμε ανάμεσα στους δύο κλάδους έγκειται στις διαφορετικές χρονικές περιόδους που συνέβη η εισαγωγή και όχι σε διαφορετική πηγή.

Όσο αφορά το σύνολο των δεδομένων, οι φυλογενετικές σχέσεις που προκύπτουν από τις αναλύσεις έρχονται σε συμφωνία με προηγούμενες φυλογενετικές εργασίες πάνω στο είδος. Σύμφωνα με τις αναλύσεις NJ και MP τα δείγματα του *O. cuniculus* δημιουργούν ένα μονοφυλετικό (αποτελείται δηλαδή αμιγώς από δείγματα του είδους και δεν αναμειγνύονται με δείγματα άλλου είδους) κλάδο με υψηλή στατιστική υποστήριξη (100% και για τις δύο αναλύσεις). Μέσα στο είδος διακρίνονται δύο κλάδοι οι Α και Β (Εικόνα 2).



Εικόνα 2.: Οι φυλογενετικές σχέσεις μεταξύ όλων των διαθέσιμων απλοτύπων του *O. cuniculus* (αλληλουχίες από την παρούσα μελέτη και την GenBank). Τα δείγματα *S. palustris*, *L. europaeus*, και *L. americanus*. Από όλες τις δύο φυλογενετικές αναλύσεις: Σύνδεσης Γειτόνων (NJ) και Μέγιστης Φειδωλότητας (MP) ανακτήθηκαν δέντρα με παρόμοια τοπολογία. Το δέντρο που παρουσιάζεται είναι της MP. Οι αριθμοί αντιστοιχούν στις τιμές bootstrap (μόνο οι τιμές μεγαλύτερες από 50% παρουσιάζονται για 1.000 επαναλήψεις) για τη MP και ακολουθούνται από τις τιμές bootstrap για την NJ. Στην παρένθεση σημειώνεται ο αριθμός που αντιστοιχεί στα στοιχεία του κάθε δείγματος στο Παράρτημα Ι.

Οι κλάδοι αυτοί συμπίπτουν με τις δύο γενεαλογικές γραμμές που έχουν διαγνωστεί στην φυσική κατανομή τους είδους, την Ιβηρική χερσόνησο. Κατ' επέκταση σύμφωνα με τη βιβλιογραφία (Ferrand και Branco, 2007, Long et al., 2002) ο κλάδος Β αντιστοιχεί στο υποείδος *O. c. cuniculus* (Γαλλία, περιοχές που έχουν εποικηθεί με τη βοήθεια του ανθρώπου και ράτσες), ενώ ο Α στο *O. c. algirus* (κυρίως Νότια Ισπανία, Βόρεια Αφρική και κάποια νησιά). Ενδιαφέρον προκαλεί ότι στον κλάδο Α εμπίπτει και μια αλληλουχία της Γαλλίας, ενώ θα αναμέναμε να τη συναντήσουμε στον κλάδο Β. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί με δύο τρόπους: 1) είτε πρόκειται για λάθος καταχώρηση στη γενετική βάση δεδομένων (GenBank), 2) είτε πρόκειται για κάποια περιοχή ή νησί της Γαλλίας (η ακριβής τοποθεσία δεν είναι γνωστή) στην οποία μεταφέρθηκαν από τον άνθρωπο ζώα που ανήκουν στο υποείδος *O. c. algirus*.

4. Συμπεράσματα

1. Το κουνέλι (*Oryctolagus cuniculus*) προέρχεται από την Ιβηρική χερσόνησο, όπου συναντούμε δύο υποείδη (*O. c. algirus* στη Νότια Ισπανία και *O. c. cuniculus* στη Βόρεια Ισπανία – Νότια Γαλλία).
2. Η γενετική ποικιλότητα που παρουσιάζει το είδος στα όρια της φυσικής του κατανομής είναι σημαντική, σε αντίθεση με τη γενετική ποικιλότητα που συναντάμε παγκόσμια που είναι ελάχιστη, παρά τις εντυπωσιακές μορφολογικές διαφορές που παρατηρούμε σε εκτρεφόμενες ποικιλίες.
3. Η παγκόσμια κατανομή του οφείλεται στον άνθρωπο, ο οποίος αντλούσε ζώα από το ένα υποείδος, το *O. c. cuniculus*.
4. Η παρουσία του είδους στον Ελλαδικό χώρο οφείλεται επίσης στον άνθρωπο και πιθανότατα σε πάνω από μία εισαγωγές. Σε συνδυασμό με τη χαμηλή του ποικιλότητα συνάγεται το συμπέρασμα ότι το υποείδος *O. c. cuniculus* δεν υφίσταται.
5. Συμπερασματικά σε ότι αφορά στο ειδικό ερώτημα της ΑΚΟΚΔ, αν δηλαδή μεταφορές πληθυσμών μεταξύ νησιών για εμπλουτισμό τους μπορούν να αλλοιώσουν τη γενετική ποικιλότητα του είδους στην Ελλάδα, η απάντηση είναι αρνητική. Λόγω του ότι όλα τα ζώα στην Ελλάδα αποτελούν παμμικτικό πληθυσμό, η μεταφορά απόμων για εμπλουτισμό δεν προβλέπεται να δημιουργήσει κανένα πρόβλημα γενετικής αλλοίωσης.

5. Ευχαριστίες.

Ευχαριστούμε την Α΄ Κυνηγετική Ομοσπονδία Κρήτης Δωδεκανήσου για την ευγενική του οικονομική χορηγία αλλά και τη συλλογή σχετικών δειγμάτων από νησιά της Δωδεκανήσου και τη Λήμνο (κ. Βασίλης Κοντσιώτης) χάρη στα οποία έγινε δυνατή η πραγματοποίηση της παρούσας μελέτης.

Βιβλιογραφία

- Athanassiou A** (1994) First results of the palaeontological study of the fissure fillings in the area of Halykes, Magnesia. *Bulletin de la Société Spéléologique de Grèce*, XXI, 318-329
- Awise JC, Hamrick JL** (1997) *Conservation Genetics: Case Histories from Nature*. Chapman & Hall, New York.
- Beaucournu JC** (1980) Les ectoparasites du lapin de garenne *Oryctolagus cuniculus*: apports a son histoire. *Bulletin Mensuel de l'Office National de la Chasse*, (numéro special), 23-35.
- Biju-Duval C, Ennafaa H, Dennebouy N, Monnerot N, Mignotte F, Soriguer R, El Gaied A, El Hili A, Mounolou JC** (1991) Mitochondrial DNA evolution in lagomorphs: origin of systematic heteroplasmy and organization of diversity in european rabbits. *Journal of Molecular Evolution* 33, 92-102.
- Branco M, Ferrand N** (1998) Genetic polymorphism of rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) tissue acid phosphatases (ACP2 and ACP3). *Comparative Biochemistry and Physiology* 120B, 405-409.
- Branco M, Machado JC, Ferrand N** (1999) Extensive genetic polymorphism of peptidases A, B, C and D, in wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) populations from the Iberian Peninsula. *Biochemical Genetics* 37, 237-249.
- Branco M, Ferrand N, Monnerot M** (2000) Phylogeography of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in the Iberian Peninsula inferred from RFLP analysis of the cytochrome b gene. *Heredity* 85, 307-317.
- Corbet GB** (1994). Taxonomy and origins. Pp. 1–7 in H. V. Thompson and C. M. King, eds. *The European rabbit*. Oxford Science Publications, Oxford, U.K.
- Ferrand N, Branco M** (2007) The evolutionary history of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*): major patterns of population differentiation and geographic expansion inferred from protein polymorphism. In: S. Weiss and N. Ferrand (Eds.), *Phylogeography of Southern European Refugia*, 207-235. Springer, Berlin.
- Flux JEC** (1994) World distribution. In: *The European Rabbit: The History and Biology of a Successful Colonizer* (Eds. Thompson HV, King CM), pp. 8-21. Oxford Science Publications, Oxford.
- Flux JEC, Fullagar PJ** (1992) World distribution of the rabbit *Oryctolagus cuniculus* on islands. *Mammal Review* 22, 151-205.
- Geraldes A, Rogel-Gaillard C, Ferrand N** (2005) High levels of nucleotide diversity in the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) SRY gene. *International Society for Animal Genetics, Animal Genetics*, 36, 349–351.
- Jarman RM** (1996) Human Influence in the Development of the Cretan Mammalian Fauna. In: *Pleistocene and Holocene Fauna of Crete and its First Settlers* (Ed. Reese DS), pp. 211-230. Monographs in World Archeology No. 28, Prehistoric Press, Madison Wisconsin.
- Hardy C, Vigne JD, Casane D, Dennebouy N, Mounolou JC, Monnerot M** (1994) Origin of European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in a Mediterranean island: zooarchaeology and ancient DNA examination. *Journal of Evolutionary Biology* 7, 217-226.
- Kumar S, Tamura K, Nei M** (2004). MEGA3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5:150-163.
- Long JR, Qiu XP, Zeng FT, Tang LM, Zhang YP** (2002) Origin of rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in China: evidence from mitochondrial DNA control region sequence analysis. *Animal Genetics*, 34, 82–87
- Lopez-Martinez N** (1989) Revision sistemática y biostratigráfica de los lagomorphos (Mammalia) del neogeno y cuaternario de España. *Memorias del Museo Paleontológico de la Universidad de Zaragoza*, Diputación General de Aragón.

- Lopez-Martinez (2007)** The Lagomorph Fossil Record and the Origin of the European Rabbit. In: Alves, P. C., Ferrand, N., Hackländer, K. (Eds.), *Lagomorph Biology: Evolution, Ecology and Conservation*. Springer, Berlin, pp. 27-46.
- Monnerot M, Vigne JD, Biju-Duval C, Casane D, Callou C, Hardy C, Mougél F, Soriguer R, Dennebouy N, Mounolou JC** (1994) Rabbit and man: genetic and historic approach. *Genetics, Selection, Evolution* 26 (Supplement 1), 167-182.
- Robinson and Matthee** (2005) Phylogeny and evolutionary origins of the Leporidae: a review of cytogenetics, molecular analyses and a supermatrix analysis. *Mammal Rev* 35, No. 3&4, 231–247.
- Rozas J, Sánchez-DelBarrio JC, Messeguer X, Rozas R** (2003) DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19: 2496-2497.
- Saitou N, Nei M** (1987) The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. & Evol.*, 4, 406-425.
- Sharples CM, Fa JE, Bell DJ** (1996) Geographical variation in size in the European rabbit *Oryctolagus cuniculus* (Lagomorpha: Leporidae) in Western Europe and North Africa. *Zoological Journal of the Linnean Society* 117, 141-158.
- Swofford DL, Olsen GJ, Waddell PJ, Hillis DM** (1996) Phylogenetic inference. In: Hillis, D.M., Moritz, C., Mable, B.K. (Eds.), *Molecular Systematics*. pp. 407–514.
- 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.
- van der Loo W, Ferrand N, Soriguer R** (1991) Estimation of gene diversity at the *b* locus of the constant region of the immunoglobulin light chain in natural populations of European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in Portugal, Andalusia and on the Azorean islands. *Genetics* 127, 789-799.
- van der Loo W, Mougél F, Sánchez MS, Bouton C, Castien E, Fonseca A, Ferrand N, Soriguer R, Monnerot M** (1999) Cytonuclear disequilibria in wild populations of rabbit (*Oryctolagus cuniculus* L.) suggest unequal allele turnover rates at the *b* locus (*IGKC1*). *Immunogenetics* 49, 629-643.
- Voutsialou and Tatolas** (2005) The fauna of Greece and adjacent areas in the Age of Homer: evidence from the first written documents of Greek literature. *Journal of Biogeography* 32, 1875–1882

Παράρτημα Ι (α): Ενδοομάδα (*Oryctolagus cuniculus*):

Κατάλογος των δειγμάτων που συμπεριλήφθηκαν στις μοριακές αναλύσεις. Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται 1) ο κωδικός που αναγράφεται στα φυλογεντικά δέντρα, 2) ο κωδικός αριθμός του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας Κρήτης (NHMC code), 3) η γεωγραφική προέλευση (όταν πρόκειται για ράτσα σημειώνεται με αστερίσκο), 4) ο κωδικός της κάθε αλληλουχίας στην βάση δεδομένων GenBank (Acc. No.) και 5) ο κωδικός του κάθε απλοτύπου όπως προέκυψε από την παρούσα εργασία (με Β σημειώνονται εκείνοι που ανήκουν στον κλάδο Β και με Α στον κλάδο Α, βλ. Παράγραφο 3.2. και Εικόνες 1 και 2). Οι αλληλουχίες που χρησιμοποιήθηκαν ως αντιπρόσωποι των απλοτύπων (βλ. παράγραφο 2.3. και Εικόνα 2) σημειώνονται με έντονα γράμματα.

No.	NHMC code	Τοποθεσία/ράτσα*	Acc. No.	Απλότυπος
1	80.5.38.39	Δία	-	B9
2	80.5.38.40	Δία	-	B9
3	80.5.38.45	Δία	-	B42
4	80.5.38.54	Κάλυμνος	-	B42
5	80.5.38.67	Λήμνος Καμίνια	-	B42
6	80.5.38.68	Λήμνος Μητρόπολη	-	B10
7	80.5.38.69	Λήμνος Μητρόπολη	-	B42
8	80.5.38.70	Λήμνος Μητρόπολη	-	B10
9	80.5.38.71	Κως	-	B42
10	80.5.38.72	Κως	-	B42
11	80.5.38.73	Κως	-	B42
12	80.5.38.74	Κως	-	B42
13	80.5.38.75	Κως	-	B42
14	80.5.38.76	Κως	-	B42
15	80.5.38.77	Κάσος	-	B42
16	80.5.38.78	Κάσος	-	B42
17	80.5.38.79	Κάσος	-	B42
18	80.5.38.80	Κάλυμνος	-	B42
19	80.5.38.81	Κάλυμνος	-	B42
20	80.5.38.82	Κάλυμνος	-	B42
21	80.5.38.83	Κάλυμνος	-	B42
22	80.5.38.84	Λέρος	-	B42
23	80.5.38.85	Λέρος	-	B42
24	80.5.38.86	Λέρος	-	B42
25	80.5.38.87	Λέρος	-	B42
26	80.5.38.88	Πάτμος	-	B42
27	80.5.38.89	Πάτμος Διακόπτης	-	B42
28	80.5.38.90	Πάτμος Αγ. Σώστης	-	B42
29	80.5.38.91	Λειψοί Μοσχάτο	-	B9
30	80.5.38.92	Λειψοί Αγ. Κοίμηση	-	B42
31	80.5.38.93	Λειψοί Μοσχάτο	-	B42
32	80.5.38.94	Αγαθονήσι	-	B42
33	80.5.38.95	Αγαθονήσι	-	B42
34	80.5.38.96	Αγαθονήσι	-	B42
35	80.5.38.97	Αντικύθηρα	-	B42
36	-	European rabbit in Australia	AF003189	B42
37	-	European rabbit in Australia	AF003190	B35
38	-	European rabbit in Australia	AF003191	B49
39	-	European rabbit in Australia	AF003192	B28

40	-	European rabbit in Australia	AF003193	B42
41	-	European rabbit in Australia	AF003194	B49
42	-	European rabbit in Australia	AF003195	B24
43	-	Fauve de Bourgogne*	AJ293831	B42
44	-	Belgian hare*	AJ293832	B42
45	-	Fauve de Bourgogne*	AJ293833	B42
46	-	Argente de Champagne*	AJ293834	B42
47	-	English*	AJ293835	B42
48	-	Flemish giant*	AJ293836	B44
49	-	Fauve de Bourgogne*	AJ293837	B28
50	-	Hungarian Giant*	AJ293838	B35
51	-	French Lop*	AJ293839	B28
52	-	French Lop*	AJ293840	B12
53	-	French Lop*	AJ293841	B35
54	-	Chinchilla*	AJ293842	B35
55	-	Vienna White*	AJ293843	B28
56	-	Flemish Giant*	AJ293844	B30
57	-	wild rabbit in Australia	U62924	B49
58	-	wild rabbit in Australia	U62925	B42
59	-	wild rabbit in Australia	U62926	B35
60	-	wild rabbit in Australia	U62927	B28
61	-	wild rabbit on Iberian Peninsula	Z83340	A6
62	-	wild rabbit on Iberian Peninsula	Z83341	A2
63	-	wild rabbit on Iberian Peninsula	Z83342	A4
64	-	wild rabbit on Iberian Peninsula	Z83343	A5
65	-	wild rabbit on Iberian Peninsula	Z83344	A1
66	-	rabbit in Spain	Z83346	B21
67	-	rabbit in Spain	Z83349	B39
68	-	rabbit in Spain	Z83350	B9
69	-	rabbit in Spain	Z83351	B25
70	-	rabbit in Spain	Z83354	B21
71	-	rabbit in Spain	Z83364	B46
72	-	rabbit in Spain	Z83365	B28
73	-	rabbit in Spain	Z83366	B49
74	-	rabbit in Spain	Z83367	B42
75	-	Άγνωστης προέλευσης	EF515870	B13
76	-	Άγνωστης προέλευσης	AJ001588	B42
77	-	France: Domestic Normand*	AJ563722	B43
78	-	Spain: Navarra	AJ535818	B37
79	-	Spain: Navarra	AJ535819	B38
80	-	Spain: Navarra	AJ535820	B36
81	-	Spain: Navarra	AJ535821	B22
82	-	Spain: Navarra	AJ535822	B20
83	-	Spain: Navarra	AJ535812	B40
84	-	France	AJ535784	B42
85	-	France	AJ535785	B42
86	-	France	AJ535786	B48
87	-	France	AJ535787	B45
88	-	France	AJ535788	B42
89	-	France	AJ535789	B47
90	-	France	AJ535790	B42
91	-	France	AJ535791	B21

92	-	France	AJ535792	B22
93	-	France	AJ535793	B16
94	-	France	AJ535794	B17
95	-	France	AJ535795	B12
96	-	France	AJ535796	B11
97	-	France	AJ535797	B22
98	-	France	AJ535798	B22
99	-	France	AJ535799	B41
100	-	France	AJ535800	B8
101	-	France	AJ535801	B21
102	-	France	AJ535802	B19
103	-	France	AJ535803	B27
104	-	France	AJ535804	B18
105	-	France	AJ535805	B19
106	-	France	AJ535806	B14
107	-	France	AJ535807	B31
108	-	France	AJ535808	B33
109	-	France	AJ535809	B32
110	-	France	AJ535810	B14
111	-	France	AJ535811	B7
112	-	France	AJ535813	B23
113	-	France	AJ535814	B19
114	-	France	AJ535815	B29
115	-	France	AJ535816	B15
116	-	France	AJ535817	B9
117	-	France	AJ563720	B21
118	-	France	AJ563721	B34
119	-	France Brittany	AJ563709	B42
120	-	France Brittany	AJ563711	B21
121	-	France Brittany	AJ563712	B21
122	-	France Brittany	AJ563713	B28
123	-	France Brittany	AJ563716	B21
124	-	France Brittany	AJ563717	A3
125	-	France Brittany	AJ563719	B21
126	-	France: Ile d' Oleron	AJ563718	B24
127	-	France: Groix	AJ563715	B26
128	-	France: ile de Re	AJ563714	B14
129	-	France: Noirmoutier	AJ563710	B35
130	-	Qixing rabbit*	AF534080	B42
131	-	Haerbin white rabbit*	AF534081	B42
132	-	Zhenhai thick-hair Angora rabbit*	AF534082	B42
133	-	Zhenhai thick-hair Angora rabbit*	AF534103	B49
134	-	Big-ear brown rabbit*	AF534083	B42
135	-	Yufeng brown rabbit*	AF534105	B42
136	-	Yufeng brown rabbit*	AF534099	B35
137	-	Yufeng brown rabbit*	AF534084	B42
138	-	Belgium*	AF534085	B42
139	-	Californian*	AF534086	B42
140	-	Dwarf rabbit*	AF534087	B42
141	-	ELCO*	AF534088	B42
142	-	Germany New Zealand of Zika rabbit*	AF534106	B42
143	-	Germany New Zealand of Zika rabbit*	AF534107	B42

144	-	Germany New Zealand of Zika rabbit*	AF534091	B42
145	-	Germany New Zealand of Zika rabbit*	AF534096	B42
146	-	New Zealand rabbit*	AF534102	B28
147	-	New Zealand rabbit*	AF534089	B42
148	-	Rex from United States*	AF534101	B28
149	-	Rex from United States*	AF534108	B42
150	-	Rex from United States*	AF534094	B42
151	-	Rex from United States*	AF534090	B42
152	-	Germany great line of ZIKA rabbit*	AF534100	B28
153	-	Japanese white rabbit*	AF534104	B42
154	-	Japanese white rabbit*	AF534093	B42
155	-	Angora rabbit from Germany*	AF534095	B42
156	-	Sichuan white rabbit*	AF534092	B42
157	-	Fujian brown rabbit*	AF534097	B42
158	-	Taihang Moutain rabbit*	AF534098	B42

Παράρτημα Ι (β): Παραομάδα:

Κατάλογος των δειγμάτων που συμπεριλήφθηκαν στις μοριακές αναλύσεις. Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται το όνομα του είδους και ο κωδικός της κάθε αλληλουχίας στην βάση δεδομένων GenBank.

	Όνομα είδους	Acc. No.
1	<i>Sylvilagus palustris</i>	EF062313
2	<i>Sylvilagus palustris</i>	EF062315
3	<i>Sylvilagus palustris</i>	EF062317
4	<i>Sylvilagus palustris</i>	EF062318
5	<i>Lepus europaeus</i>	AJ421471
6	<i>Lepus americanus</i>	AF497543
7	<i>Lepus americanus</i>	AF497544