

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
Π.Μ.Σ. «ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**“DNA Barcoding και φυλογενετική ανάλυση Ελασμοβράγχιων της Ανατολικής
Μεσογείου μέσω μοριακών δεικτών ”**

**“DNA Barcoding and Phylogenetics of Elasmobranch Species in the Eastern
Mediterranean”**

Ελεάνα Θ. Καραχάλιου

Αθήνα 2019

Επιβλέπων Καθηγητής: Πολυδεύκης Χατζόπουλος

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

“DNA Barcoding και φυλογενετική ανάλυση Ελασμοβράγχιων της Ανατολικής Μεσογείου μέσω μοριακών δεικτών ”

“DNA Barcoding and Phylogenetics of Elasmobranch Species in the Eastern Mediterranean”

Ελέανα Θ. Καραχάλιου

Επιβλέπων Καθηγητής: Πολυδεύκης Χατζόπουλος

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

- 1. Πολυδεύκης Χατζόπουλος**, Καθηγητής – Μοριακή Βιολογία, Τμήμα Βιοτεχνολογίας, Σχολή Τροφίμων Βιοτεχνολογίας & Ανάπτυξης, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, **Επιβλέπων**.
- 2. Δήμητρα Μηλιώνη**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια – Μοριακή Βιολογία, Τμήμα Βιοτεχνολογίας, Σχολή Τροφίμων Βιοτεχνολογίας & Ανάπτυξης, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, **Μέλος**.
- 3. Περσεφόνη Μεγαλοφώνου**, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια – Ιχθυολογία, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή Θετικών Επιστημών, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, **Μέλος**.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όλους όσους συνέβαλαν στο να φέρω σε πέρας την παρούσα Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επιβλέποντα της εργασίας αυτής, κ. Πολυδεύκη Χατζόπουλο, για την ευκαιρία που μου πρόσφερε μέσω της εκπόνησης της διατριβής μου στο εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, καθώς και τη βοήθεια και την υποστήριξή του τόσο κατά τη διεξαγωγή του πειράματος όσο και κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Περσεφόνη Μεγαλοφώνου, μέλος της εξεταστικής μου επιτροπής, για την προμήθεια δειγμάτων, τις συμβουλές και την ενθάρρυνσή της καθόλα τα στάδια διεκπεραίωσης της εργασίας. Ακόμη, θα ήθελα να εκφράσω ευχαριστίες στην κ. Δήμητρα Μηλιώνη, μέλος της εξεταστικής μου επιτροπής, για την στήριξη και το φιλικό περιβάλλον που δημιουργούσε. Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στον κ. Γεράσιμο Δάρα για την καθημερινή βοήθειά του και καθοδήγηση κατά την διάρκεια του πειραματικού σταδίου της διατριβής, καθώς και τα μέλη του εργαστηρίου Μοριακής Βιολογίας για τις συμβουλές τους και την συμπαράστασή τους στην καθημερινότητα του εργαστηρίου. Ακόμη, ένα μεγάλο ευχαριστώ στον κ. Αθανάσιο Εξαδάκτυλο για την υποστήριξη και την καθοδήγησή του από την αρχή της πορείας των σπουδών μου, και τον κ. Γεώργιο Γκάφα για την στήριξη και την ανεκτίμητη βοήθειά του. Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην οικογένεια μου και στους φίλους μου για την στήριξη και συμπαράστασή τους καθ'όλο το χρονικό διάστημα των σπουδών μου.

Αφιερωμένο στους δασκάλους μου Αθανάσιο Εξαδάκτυλο και Γεώργιο Γκάφα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι μοριακές τεχνικές αποτελούν μέθοδο υψηλής σημασίας για την διαχείριση και προστασία των αλιευτικών πόρων, ιδιαίτερα για απειλούμενα είδη. Η λεκάνη της Μεσογείου, έγκλειστη από στεριά θάλασσα με ιδιαίτερα γεωλογικά και ωκεανογραφικά χαρακτηριστικά, ιστορικά αποτελούσε περιοχή με υψηλή πυκνότητα Ελασμοβράγχιων ιχθύων. Πλέον, 53-71% των Ελασμοβράγχιων της απειλούνται με εξαφάνιση λόγω ανθρωπογενών παραγόντων. Οι συνθήκες αυτές καθιστούν σημαντική την κατανόηση του κύκλου ζωής, μορφολογικών χαρακτηριστικών, εξελικτικών σχέσεων, ταξινομικής και πληθυσμιακής δομής τους. Η διατριβή αυτή στοχεύει στην παραγωγή δεδομένων στα πλαίσια της ευρείας προσπάθειας για την διαχείριση και προστασία των Ελασμοβράγχιων ιχθύων της Ανατολικής Μεσογείου, περιοχής για την οποία υπάρχει έλλειψη πληροφοριών γενετικής φύσεως. Το μιτοχονδριακό γονίδιο COI (cytochrome oxidase subunit I), μοριακός δείκτης ο οποίος αξιοποιείται ευρέως στην μέσω DNA Barcoding ταυτοποίηση είδους, χρησιμοποιήθηκε ώστε να συγκριθούν οι αλληλουχίες 23 δειγμάτων Ελασμοβράγχιων ιχθύων, ήδη αντιστοιχημένων σε είδος μέσω μορφολογικών μετρήσεων, με αλληλουχίες της βάσης δεδομένων GenBank μέσω BLAST. Στη συνέχεια επιλέχθηκαν οι αλληλουχίες με το υψηλότερης ποιότητας διάβασμα, και για τμήμα μεγέθους αλληλουχίας 570bp πραγματοποιήθηκε φυλογενετική ανάλυση με τις μεθόδους Maximum Likelihood και Bayesian Analysis. Στις περισσότερες των περιπτώσεων τα μοριακά δεδομένα επαλήθευσαν τις μορφολογικές μετρήσεις. Παρατηρήθηκε ταξινομική ασάφεια μεταξύ των ειδών *H. nakamurai* και *H. griseus*, γεγονός το οποίο τονίζει την ανάγκη για περαιτέρω έρευνα στα είδη βαθέων υδάτων του γένους *Hexancus*. Η φυλογενετική ανάλυση δεν απέδωσε με επιτυχία τις μεταξύ ειδών εξελικτικές σχέσεις. Συμπεραίνεται ότι το τμήμα αλληλουχίας του γονιδίου COI που αξιοποιήθηκε σε αυτή την εργασία δεν αποτελεί επαρκές μέγεθος για φυλογενετική ανάλυση.

Μοριακή Βιολογία

Λέξεις – κλειδιά: Elasmobranchii, COI, mtDNA, DNA Barcoding, Φυλογενετική

ABSTRACT

Molecular techniques consist an important method for fisheries management and conservation, especially regarding vulnerable species. The Mediterranean basin, a landlocked sea of unique geological and oceanographic characteristics, was historically an area of high Elasmobranch abundance. In modern times 53-71% of resident Elasmobranchs are threatened with extinction due to human activity. These circumstances call for further understanding of their life cycle, morphological characteristics, evolutionary relationships, taxonomy and population structure. This thesis aims to produce data as part of the larger-scale attempt for conservation and management of Eastern Mediterranean Elasmobranch species, as currently there is limited genetic data for the area. The mitochondrial COI gene (cytochrome oxidase subunit I), a molecular marker widely used for species identification via DNA Barcoding, was utilized so as to compare the sequences of 23 Elasmobranch samples, already identified to species level by morphological measurements, with sequences from the GenBank database via BLAST. The sequences with the highest quality read were selected and a 570bp sequence segment was used for phylogenetic analysis via the Maximum Likelihood and Bayesian methods. In most cases molecular data confirmed morphological measurements. Taxonomic ambiguity was observed between the species *H. nakamurai* and *H. griseus*, emphasizing the need for further research in deep-sea species of the genus *Hexancus*. Phylogenetic analysis failed to correctly discern between-species evolutionary relationships. In conclusion, the COI gene sequence segment used in this study is of insufficient size for phylogenetic analysis.

Molecular Biology

Keywords: Elasmobranchii, COI, mtDNA, DNA Barcoding, Phylogenetics

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1. Μοριακές τεχνικές και ιχθυολογία.....	1
1.1.1. Ιστορικά οι μοριακές τεχνικές στην ιχθυολογία και νέες τεχνολογίες.....	1
1.1.2. Διεπιστημονική προσέγγιση.....	4
1.1.3. Οι εφαρμογές των μοριακών τεχνικών στην ιχθυολογία.....	4
1.2. Το DNA Barcoding ως εργαλείο για την ταυτοποίηση είδους και το γονίδιο COI.....	7
1.3. Τα χαρακτηριστικά της Ανατολικής Μεσογείου.....	8
1.4. Οι Ελασμοβράγχιοι ιχθείς της Ανατολικής Μεσογείου.....	9
1.4.1. <i>Carcharodon carcharias</i> - Λευκός καρχαρίας (Linnaeus, 1758).....	10
1.4.2. <i>Isurus oxyrinchus</i> - Ρυγχοκαρχαρίας (Rafinesque, 1810)).....	10
1.4.3. <i>Sphyrna zygaena</i> – Ζύγαινα (Linnaeus, 1758).....	11
1.4.4. <i>Alopias vulpinus</i> - Καρχαρίας αλεπού ή Αλεπόσκυλος (Bonnaterre, 1788).....	11
1.4.5. <i>Carcharhinus plumbeus</i> - Σταχτοκαρχαρίας (Nardo, 1827).....	12
1.4.6. <i>Lamna nasus</i> – Λάμια (Bonnaterre, 1788).....	13
1.4.7. <i>Prionace glauca</i> - Γλαυκοκαρχαρίας ή Γαλάζιος (Linnaeus, 1758).....	13
1.4.8. <i>Cetorhinus maximus</i> - Καρχαρίας Προσκυνητής ή Σαπουνάς (Gunnerus, 1765).....	14
1.4.9. <i>Squatina squatina</i> - Αγγελοκαρχαρίας (Linnaeus, 1758).....	14
1.4.10. <i>Oxynotus centrina</i> - Αχινόγατος (Linnaeus, 1758).....	15
1.4.11. <i>Hexanchus griseus</i> - Εξαβράγχιος καρχαρίας (Bonnaterre, 1788).....	15
1.4.12. <i>Heptranchias perlo</i> - Επταβράγχιος καρχαρίας (Bonnaterre, 1788).....	16
1.4.13. <i>Squalus acanthias</i> - Κεντρόνι (Linnaeus, 1758).....	17
1.4.14. <i>Centrophorus granulosus</i> -Κοκκαγκαθίτης (Bloch & Schneider, 1810).....	17
1.4.15. <i>Mustelus asterias</i> - Αστρογαλέος (Cloquet, 1819).....	18
1.4.16. <i>Galeorhinus galeus</i> - Δροσίτης ή Γαλέος (Linnaeus, 1758).....	18
1.4.17. <i>Carcharias taurus</i> - Ταυροκαρχαρίας (Rafinesque, 1810).....	19
1.4.18. <i>Odontaspis ferox</i> - Αγριοκαρχαρίας (Risso, 1810).....	19
1.4.19. <i>Alopias superciliosus</i> – Αλωπίας ο μεγαλόματος (Lowe, 1841).....	20
1.4.20. <i>Hexanchus nakamurai</i> –Μεγαλόματος εξαβράγχιος (Teng, 1962).....	20
1.4.21. <i>Galeus melastomus</i> - Μελανόσκυλος (Rafinesque, 1810).....	21
1.4.22. <i>Dipturus batis</i> - Γκριζόβατος (Linnaeus, 1758).....	21
1.4.23. <i>Mobula mobular</i> – Διαβολόψαρο (Bonnaterre, 1788).....	22
1.4.24. <i>Rostroraja alba</i> - Λευκόβατος (Lacépède, 1803)	22
1.4.25. <i>Gymnura altavela</i> - Πλατυσέλαχο (Linnaeus, 1758).....	23
1.4.26. <i>Aetomylaeus bovinus</i> – Ρυγχαετόψαρο (Geoffroy, 1817).....	23
1.4.27. <i>Rhinobatos rhinobatos</i> - Κοινός ρινόβατος (Linnaeus, 1758).....	24
1.4.28. <i>Leucoraja fullonica</i> – Ακανθόβατος (Linnaeus, 1758).....	24
1.4.29. <i>Glaucostegus cemiculus</i> - Μαυρορινόβατος (Geoffroy, 1817).....	25
1.4.30. <i>Dasyatis pastinaca</i> – Βατοτρύγωνα (Linnaeus, 1758).....	25
1.4.31. <i>Leucoraja circularis</i> – Στρογγυλόβατος (Couch, 1838).....	26
1.4.32. <i>Raja radula</i> – Τραχύβατος (Delaroche, 1809).....	26
1.5. Η εφαρμογή του DNA Barcoding και οι μοριακοί δείκτες στην φυλογενετική ανάλυση των ελασμοβράγχιων της Ανατολικής Μεσογείου.....	27
1.6. Οι μοριακοί δείκτες στην φυλογενετική ανάλυση και η ταξινομική ασάφεια του είδους <i>Galeus melastomus</i>.....	28
1.7. Σκοπός της διπλωματικής εργασίας.....	29
2. ΜΕΘΟΔΟΙ & ΥΛΙΚΑ.....	30
2.1. Δείγματα.....	30
2.2. Απομόνωση γονιδιωματικού DNA.....	31
2.3. PCR (Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης).....	31
2.3.1. Εκκινητές.....	31

2.3.2. Μείγμα PCR.....	32
2.3.3. Πρόγραμμα PCR.....	32
2.3.4. Απομόνωση προϊόντων PCR.....	32
2.4. Κλωνοποίηση.....	33
2.4.1. Απολίνωση DNA.....	33
2.4.2. Μεταμόρφωση.....	33
2.4.3. Καλλιέργεια κυττάρων.....	33
2.4.4. Απομόνωση Πλασμιδίων.....	34
2.4.5. Πέψεις.....	34
2.5. Αλληλούχιση.....	34
2.6. Επεξεργασία δεδομένων.....	35
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	36
3.1. Απομόνωση γονιδιωματικού DNA.....	36
3.2. PCR.....	40
3.3. Κλωνοποίηση.....	44
3.4. DNA Barcoding.....	47
3.5. Φυλογενετική Ανάλυση.....	48
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	50
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	53
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	59

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Μοριακές τεχνικές και ιχθυολογία

Οι μοριακές τεχνικές αποτελούν πλέον αναπόσπαστο κομμάτι της θαλάσσιας επιστήμης. Χάρη στην πρόοδο της μοριακής βιολογίας τα τελευταία χρόνια, είναι δυνατή η μελέτη γενετικού υλικού από μεγάλο φάσμα οργανισμών και υποστρωμάτων. Πλέον, καθίσταται δυνατή η απομόνωση γενετικού υλικού ιχθύων όχι μόνο από φρέσκους ιστούς, αλλά και από υποβαθμισμένα δείγματα όπως επεξεργασμένα τρόφιμα, αρχαία δείγματα μέσω της τεχνολογίας αρχαίου DNA (aDNA) και περιβαλλοντικά δείγματα όπως δείγματα νερού μέσω της τεχνολογίας του περιβαλλοντικού DNA (eDNA).

Παρακάτω αναφέρονται ιστορικά οι μοριακές τεχνικές στην ιχθυολογία, νέες τεχνολογίες, καθώς και οι κυριότερες εφαρμογές τους. Καθώς η σημερινή εποχή χαρακτηρίζεται από μεγάλο φάσμα τεχνολογίας και εξειδίκευσης, οι μοριακές τεχνικές στην θαλάσσια επιστήμη, καθώς και στην ιχθυολογία διαθέτουν αντίστοιχη ποικιλία μεθόδων και εφαρμογών. Λόγω της συνάφειας με την παρούσα εργασία, οι θεματικές αυτές αναλύονται κυρίως από την σκοπιά της μοριακής ταυτοποίησης, φυλογενετικής και προσαρμογής των οργανισμών σε περιβαλλοντικές συνθήκες, χωρίς να υπονομεύεται η αξία των υπόλοιπων τεχνικών και εφαρμογών.

1.1.1. Ιστορικά οι μοριακές τεχνικές στην ιχθυολογία και νέες τεχνολογίες

Παλαιότερα, η κατανόηση της βιολογίας των ιχθύων και της αλληλεπίδρασής τους με το περιβάλλον τους βασιζόταν σε τεχνικές όπως η μελέτη μορφολογικών χαρακτηριστικών, οπτική και ηλεκτρονική μικροσκοπία, ωκεανογραφία κ.α. Από την ανακάλυψη της δομής του DNA από τους Watson και Crick το 1953, οι κλάδοι της γενετικής και μοριακής βιολογίας αναπτύσσονται ραγδαία, προσφέροντας στους επιστήμονες τεχνικές και μεθόδους που ολοένα βελτιώνονται. Από τις απλές μεθόδους του παρελθόντος, μέχρι τις τεχνολογίες αλληλούχισης επόμενης γενιάς (next-generation sequencing) και ομικές τεχνολογίες (omics), η ταχεία εξέλιξη της επιστήμης έχει μειώσει το κόστος των παραδοσιακών μεθόδων και είναι πλέον διαθέσιμες νέες τεχνικές με λιγότερους περιορισμούς. Από τις πρώτες μοριακές τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η μελέτη των διαφοροποιήσεων του πυρήνα μέσω των αλλόζυμων, ένζυμα τα οποία παρουσιάζουν διαφοροποίηση αλληλομόρφων σε μια θέση του χρωμοσώματος, για παράδειγμα η μελέτη του MacDonald (1988), για την γενετική διαφοροποίηση, ταξινομική και αναπαραγωγική δομή με βάση την γενετική ανάλυση σε συνδυασμό με δεδομένα προγραμματίων σήμανσης για τον καρχαρία *Mustelus antarcticus*. Αντίστοιχα διαδεδομένη ήταν η μελέτη της μιτοχονδριακής διαφοροποίησης μέσω πολυμορφισμού μήκους θραυσμάτων περιορισμού (RFLP). Η τεχνική αυτή βασίζεται στην ανάλυση θραυσμάτων DNA, που ανάλογα την ύπαρξη ή μη θέσεων αναγνώρισης ενζύμων περιορισμού παρουσιάζουν διαφορετικά μεγέθη. Χαρακτηριστικό παράδειγμα μελέτης μιτοχονδριακού DNA με RFLP είναι οι μελέτες των Bremer et al. (1996) και Chow et al. (1997) για την πληθυσμιακή δομή του ξιφία *Xiphias gladius*. Ενώ αυτές οι μέθοδοι προσφέρουν βασικά αποτελέσματα, χαρακτηρίζονται από σημαντικούς περιορισμούς. Κύριοι περιορισμοί αποτελούν η έλλειψη διακριτότητας λόγω χαμηλής ετεροζυγωτικότητας στην ανάλυση αλλοζύμων και η ανικανότητα παρατήρησης παραλλαγών λόγω του ότι μόνο οι μεταλλάξεις που επηρεάζουν τις θέσεις αναγνώρισης είναι εμφανείς στην RFLP (Portnoy & Heist 2012).

Χάρη στην πρόοδο της τεχνολογίας και το μειωμένο κόστος των πιο διαδεδομένων μοριακών τεχνικών, πολλές από αυτές είναι πλέον ευρέως διαθέσιμες. Προσφέρουν αξιόπιστα, γρήγορα αποτελέσματα, είναι εύχρηστες και υπάρχει μεγάλη ποικιλία πρωτοκόλλων, υλικών και τεχνογνωσίας. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η μέσω PCR απομόνωσης και στη συνέχεια ανάλυσης γονιδίων του μιτοχονδριακού και πυρηνικού DNA, όπως τα γονίδια cytochrome *b*, COI, COII, 16S rRNA του μιτοχονδρίου και τα γονίδια ITS2, LDHA6 του πυρήνα. Συχνά προτιμάται το μιτοχονδριακό DNA καθώς καθιστά χρήσιμο εργαλείο χάρη στον υψηλό αριθμό αντιγράφων του, την μεγαλύτερη ποσότητα προϊόντων του μιτοχονδριακού DNA σε σχέση με το πυρηνικό DNA και

το ευρύ πεδίο εξελικτικών συχνοτήτων μεταξύ των περιοχών του. Διαθέτουν ευρύ πεδίο εφαρμογών όπως η ταυτοποίηση είδους και η φυλογενετική, για παράδειγμα την εργασία των Karaïskou et al. (2003), όπου μέσω της ανάλυσης αλληλουχιών των μιτοχονδριακών γονιδίων cytochrome *b* και 16S rRNA ερευνηθήκε η γενετική ταυτοποίηση και οι φυλογενετικές σχέσεις για τρία Ευρωπαϊκά είδη του γένους *Trachurus*. Αντίστοιχα διαδεδομένη πλέον είναι η τεχνολογία της multiplex PCR. Μέσω της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης και χρησιμοποιώντας πολλαπλούς εξειδικευμένους στο εκάστοτε είδος εκκινητές (primers) μπορούν να αναγνωριστούν πάνω από ένα επιλεγμένα είδη μεμονωμένα ή ταυτόχρονα χωρίς να χρειαστεί αλληλούχιση. Σημαντική θεωρείται η ταχύτητα αυτής της μεθόδου, καθώς και το χαμηλό της κόστος λόγω αποφυγής της αλληλούχισης των δειγμάτων. Συνεπώς, προτιμάται για εμπορικές χρήσεις και στην περιβαλλοντική προστασία. Παράδειγμα χρήσης της multiplex PCR είναι η δουλειά των Chapman et al. (2003) όπου αξιοποιούνται ταυτόχρονα μιτοχονδριακοί και πυρηνικοί μοριακοί δείκτες για τον έλεγχο του εμπορίου του απειλούμενου λευκού καρχαρία *Carcharodon carcharias* με σκοπό την προστασία του.

Τη σημερινή εποχή έχει πλέον αναπτυχθεί η γονιδιωματική (genomics), καθιστώντας δυνατή τη παραγωγή γενετικών δεδομένων για όλο το εύρος του γονιδιώματος. Υπάρχει δηλαδή η δυνατότητα, μέσω των νέων τεχνολογιών να ερευνηθούν περαιτέρω οι εξελικτικές και οικολογικές διαδικασίες οργανισμών μοντέλων και μη. Οι ιχθύες αποτελούν σημαντικούς οργανισμούς για την κατανόηση της εξελικτικής διαδικασίας σε σύγχρονες και ιστορικές κλίμακες και προσφέρουν ευκαιρίες για την μελέτη διαδικασιών σε οικολογική κλίμακα, τον εντοπισμό γονιδιωματικών υπογραφών που σχετίζονται με τις πληθυσμιακές αποκλίσεις υπό την γονιδιακή ροή και τον καθορισμό της γενετικής βάσης των φαινοτυπικών χαρακτηριστικών (Hemmer-Hansen et al. 2014). Η αλληλούχιση του μιτοχονδριακού, πυρηνικού ή και ολόκληρου του γονιδιώματος μέσω τεχνολογιών αλληλούχισης επόμενης γενιάς (NGS-Next Generation Sequencing) δίνει τη δυνατότητα παραγωγής δεδομένων υψηλής διακριτικής ικανότητας, κατάλληλων για την εις βάθος μελέτη του συνόλου των γενετικών χαρακτηριστικών ενός οργανισμού. Από τις χαρακτηριστικότερες εφαρμογές τεχνολογίας NGS για τον σκοπό αυτό, διότι διατίθενται ποικιλία τεχνικών και πρωτοκόλλων, είναι η περίπτωση των Alam et al. (2014), όπου αλληλουχίστηκε ολόκληρο το μιτοχονδριακό γονιδίωμα του καρχαρία *Rhincodon typus* με σκοπό την χρήση του στην φυλογενετική ανάλυση. Πραγματοποιήθηκε αλληλούχιση βολής ολοκλήρου του γονιδιώματος (whole genome shotgun sequencing) μέσω του συστήματος Illumina, της οποίας αφού συναρμολογήθηκαν τα διαβάσματα, ταυτοποιήθηκαν οι αλληλεπικαλυπτόμενες αλληλουχίες (contigs) του μιτοχονδριακού γονιδιώματος. Επίσης αξίζει να αναφερθεί η εργασία των Star et al. (2011) όπου αλληλουχίστηκε ολόκληρο το γονιδίωμα του μπακαλιάρου *Gadus morhua* και καταγράφηκαν παρατηρήσεις για το ανοσοποιητικό του σύστημα. Για τον σκοπό αυτό αλληλουχίστηκαν 454 βιβλιοθήκες βολής (shotgun) και συζευγμένων άκρων (paired-end) μέσω Illumina και ταυτοποιήθηκαν 22.154 γονίδια μέσω συστήματος αυτοματοποιημένης συναρμολόγησης.

Σημαντική είναι και η εφαρμογή της τεχνολογίας NGS για την δημιουργία βιβλιοθηκών μικροδορυφορικών δεικτών (microsatellite markers). Οι μικροδορυφόροι αποτελούν ακολουθία επαναλαμβανόμενου DNA στην οποία επαναλαμβάνονται ορισμένα μοτίβα DNA που κυμαίνονται από ένα έως έξι ή και περισσότερα ζεύγη βάσεων, 5-50 φορές. Οι μικροδορυφόροι εμφανίζονται σε χιλιάδες θέσεις εντός του γονιδιώματος ενός οργανισμού. Έχουν υψηλότερο ρυθμό μετάλλαξης από άλλες περιοχές του DNA, άρα και υψηλή γενετική ποικιλομορφία, καθιστώντας τους σημαντικό εργαλείο για γενετικές μελέτες όπως στην πληθυσμιακή γενετική. Παράδειγμα χρήσης NGS για την δημιουργία βιβλιοθηκών μικροδορυφορικών δεικτών και την αξιοποίησή τους για την πληθυσμιακή γενετική είναι η εργασία των Le Port et al. (2016) για το σαλάχι *Dasyatis brevicaudata*, όπου αφού πραγματοποιήθηκε αλληλούχιση βολής ολοκλήρου του γονιδιώματος μέσω πυροαλληλούχισης (pyrosequencing), οι αλληλουχίες σαρώθηκαν για τον εντοπισμό μικροδορυφόρων. Τονίζεται ότι οι μικροδορυφορικοί δείκτες οι οποίοι έχουν δημιουργηθεί για συγκεκριμένο είδος μπορούν συνήθως να χρησιμοποιηθούν για συγγενικά του είδη, αποφεύγοντας την ανάγκη την εκ νέου δημιουργία τους, διαδικασία που απαιτεί υψηλό κόστος, χρόνο και τεχνογνωσία.

Αναπόσπαστο κομμάτι του κλάδου της σύγχρονης μοριακής βιολογίας είναι και οι υπόλοιπες ομικές τεχνολογίες, που στοχεύουν στον συλλογικό χαρακτηρισμό και την ποσοτικοποίηση ομάδων βιολογικών μορίων που μεταφράζονται σε δομή, λειτουργία και δυναμική ενός οργανισμού ή συνόλου οργανισμών. Αναφέρονται παρακάτω οι συχνότερα χρησιμοποιούμενες ομικές τεχνολογίες όπως η πρωτεομική (proteomics) που μελετά το πλήθος των πρωτεϊνών ενός οργανισμού, η μεταβολομική (metabolomics) που μελετά τις ποσότητες των κυτταρικών μεταβολιτών, η τρανσκριπτομική (transcriptomics) που μετρά τα επίπεδα έκφρασης κυρίως mRNA και η μεταγονιδιωματική (metagenomics) που μελετά το γενετικό υλικό που ανακτάται απευθείας από περιβαλλοντικά δείγματα.

Μεταβολομική, δηλαδή η μελέτη του συνολικού προφίλ των μικρών (<1 kDa), ενδογενών μεταβολιτών σε έναν οργανισμό αντανakλά τις αλλαγές στην οργανοληπτική λειτουργία του. Η μεταβολομική έχει ήδη βρει εκτεταμένη χρήση σε πολλούς ερευνητικούς τομείς όπως η τοξικολογία (Samuelsson & Larsson 2008). Παράδειγμα χρήσης της μεταβολομικής στην ιχθυολογία είναι η μελέτη των Mushaq et al. (2014) πάνω στον οργανισμό – μοντέλο *Danio rerio* όπου διερευνήθηκε το πώς ενεργοποιούνται διάφοροι μηχανισμοί ώστε να διατηρηθεί η ομοιόσταση σε διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες και καταπονίσεις.

Η τρανσκριπτομική, ή αλλιώς τεχνολογία μεταγραφικής ανάλυσης χρησιμοποιείται για τη μελέτη του μεταγραφήματος ενός οργανισμού, δηλαδή το άθροισμα του συνόλου των RNA-μεταγραφών. Οι πληροφορίες της λειτουργίας ενός οργανισμού καταγράφονται στο RNA του γονιδιώματός του και εκφράζονται μέσω της μεταγραφής. Το mRNA χρησιμεύει ως μεταβατικό ενδιάμεσο μόριο στο δίκτυο πληροφοριών, ενώ τα μη κωδικά RNA εκτελούν επιπρόσθετες λειτουργίες. Το μεταγράφημα συλλαμβάνει ένα στιγμιότυπο των συνολικών μεταγραφών παρόντα σε ένα κύτταρο. Η πρωτεομική ορίζεται ως η μεγάλης κλίμακας μελέτη των πρωτεϊνών που παράγονται ή τροποποιούνται από έναν οργανισμό. Επιτρέπει στην αναγνώριση συνεχώς αυξανόμενου αριθμού πρωτεϊνών, οι οποίες ποικίλλουν ανάλογα με το χρόνο, απαιτήσεις, ή καταπονήσεις που υφίσταται ένα κύτταρο ή οργανισμός. Παράδειγμα εφαρμογής της τρανσκριπτομικής και πρωτεομικής στην ιχθυολογία είναι η μελέτη των Martyniuk & Denslow (2012) πάνω στη διακοπή σηματοδότησης ανδρογόνου στους τελεόστεους ιχθύς λόγω παρουσίας ρύπων στο υδάτινο περιβάλλον.

Η μικροβιολογία και η αλληλούχιση μικροβιακών γονιδιωμάτων ανέκαθεν βασιζόταν στην καλλιέργεια κλώνων. Οι πρώτες τεχνικές περιβαλλοντικής γενετικής βασισμένες στην κλωνοποίηση γονιδίων όπως το 16S rRNA, καθώς και οι μεταγενέστερες μέσω των τεχνολογιών NGS, αντικατοπτρίζουν την ποικιλομορφία του περιβαλλοντικού δείγματος που χανόταν μέσω της εφαρμογής των παραδοσιακών μεθόδων. Χαρακτηριστική περίπτωση ιχθυολογικής εφαρμογής της μεταγονιδιωματικής, δηλαδή της αλληλούχισης ολόκληρου του μικροβιακού φορτίου ενός δείγματος, είναι η εργασία των Retallack et al. (2019) για την διαλεύκανση φαινομένου μαζικής θνησιμότητας εκατοντάδων καρχαριών του είδους *Triakis semifasciata*. Αφού τα νεκρά και ημιθανή άτομα διαγνώστηκαν με μηνιγγοεγκεφαλίτιδα, εφαρμόστηκε μεταγονιδιωματική ανάλυση για τον εντοπισμό και την ταυτοποίηση παθογόνων.

Πολλά υποσχόμενη νέα τεχνολογία στον τομέα της ιχθυολογίας θεωρείται η αξιοποίηση και ανάλυση του περιβαλλοντικού DNA (eDNA), δηλαδή του DNA που αποβάλλεται και συσσωρεύεται καθώς οι οργανισμοί αλληλεπιδρούν με το περιβάλλον τους. Η μέθοδος του eDNA, βασίζεται στην ανίχνευση μικροποσοτήτων DNA σε κυτταρική ή εξωκυτταρική μορφή από πηγές όπως κόπρανα, εκκρινόμενες βλεννώδεις μεμβράνες, γαμέτες και δερματικά κύτταρα. Όπως διαφαίνεται από την εργασία των Lacoursière-Roussel et al. (2016), αποτελεί αποτελεσματικό μέσο για την αντιμετώπιση των περιορισμών της συλλογής δεδομένων για την διαχείριση αλιευτικών πόρων. Στη σημερινή εποχή, λόγω της υπεραλίευσης και της κλιματικής αλλαγής τα ιχθυαποθέματα εξαντλούνται και πολλά είδη είναι προς εξαφάνιση. Άρα, το να μπορούν οι επιστημονικές έρευνες να βασιστούν σε εναλλακτικές μεθόδους για την συλλογή δεδομένων, χωρίς να απαιτείται η αφαίρεση ατόμων από έναν ήδη επιβαρυνμένο πληθυσμό, αποτελεί σημαντικό εργαλείο στα χέρια των επιστημόνων.

Επιπλέον αναφέρεται η τεχνική χρήσης του αρχαίου DNA (aDNA), δηλαδή γενετικού υλικού από αρχαιολογικά δείγματα. Η αξιοποίηση του aDNA μπορεί να οδηγήσει στην καλύτερη κατανόηση

της εκμετάλλευσης των αλιευτικών πόρων, καθώς και την αξιοποίηση των διαφόρων ειδών κατά τη διάρκεια της ανθρώπινης ιστορίας. Πέρα από το αρχαιολογικό ενδιαφέρον, σημαντική είναι η δυνατότητα σύνδεσης ιστορικών δεδομένων με σημερινά, δίνοντας την δυνατότητα να διαλευκανθεί η πορεία των οικοσυστημάτων μέσα στον χρόνο και το πώς έχουν επηρεαστεί αυτά από την ανθρώπινη δραστηριότητα. Αναφέρεται ως παράδειγμα η μελέτη των Moss et al. (2014), πάνω στην αξιοποίηση του ανάδρομου σολωμού *Oncorhynchus keta* από τις ανθρώπινες κοινωνίες της Νότιας Αμερικής πριν από 11.500 χρόνια.

1.1.2. Διεπιστημονική προσέγγιση

Πλέον, οι μοριακές τεχνικές έχουν καθιερωθεί στην επιστημονική μεθοδολογία ως αξιόπιστες και πολλά υποσχόμενες. Μπορούν να αξιοποιηθούν ανεξάρτητα, ή και σε συνδυασμό με τεχνικές άλλων κλάδων της θαλάσσιας επιστήμης. Η διεπιστημονική αυτή προσέγγιση διαθέτει την ικανότητα να λειτουργεί συνδυαστικά, ώστε να υπάρχει επαλήθευση των δεδομένων και σφαιρική κατανόηση του αντικειμένου μελέτης. Παρακάτω αναφέρονται ενδιαφέροντα παραδείγματα της διεπιστημονικής προσέγγισης της ιχθυολογίας μέσω μοριακών τεχνικών.

Θεμελιώδης για την κατανόηση της σχέσης των οργανισμών με το περιβάλλον τους είναι η αλληλεπικάλυψη γενετικών δεδομένων με αυτά της φυσικής, χημικής και βιολογικής ωκεανογραφίας. Οι Sandoval-Huerta et al. (2019) μελέτησαν το πώς συνδέονται οι διαταραχές οικοτόπων, διαβαθμίσεις θερμοκρασίας, τα ρεύματα των ωκεανών, οι μηχανισμοί ανάβλυσής και τα ιστορικά γεωλογικά γεγονότα με την εξελικτική πορεία του γωβιού *Elacatinus puncticulatus* βασισμένοι στην φυλογενετική ανάλυση αλληλουχιών του μιτοχονδριακού γονιδίου Cytochrome *b*, την πυρηνική ροδοψίνη και το πρώτο ιντρόνιο του γονιδίου της ριβοσομικής πρωτεΐνης S7. Άξια αναφοράς είναι και η μελέτη των Schultz et al. (2008) πάνω στην φυλογεωγραφία των καρχαριών του γένους *Negaprion* σε παγκόσμιο επίπεδο, όπου συνδυάζονται γενετικά δεδομένα ανάλυσης μικροδορυφόρων και της περιοχής ελέγχου (D-Loop) του μιτοχονδρίου με γεωγραφικές και ωκεανογραφικές παραμέτρους. Η μελέτη των Human et al. (2005) τονίζει την σημασία του συνδυασμού μορφολογικών μετρήσεων με μοριακά δεδομένα για την συγκεκριμενοποίηση ταξινομικών σχέσεων. Συγκεκριμένα, διασταυρώθηκαν οι μορφολογικές μετρήσεις του Compagno (1988) με μοριακά δεδομένα προερχόμενα από τρία μιτοχονδριακά γονίδια (cytochrome *b*, NADH-2, NADH-4) ώστε να επανεξεταστούν μορφολογικά βασισμένες φυλογενετικές θεωρίες για τους χονδριχθύες, εστιάζοντας στις αλληλεξαρτήσεις μεταξύ της οικογένειας *Scyliorhinidae*.

1.1.3. Οι εφαρμογές των μοριακών τεχνικών στην ιχθυολογία

Η ταυτοποίηση είδους αποτελεί μια από τις πιο κοινές εφαρμογές των μοριακών τεχνικών στην ιχθυολογία. Λόγω της διαθεσιμότητας ποικιλίας αξιόπιστων τεχνικών, από χαμηλού κόστους ταχείες μεθόδους μέχρι εξειδικευμένες τεχνικές νέας γενιάς, χρησιμοποιούνται ευρέως για επιστημονικούς αλλά και εμπορικούς σκοπούς. Παραδοσιακά, η ταυτοποίηση είδους εξαρτιόταν από εξωτερικές μορφολογικές παρατηρήσεις όπως χρωματισμοί, σχήμα σώματος, αριθμός και σχήμα λεπιών, μετρήσεις πτερυγίων και μετρήσεις οτόλιθων. Οι τεχνικές αυτές όμως υφίστανται σημαντικούς περιορισμούς σε περιπτώσεις νεαρών ατόμων, μορφολογικά όμοιων ειδών και δειγμάτων σε κακή κατάσταση (αρχαιολογικά δείγματα, δείγματα σε προχωρημένη σήψη). Πλέον, μέσω των μοριακών τεχνικών δίνεται η δυνατότητα επιλογής του μέσου ταυτοποίησης του είδους προέλευσης ενός ιστού, από κλασσικές μεθόδους όπως multiplex PCR, χαρακτηριστικό παράδειγμα η χρήση της από τους Mendonça et al. (2010) για την μοριακή ταυτοποίηση ατόμων από εννέα είδη καρχαριών των οικονομικά σημαντικών οικογενειών *Lamnidae* και *Carcharhinidae*, μέχρι της χρήσης της τεχνολογίας του aDNA για αρχαιολογικά δείγματα με υποβιβασμένο γενετικό υλικό, για παράδειγμα η μέσω aDNA ταυτοποίησης αρχαιολογικών δειγμάτων οξύρυγχου της Ιβηρικής χερσονήσου από τους Ludwig et al. (2009). Άρα οι μοριακές τεχνικές μπορούν να αξιοποιηθούν συνδυαστικά με παραδοσιακές μεθόδους, καθώς και ανεξάρτητα.

Ενδιαφέρουσα είναι η δυνατότητα διερεύνησης των τροφικών σχέσεων μέσω των τεχνικών

μοριακής ταυτοποίησης. Βασικό στοιχείο των οικολογικών ερευνών είναι η κατανόηση των τροφικών σχέσεων και η αλληλεπιδράσεις θύτη-θηράματος εντός ενός οικοσυστήματος. Όμως, ο ακριβής προσδιορισμός των διατροφικών συνηθειών ενός οργανισμού στα πλαίσια του συχνά περίπλοκου τροφικού πλέγματος είναι δύσκολος όταν βασίζεται κανείς μόνο σε μεθόδους όπως η ανάλυση περιεχομένων στομάχου ή κοπράνων. Αναφέρεται η έρευνα των Deagle et al. (2005), όπου σε θαλάσσιους ελέφαντες του είδους *Eumetopias jubatus* σε συνθήκες αιχμαλωσίας χορηγήθηκε ελεγχόμενη διατροφή. Τα είδη από τα οποία απαρτίζονταν η χορηγημένη διατροφή ανιχνεύτηκαν με επιτυχία μέσω της μοριακής ανάλυσης των κοπράνων.

Υψιστης σημασίας είναι η χρήση της μοριακής ταυτοποίησης στην αγορά αλιευτικών προϊόντων. Ευρέως διαδεδομένες είναι οι περιπτώσεις όπου αλιευτικά προϊόντα αντικαθιστούνται με άλλα χαμηλότερης αξίας, ή και προστατευόμενα είδη. Η αναγνώριση είδους καθίσταται αδύνατη όταν τα αλιεύματα πωλούνται σε φιλέτα ή υφίστανται επεξεργασία π.χ. κονσερβοποίηση. Παράδειγμα της δυνατότητας χρήσης της μοριακής ταυτοποίησης στο εμπόριο είναι η επιτυχημένη ταυτοποίηση είδους σε δείγματα κονσερβοποιημένου τόνου μέσω PCR-RFLP από τους Lin & Hwang (2007). Τα τοννοειδή αποτελούν είδη μεγάλης εμπορικής αξίας, με πιθανές συνέπειες στην υγεία του καταναλωτή λόγω της διαφοροποίησης των συγκεντρώσεων τοξικών συστατικών όπως ισταμίνη και υδράργυρος στο εκάστοτε είδος που περιέχει το τελικό προϊόν. Ιδιαίτερη είναι η περίπτωση των καρχαριών όπου ανθρωπογενής παράγοντες όπως η υπεραλίευση και η ρύπανση έχουν επιφέρει μείωση του πληθυσμού τους σε παγκόσμιο επίπεδο. Πλέον, ένα τέταρτο των χονριχθών έχουν καταγραφεί ως απειλούμενα σύμφωνα με τον κατάλογο IUCN Red List 2014, www.iucn.org. Παρατηρείται υψηλή ζήτηση των πτερυγίων των καρχαριών στην Κινέζικη αγορά, και επακολουθεί άνθιση του παράνομου εμπορίου προστατευόμενων ειδών. Επίσης, στα αλιευτικά σκάφη κυριαρχεί η συνήθεια του να αφαιρούνται τα διαγνωστικά μέλη (κεφάλι, πτερύγια) από το προς πώληση σώμα, ή να αφαιρούνται τα προς πώληση πτερύγια, και το σώμα να απορρίπτεται στη θάλασσα. Στις ιχθυαγορές οι καρχαρίες πωλούνται συνήθως σε φιλέτα ή τεμαχισμένοι, υπό ονομασίες που καθιστούν την αναγνώριση είδους αδύνατη. Χαρακτηριστικό παράδειγμα η περίπτωση της Ελλάδας, όπου ως γαλέος πωλείται οποιοδήποτε είδος καρχαρία, προστατευόμενο ή μη. Λόγω των παραπάνω οι αρμόδιες αρχές δυσκολεύονται να εφαρμόσουν τις εκάστοτε νομοθεσίες περί προστασίας και εμπορίου των καρχαριών, καθώς και οι καταναλωτές συχνά δεν γνωρίζουν το είδος το οποίο αγοράζουν. Οι μοριακές μέθοδοι θα μπορούσαν να αποτελέσουν σημαντικό εργαλείο στα χέρια των αρμόδιων αρχών, καθώς και υπάρχει πληθώρα τεχνογνωσίας όπως του Hoelzel (2001) και O' Bryhim (2017), οι οποίες λαμβάνουν υπ' όψη τους τις ανάγκες του συγκεκριμένου τομέα για ταχείες, χαμηλού κόστους και κατάλληλες για συνθήκες πεδίου τεχνικές.

Επιπλέον αναφέρεται η χρήση της μοριακής ταυτοποίησης για τον εντοπισμό επικίνδυνων ειδών όπως ιχθύες των οικογενειών *Tetraodontidae*, *Molinidae*, *Diodontidae* και *Canthigasteridae* (για παράδειγμα η εργασία των Hsieh & Hwang (2004) για την χρήση της τεχνικής PCR-RFLP για την αναγνώριση ειδών των *Lagocephalus spp.* και *Takifugu spp.* στα Ταϊβανέζικα ύδατα), καθώς και αλιευτικά προϊόντα που περιέχουν βιοτοξίνες.

Ο κλάδος της ταξινομικής, δηλαδή η επιστήμη του να χαρακτηρίζονται και να ονομάζονται οι βιολογικές ομάδες των οργανισμών με βάση τα κοινά τους χαρακτηριστικά, αποτελεί εργαλείο για την κατανόηση της βιοποικιλότητας του θαλάσσιου περιβάλλοντος και της δημιουργίας της κατάλληλης νομοθεσίας για την προστασία απειλούμενων ειδών. Βασίζεται στην αναγνώριση και χαρακτηρισμό των διαφορετικών ειδών μέσω των εξωτερικών τους μορφολογικών χαρακτηριστικών. Πλέον οι μοριακές τεχνικές διευκολύνουν το έργο της ταξινομικής λειτουργώντας συμπληρωματικά με τις παραδοσιακές μεθόδους, αλλά και μέσω του κλάδου της φυλογενετικής εμβαθύνουν στις εξελικτικές σχέσεις μεταξύ των ειδών. Ιδιαίτερα χρήσιμες έχουν αποδειχτεί οι μοριακές τεχνικές σε περιπτώσεις μορφολογικά ομοίων ειδών που δεν μπορούν να ξεχωριστούν από εξωτερικές παρατηρήσεις, φυλετικού διμορφισμού και κρυπτικών ειδών. Αναφέρονται ως παραδείγματα η μελέτη των Byrkjedal et al. (2007) όπου μέσω μοριακών δεικτών αποδείχτηκε ότι τα προηγουμένως χαρακτηρισμένα ως δυο ξεχωριστά είδη *Eumicrotremus spinosus* και *Eumicrotremus eggvinii* αποτελούν ένα φυλετικά διμορφικό είδος, την χρήση ενός πυρηνικού και τεσσάρων μιτοχονδριακών γονιδίων για την φυλογενετική ανάλυση 229 ειδών

καρχαρία από τους Vélez-Zuazo & Agnarsson (2011), και την εργασία των Quattro et al. (2006) όπου μέσω δυο μιτοχονδριακών γονιδίων (CR, COI) και ενός γονιδίου του πυρήνα (LDHA6) αποδείχτηκε η ύπαρξη κρυπτικού είδους εντός του γένους *Sphyrna* στον δυτικό νότιο Ατλαντικό.

Δυστυχώς, οι μη βιώσιμες αλιευτικές πρακτικές είναι ευρέως διαδεδομένες. Σε αυτές συμπεριλαμβάνονται η λανθασμένη εκτίμηση άρα και διαχείριση των διαθέσιμων αλιευτικών πόρων, τα υψηλά ποσοστά παρεμπιπτόντων αλιευμάτων, η χρήση αλιευτικού εξοπλισμού με υψηλό περιβαλλοντικό κόστος και η απώλεια κατάλληλης νομοθεσίας. Η επιστήμη καλείται να ενισχύσει την διαχείριση αλιευτικών πόρων, παρέχοντας τα απαραίτητα επιστημονικά δεδομένα για την υποστήριξη της εφαρμογής ορθών αλιευτικών νομοθεσιών και πρακτικών. Οι μοριακές τεχνικές, με την ολοένα αυξανόμενη διαθεσιμότητα ποικίλων μεθόδων υψηλής τεχνολογίας, αποτελούν πολλά υποσχόμενο εργαλείο του συγκεκριμένου τομέα. Η δυνατότητα της ταχείας μοριακής ταυτοποίησης αλιευμάτων αποδεικνύεται στην εργασία των Caballero et al. (2012), όπου εφαρμόστηκε η μέθοδος της multiplex PCR σε δείγματα από ιχθυόσκαλες, καθώς και δείγματα προερχόμενα από παράνομη αλιεία σε προστατευμένη περιοχή. Αυτή η τεχνική αποτελεί μια εκ πολλών που έχουν την ιδιότητα της γρήγορης αναγνώρισης αλιευμάτων και μπορεί να χρησιμοποιηθεί από τις εκάστοτε αρχές για την εφαρμογή της υπάρχουσας νομοθεσίας, τον έλεγχο των παρεμπιπτόντων αλιευμάτων και την νομιμότητα ή μη των αλιευτικών προϊόντων. Τονίζεται ότι η επιστήμη θα πρέπει να λαμβάνει υπ' όψη τις τις κοινωνικές συνθήκες μιας περιοχής. Στον τομέα της αλιείας και του εμπορίου αλιευτικών προϊόντων, ιδιαίτερα σε οικονομικά υποανάπτυκτες χώρες, οι παράνομες πρακτικές συχνά οφείλονται σε άγνοια, ή και σε δύσκολες οικονομικές συνθήκες. Άρα η εφαρμογή των επιστημονικών μεθόδων θα πρέπει να συνδυάζεται πάντα με κοινωνικές πρακτικές, όπως επιμορφωτικά προγράμματα και προγράμματα εύρεσης εναλλακτικής απασχόλησης για τις κοινότητες που αφορούν.

Σημαντική είναι η χρήση των μοριακών τεχνικών για την κατανόηση της γενετικής δομής ενός πληθυσμού. Ιδανικά, η διαχείριση αλιευτικών πόρων θα ήταν εξειδικευμένη για το κάθε είδος, με πρακτικές βασισμένες στα δημογραφικά και βιολογικά του χαρακτηριστικά. Επιπλέον, άτομα του ίδιου είδους συχνά παρατηρείται να σχηματίζουν ξεχωριστούς πληθυσμούς, με διαφορετική συμπεριφορά και συνήθειες. Όλα αυτά τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά μπορούν να αναγνωριστούν μέσω της μεταξύ τους γενετικής δομής. Παράδειγμα της επί αυτού εφαρμογής των μοριακών τεχνικών είναι η εργασία των Ovenden et al. (2011) πάνω στην γενετική πληθυσμιακή δομή των ειδών *Rhizoprionodon actus* και *Sphyrna lewini* σε τοπικό επίπεδο, με σκοπό τον εντοπισμό της ύπαρξης ή μη πληθυσμιακής ομοιογένειας στην οποία βασίζονται οι τοπικές νομοθεσίες περί διαχείρισης. Οι βασισμένες σε γενετικά δεδομένα αναλύσεις αποδεικνύουν το πόσο ακόμα άγνωστο είναι για τον άνθρωπο το θαλάσσιο περιβάλλον. Οι μελέτες των Morgan et al. (2012) και Ovenden et al. (2010) πάνω στα συγγενικά και μορφολογικά όμοια είδη *Carcharinus tilstoni* και *Carcharinus limbatus* αποκάλυψαν την ύπαρξη φαινομένων υβριδοποίησης, καθώς και μέχρι πρότινος αγνώστων χαρακτηριστικών γεωγραφικής εξάπλωσης. Οι ανακαλύψεις αυτές αλλάζουν τα δεδομένα πάνω στα οποία είναι βασισμένες οι υπάρχουσες πρακτικές διαχείρισης, οι οποίες καλούνται να αναθεωρηθούν.

Οι διαθέσιμες νέες τεχνολογίες του τομέα της μοριακής βιολογίας προσφέρουν τη δυνατότητα βελτιστοποίησης των υπάρχουσων επιστημονικών μεθόδων. Χαρακτηριστικά, η εφαρμογή της τεχνολογίας του eDNA σε υδάτινα περιβάλλοντα μπορεί να εντοπίσει με ακρίβεια την υπάρχουσα βιοποικιλότητα, χωρίς να επιβαρύνει επιπλέον το οικοσύστημα αφαιρώντας άτομα από αυτό, και μειώνοντας το κόστος των υλικοτεχνικών υποδομών (για παράδειγμα το μικρότερο κόστος εξοπλισμού δειγματοληψίας νερού έναντι δειγματοληπτικής τράτας). Η χρησιμότητα του eDNA στην διαχείριση και προστασία του υδάτινου περιβάλλοντος αποδεικνύεται από τους Minamoto et al. (2012) όπου ταυτοποιήθηκε με επιτυχία η βιοποικιλότητα μέσω δειγμάτων νερού, σε συνθήκες εργαστηρίου και φυσικού περιβάλλοντος. Σύμφωνα με τους Speller et al. (2012), οι οποίοι βασίστηκαν στην θεωρία της ιστορικής ύπαρξης περισσότερων και γενετικά πιο ποικιλόμορφων πληθυσμών του είδους *Clupea pallasii* συγκριτικά με τους σημερινούς, η τεχνολογία του aDNA μπορεί να συμβάλει στην κατανόηση των μεταβολών στην γενετική δομή ενός είδους ανά μεγάλες χρονικές περιόδους. Η δυνατότητα παραγωγής δεδομένων για την σύγκριση της γενετικής δομής

ανά ιστορική περίοδο και αλληλένδετη ανθρώπινη δραστηριότητα καθιστά το aDNA σημαντική τεχνική για τη δημιουργία μιας ολοκληρωμένης εικόνας της κατάστασης που πρέπει να αντιμετωπίσει ο κλάδος της διαχείρισης και προστασίας αλιευτικών πόρων.

Ανθρωπογενής παράγοντες όπως η κλιματική αλλαγή και η αυξημένη αλιευτική δραστηριότητα έχουν την ικανότητα να επηρεάζουν την γενετική ποικιλομορφία ενός είδους ή πληθυσμού. Ενώ πολλά από τα αποτελέσματα αυτών των επιρροών δεν είναι ακόμα εμφανή, στο μέλλον η επιστήμη θα χρειαστεί να αντιμετωπίσει ένα αλλαγμένο οικοσύστημα. Σύμφωνα με τους Munday et al. (2013), οι μοριακές τεχνικές έχουν την δυνατότητα να ανιχνεύσουν μοριακές αλλαγές μεταξύ γενιών, να ταυτοποιήσουν την γονιδιακή έκφραση υπό διαφορετικές συνθήκες, καθώς και τα μοριακά μονοπάτια που ευθύνονται για την γονιδιακή έκφραση. Συνεπώς δίνεται η δυνατότητα μελέτης των γενετικών μεταβολών και των επί μέρους χαρακτηριστικών τους μέσα στον χρόνο, καθώς και η πρόβλεψη της μελλοντικής οικοσυστημικής κατάστασης.

Η κλιματική αλλαγή έχει ήδη επιβάλλει την ανάγκη προσαρμογής των θαλάσσιων οργανισμών σε ολοένα και ταχύτερα μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες. Η επιβίωση σε συνθήκες αυξημένης θερμοκρασίας, χαμηλότερου οξυγόνου και αυξημένης οξύτητας που θα επιφέρει η κλιματική αλλαγή θα επιδράσει σε γενετικό και φαινοτυπικό επίπεδο, προκαλώντας αλλαγές σε μορφολογικά και συμπεριφορικά χαρακτηριστικά των ιχθύων. Το μέγεθος, ο χρωματισμός, το μέγεθος κατά την ωρίμανση, η ηλικία ωρίμανσης και οι ρυθμοί μετανάστευσης είναι υποψήφια για αλλαγές λόγω γενετικής προσαρμογής. Αναφέρεται η έρευνα των Kovach et al. (2012) που αποδεικνύει ότι η γενετική επιλογή ευθύνεται για την νωρίτερο χρονισμό μετανάστευσης στον σολωμό.

Σύμφωνα με την έρευνα των Jakobsdóttir et al. (2011), υπάρχουν αποδείξεις ότι οι συνεχείς αλιευτικές πιέσεις επιδρούν επιλεκτικά στην γονιδιακή συχνότητα. Η επιλεκτικότητα του αλιευτικού εξοπλισμού ευνοεί την επιβίωση συγκεκριμένων γενετικά βασισμένων χαρακτηριστικών σε ατομικό επίπεδο, όπως μικρότερο μέγεθος (λόγω συγκεκριμένων διαστάσεων στα δίχτυα) και λιγότερο θαρραλέα συμπεριφορά (πιθανότητα κατάποσης δολώματος), καθώς και σε πληθυσμιακό επίπεδο, όπως η άσκηση μεγαλύτερης αλιευτικής πίεσης σε πληθυσμούς που συναντώνται σε ρηχά παράκτια περιβάλλοντα συγκριτικά με πληθυσμούς που ζουν σε πιο βαθιά νερά. Η έκταση της επιρροής της αλιείας στο γενετικό απόθεμα των οικονομικά σημαντικών ειδών ιχθύων δεν έχει πλήρως κατανοηθεί. Ενώ αποτελεί αντικείμενο μεγάλου ερευνητικού ενδιαφέροντος, δεν υπάρχουν ακόμα αρκετά δεδομένα για την προβλεπόμενη μελλοντική κατάσταση, τους χρόνους επανάκαμψης ενός πληθυσμού μετά την παύση ή μείωση της αλιείας, καθώς και προτάσεις για περιβαλλοντικές και οικονομικά βιώσιμες αλιευτικές πρακτικές.

1.2. Το DNA Barcoding ως εργαλείο για την ταυτοποίηση είδους και το γονίδιο COI

Σύμφωνα με τους Hebert et al. (2003) ως DNA Barcoding ορίζεται η διάκριση ατόμων ενός είδους μέσω μιας σύντομης, τυποποιημένης αλληλουχίας, λόγω του ότι η γενετική ποικιλομορφία μεταξύ διαφορετικών ειδών είναι μεγαλύτερη από ότι μεταξύ του ίδιου είδους. Συνεπώς προτάθηκε από τους ίδιους η καθιέρωση ενός τυποποιημένου συστήματος για όλους τους ζωντανούς οργανισμούς, η οποία να βασίζεται σε μια μοναδική αλληλουχία, ένα τμήμα 648 ζεύγη βάσεων του μιτοχondριακού γονιδίου της υπομονάδας I της οξειδάσης του κυτοχρώματος c (cytochrome c oxidase subunit I – COI).

Η οξειδάση του κυτοχρώματος c (cytochrome c oxidase) αποτελεί το τερματικό τμήμα των αλυσίδων μεταφοράς ηλεκτρονίων στο μιτοχόνδριο και θεωρείται βασικό ένζυμο του αναερόβιου μεταβολισμού, όπου οι αντλίες πρωτονίων αίμης-χαλκού αποτελούν τα τερματικά ένζυμα μεταφοράς ενέργειας των αναπνευστικών αλυσίδων. Αποτελεί μηχανισμό μείωσης διοξειδίου, αντλία πρωτονίων συνδεδεμένη με την οξειδοαναγωγή και συντελεί στην σύνθεση του ATP. Το COI, η υπομονάδα I της οξειδάσης του κυτοχρώματος c (cytochrome c oxidase subunit I) είναι η μεγαλύτερη υπομονάδα του συμπλέγματος και συσχετίζεται με το δινουκλεϊκό κέντρο *Cub-heme a3*, συμμετέχοντας στην σύζευξη της μείωσης του υδροξειδίου με την αντλία πρωτονίων. Επιπλέον, εντός του COI παρατηρούνται ένα διμεταλλικό κέντρο και μια αίμη χαμηλής περιστροφής

συνδεδεμένα σε έξι συντηρημένα κατάλοιπα ιστιδίνης κοντά στο εξωτερικό τεσσάρων διαμεμβανικών διαστημάτων.

Το γονίδιο COI χρησιμοποιείται συχνά στην ταυτοποίηση είδους λόγω της υψηλής συχνότητας μετάλλαξης του που καθιστά δυνατή την διάκριση μεταξύ συγγενικών ειδών. Επίσης, η αλληλουχία του είναι συντηρημένη μεταξύ ατόμων του ίδιου είδους, ενώ παρατηρείται διαφοροποίηση άνω του 2% μεταξύ συγγενικών ειδών. Ως περιοχή κωδικοποίησης πρωτεϊνών, η αλληλούχηση της περιοχής COI είναι απλή και χωρίς κενά όταν απουσιάζουν τα ιντρόνια. Μέσω εκκινητών (*primers*) που ενισχύουν την άκρη 5', συνήθως πραγματοποιείται η ταυτοποίηση είδους μέσω αλληλουχιών περίπου 650 bp.

Η μέθοδος του DNA Barcoding έχει εφαρμοστεί για μεγάλο φάσμα οργανισμών, από φυτά, ιχθύες, πτηνά και θηλαστικά, μέχρι πρώτιστα, μύκητες και βακτήρια. Καθώς η τεχνική αυτή έχει χρησιμοποιηθεί από πλήθος επιστημόνων υπάρχουν διαφωνίες για το ποιο γονίδιο είναι το πλέον κατάλληλο να καθιερωθεί στη επιστημονική μεθοδολογία. Επίσης έχει εκφραστεί αβεβαιότητα για το αν ένα γονίδιο είναι αρκετό για την διάκριση μεταξύ συγγενικών ειδών, αλλά και για το πόσο θα πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψη τα γενετικά δεδομένα στον τομέα της ταξινομικής. Όπως όλοι οι τομείς της επιστήμης, έτσι και οι τεχνικές του DNA Barcoding παραμένουν υπό συνεχή έρευνα και συζήτηση. Το γονίδιο COI μέχρι και σήμερα χρησιμοποιείται ευρέως για την ταυτοποίηση είδους για τα περισσότερα έμβια είδη και αποτελεί χρήσιμο εργαλείο στην αντιστοιχία αλληλουχιών δειγμάτων με αλληλουχίες αναφοράς μέσω εργαλείων αναζήτησης ομοιότητας ακολουθίας DNA, λόγω της αφθονίας των δεδομένων αναφοράς. Αποτελεί κύριο γονίδιο στόχευσης για πλήθος ιχθυολογικών ερευνών, όπως φαίνεται από την αποτελεσματικότητα εφαρμογής του στην εργασία των Ward et al. (2005).

1.3. Τα χαρακτηριστικά της Ανατολικής Μεσογείου

Σύμφωνα με τους Coll et al. (2010) τα ωκεανογραφικά χαρακτηριστικά της Μεσογείου Θάλασσας αποτελούν βασικό παράγοντα που καθορίζει την βιοποικιλότητά της. Η λεκάνη της Μεσογείου θεωρείται μεγάλου μεγέθους έγκλειστη, άρα και ευάλωτη στην περιβαλλοντική ρύπανση, θάλασσα με επιφάνεια 2969000 km², μέσο βάθος 1460m και μέγιστο βάθος 5267m. Ενώνεται δυτικά με τον Ατλαντικό Ωκεανό μέσω του Στενού του Γιβραλτάρ και μέσω των Στενών των Δαρδανελίων (Ελλάσποντος) με τη Θάλασσα του Μαρμαρά και τη Μαύρη Θάλασσα βορειοανατολικά. Επίσης στα νοτιοανατολικά ενώνεται με την Ερυθρά Θάλασσα και τον Ινδικό Ωκεανό μέσω της διώρυγας του Σουέζ.

Το γεωγραφικό σημείο αναφοράς του διαχωρισμού Ανατολικής και Δυτικής Μεσογείου θεωρείται το Στενό της Σικελίας όπου μια ρηχή κορυφογραμμή στα 400m διαχωρίζει το νησί της Σικελίας με την ακτή της Τυνησίας. Η επιφάνεια των δύο υποπεριοχών είναι 0.85 εκατομμύρια km² για την Δυτική Μεσόγειο και 1.65 εκατομμύρια km² για την Ανατολική Μεσόγειο.

Η Μεσόγειος αποτελεί λεκάνη συγκέντρωσης όπου η εξάτμιση είναι υψηλότερη στο ανατολικό κομμάτι της, προκαλώντας μείωση της στάθμης του νερού και αύξηση της αλατότητας από τα δυτικά στα ανατολικά. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα μια βαθμίδα πίεσης η οποία κατευθύνει σχετικά χαμηλής θερμοκρασίας και αλατότητας νερό προερχόμενο από τον Ατλαντικό Ωκεανό κατά μήκους της λεκάνης της Μεσογείου. Το νερό αυτό σταδιακά θερμαίνεται καθώς κατευθύνεται προς τα ανατολικά, όπου αυξάνεται η αλατότητά του και βυθίζεται στην Λεβαντινή Θάλασσα. Έπειτα, ανακυκλοφορεί δυτικά με έξοδο να πραγματοποιείται μέσω του Στενού του Γιβραλτάρ. Όσο αφορά το κλίμα, η περιοχή χαρακτηρίζεται από ζεστά, ξηρά καλοκαίρια και κρύους χειμώνες με υψηλή υγρασία. Η ετήσια επιφανειακή θερμοκρασία της θάλασσας δείχνει υψηλή εποχικότητα και σημαντική διαβάθμιση από δυτικά προς τα ανατολικά, καθώς και από τα βόρεια στα νότια. Ενώ η λεκάνη θεωρείται κατά γενικό κανόνα oligotroφική, οι παράκτιες περιοχές επηρεάζονται από κατά τόπους διαφοροποιήσεις όπως διαφορετικές συνθήκες ανέμων, χρονικά εναλλασσόμενα θερμοκλινή, θαλάσσια ρεύματα, απορροές ποταμών και αστικά λύματα. Επιπλέον, η Ανατολική Μεσόγειος θεωρείται πιο oligotroφική από την Δυτική. Η βιολογική παραγωγή ελαττώνεται από τα βόρεια προς τα νότια και από τα δυτικά προς τα ανατολικά, κυρίως λόγω της αύξησης

θερμοκρασίας και αλατότητας. Η Μεσόγειος διαθέτει στενή ηπειρωτική υφαλοκρηπίδα και μεγάλη έκταση ανοιχτής θάλασσας, άρα σημαντικό κομμάτι της θεωρείται βαθέα ύδατα. Ιδιαίτερα στοιχεία της αποτελούν η υψηλή ομοθερμία από τα 300–500 m μέχρι τον πυθμένα όπου η θερμοκρασία κυμαίνεται από 13.5°C–15.5°C στην ανατολική λεκάνη και υψηλή αλατότητα που κυμαίνεται μεταξύ 37.5–39.5 psu. Επιπλέον τα βαθέα ύδατα της Μεσογείου δεν διαθέτουν θερμοκρασιακή διαστρωμάτωση. Η υδάτινη περιοχή της υφαλοκρηπίδας αποτελεί 20% των συνολικών υδάτων της Μεσογείου, όπου οι νότιες υφαλοκρηπίδες είναι κυρίως στενές και απότομες και οι βόρειες πιο φαρδιές.

Τα παραπάνω χαρακτηριστικά αποτελούν τον κύριο παράγοντα μορφοποίησης της βιοποικιλότητας της Μεσογείου, όπου παρατηρείται σημαντική ωκεανογραφική και περιβαλλοντική διαφοροποίηση μεταξύ Ανατολικού και Δυτικού τμήματος. Συνεπώς, η Ανατολική Μεσόγειος διαθέτει τα δικά της ξεχωριστά χαρακτηριστικά, με την ανάλογη βιοποικιλότητα προσαρμοσμένη να διαβιεί σε αυτή. Τη σημερινή εποχή όμως αναμένεται ότι οι υπάρχουσες συνθήκες θα υποστούν ριζικές μεταβολές, καθώς η αλιευτικές πιέσεις, οι περιβαλλοντικές καταστροφές, η ρύπανση, η κλιματική αλλαγή, ο ευτροφισμός και τα ξενικά είδη θα αλλάξουν τα υπάρχοντα δεδομένα.

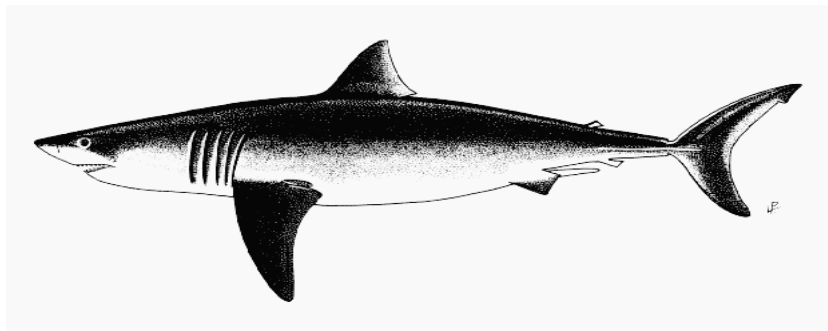
1.4. Οι Ελασμοβράγχιοι ιχθείς της Ανατολικής Μεσογείου

Στη Μεσόγειο Θάλασσα συναντώνται 79 είδη ελασμοβράγχιων ιχθύων, συγκεκριμένα 45 είδη καρχαριών από 17 οικογένειες και 34 είδη σαλαχιών από 9 οικογένειες, (Cavanagh et al. 2007). Οι προαναφερθέντες συγγραφείς επίσης αναφέρουν ότι από τα 79 αυτά είδη τα 70 είναι κοινά, ενώ τα 9 σπανιότερα. Για παράδειγμα το είδος *Carcharhinus falciformis* αποτελεί περιστασιακό επισκέπτη από τον Ατλαντικό Ωκεανό και το είδος *Carcharhinus melanopterus* ξενικό είδος το οποίο εισέρχεται στην Μεσόγειο από την Ερυθρά Θάλασσα μέσω της διώρυγας του Σουέζ. Επιπλέον, δεν παρατηρείται υψηλός ενδημισμός στη Μεσόγειο με μόνο 4 είδη σαλαχιών (*Leucoraja melitensis*, *Raja polystigma*, *Raja Radula*, *Mobula mobular*) να θεωρούνται ενδημικά (Serena et al. 2005). Η κατανομή των ελασμοβράγχιων ιχθύων δεν είναι ομογενής λόγω των σημαντικών περιβαλλοντικών και ωκεανογραφικών συνθηκών που χαρακτηρίζουν τη Μεσόγειο, με εμφανείς διαφορές μεταξύ ανατολής και δύσης. Επίσης, έχουν καταγραφεί περιοχές που καθιστούν χαρακτηριστικούς βióτοπους για ορισμένα είδη. Αναφέρονται συγκεκριμένα παραδείγματα για την Ανατολική Μεσόγειο, όπως οι τοπικοί πυκνοί πληθυσμοί του είδους *Cetorhinus maximus* στην βόρεια Αδριατική Θάλασσα, οι τόποι διαβίωσης νεαρών ατόμων του είδους *Carcharodon carcharias* στα ύδατα την Τυνησίας και το περιορισμένο εύρος του είδους *Odontaspis ferox* το οποίο φαίνεται να προτιμά συγκεκριμένη περιοχή διαβίωσης στα ύδατα του Λίβανου.

Ενώ ιστορικά η Μεσόγειος ήταν περιοχή με υψηλή πυκνότητα ελασμοβράγχιων ιχθύων πλέον 53–71% των ελασμοβράγχιων της απειλούνται με εξαφάνιση. Πλήθος παραγόντων έχουν επηρεάσει την πτώση των πληθυσμών τους. Η αυξημένη πυκνότητα ανθρώπινου πληθυσμού κατά μήκος των ακτών, τα υψηλά ποσοστά τουρισμού, οι αυξημένες αλιευτικές πιέσεις, η ρύπανση και ο συνεχής υποβιβασμός του περιβάλλοντος αποτελούν κάποιους από τους ανθρωπογενείς παράγοντες που επηρεάζουν την κατάσταση των ελασμοβράγχιων της Μεσογείου. Οι παραπάνω δρουν σε συνδυασμό με γεωγραφικούς παράγοντες, όπως τον εγκλεισμό της Μεσογείου από τη στεριά, και βιολογικούς όπως τους αργούς ρυθμούς αναπαραγωγής των ελασμοβράγχιων. Πλέον, έχει παρατηρηθεί ότι η τοπική είναι χειρότερη από την παγκόσμια κατάσταση των διαφόρων ειδών όπου 1 στα 4 απειλούνται με εξαφάνιση σύμφωνα με την IUCN Red List, γεγονός ιδιαίτερα ανησυχητικό. Τον υψηλότερο κίνδυνο θεωρείται ότι διατρέχουν τα μεγάλου μεγέθους παράκτια είδη καθώς και τα είδη που διαβιούν σε περιοχές που δέχονται συνεχόμενη και αυξανόμενη αλιευτική πίεση.

Παρακάτω αναφέρονται τα κυριότερα είδη ελασμοβράγχιων της Ανατολικής Μεσογείου σύμφωνα με την βάση δεδομένων fishbase.org, τα βασικά βιολογικά τους χαρακτηριστικά και η κατάσταση στην οποία βρίσκονται οι πληθυσμοί τους σύμφωνα με την IUCN Red List.

1.4.1. *Carcharodon carcharias* - Λευκός καρχαρίας (Linnaeus, 1758)

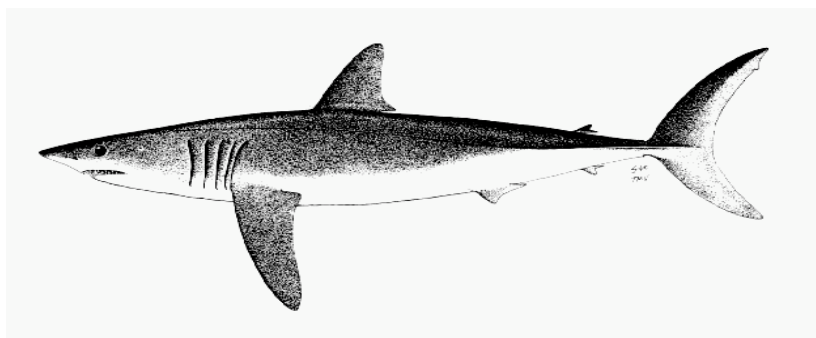


Εικόνα 1.1. *Carcharodon carcharias* - Compagno (1984a).

Ο λευκός καρχαρίας (Elasmobranchii > Lamniformes > Lamnidae), αποτελεί παράκτιο και υπεράκτιο κυρίως Ελασμοβράγχιο ιχθύ, ο οποίος διαβιεί στην ηπειρωτική και νησιώτικη υφαλοκρηπίδα από 0 έως 1200 m. Θεωρείται πελαγικό είδος, ικανό για μετανάστευση δια μήκους ωκεάνιων περιοχών. Το μέγιστο συνολικό μήκος του φτάνει τα 6.4 m TL ή και παραπάνω και η μέγιστη καταγεγραμμένη ηλικία τα 36 έτη. Κύρια χαρακτηριστικά του το μεγάλο του μέγεθος, στρογγυλό σώμα και οι εμφανής μαύροι οφθαλμοί. Διαθέτει αμβλύ, κωνικό ρύγχος και μεγάλα, τριγωνικά, πριονωτά δόντια. Το χρώμα της ράχης του είναι σκούρο γκρι, μαύρο ή καφέ άνω, ανοιχτόχρωμο στα πλάγια, με λευκή κοιλιά και μια μαύρη κηλίδα στη βάση του πίσω θωρακικού πτερυγίου. Ως σαρκοφάγο, κύριες πηγές τροφής του αποτελούν οστεϊχθύες, άλλα ελασμοβράγχια, θαλάσσια θηλαστικά και πτηνά, νεκρά ζώα, καλαμάρια, χταπόδια και καβούρια. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του είναι ωοζωοτόκο είδος, όπου το έμβρυο τρέφεται με τον λεκιθικό σάκο και άλλα ωάρια.

Θεωρείται ευάλωτο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2005.

1.4.2. *Isurus oxyrinchus* - Ρυγχοκαρχαρίας (Rafinesque, 1810)



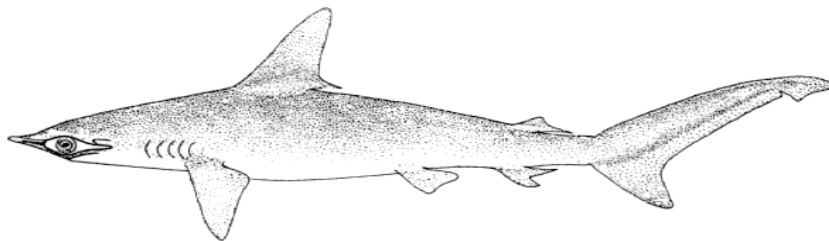
Εικόνα 1.2. *Isurus oxyrinchus* - Compagno (1984a).

Ο ρυγχοκαρχαρίας (Elasmobranchii > Lamniformes > Lamnidae) αποτελεί ωκεάνιο είδος το οποίο συναντάται και παράκτια. Παρατηρείται στη επιπελαγική ζώνη μεταξύ 1-500m. Το μεγάλο του μέγεθος, το στρογγυλεμένο του σώμα, οι μεγάλοι μαύροι οφθαλμοί του, το μυτερό του ρύγχος και τα λεπτά, αγκιστρωτά του δόντια με λείες άκρες αποτελούν κύρια χαρακτηριστικά του. Επιπλέον διαθέτει ημισεληνοειδής ουραίο πτερύγιο με έντονα ανεπτυγμένο κατώτερο λοβό, μικρά δευτερά ραχιαία και εδρικά πτερύγια. Η ράχη του είναι σκούρο μπλε, ενώ η κοιλιά λευκή. Η μεγαλύτερη καταγεγραμμένη ηλικία είναι τα 32 έτη και μέσο μήκος τα 270 cm TL. Χαρακτηρίζεται από εμφανή φυλετικά διαχωρισμένη πληθυσμιακή δομή. Τα ενήλικα άτομα τρέφονται με οστεϊχθύες και άλλα είδη καρχαριών, ενώ άτομα μεγαλύτερου μεγέθους τρέφονται και με μεγαλύτερα θηράματα όπως

ιστιοφόρους και μικρά κητοειδή. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του είναι ωοζωοτόκο είδος, όπου το έμβρυο τρέφεται με τον λεκιθικό σάκο και άλλα ωάρια. Ανά γέννα γεννιούνται 4-16 άτομα μήκους 60-70cm TL και η κύηση διαρκεί 15-18 μήνες, με κύκλο ωοτοκίας ανά 3 χρόνια. Επιπλέον, θεωρείται ο ταχύτερος καρχαρίας. Αναφέρεται η εμπορική αξία του ρυγχοκαρχαρία λόγω της αξιοποίησης του υψηλής ποιότητας κρέατος του σε νωπή, αποξηραμένη και κατεψυγμένη μορφή. Επιπλέον, παράγωγά του αποτελούν έλαια και εξαγόμενα πτερύγια για την αγορά σούπας πτερυγίου καρχαρία.

Θεωρείται σχεδόν απειλούμενο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2004.

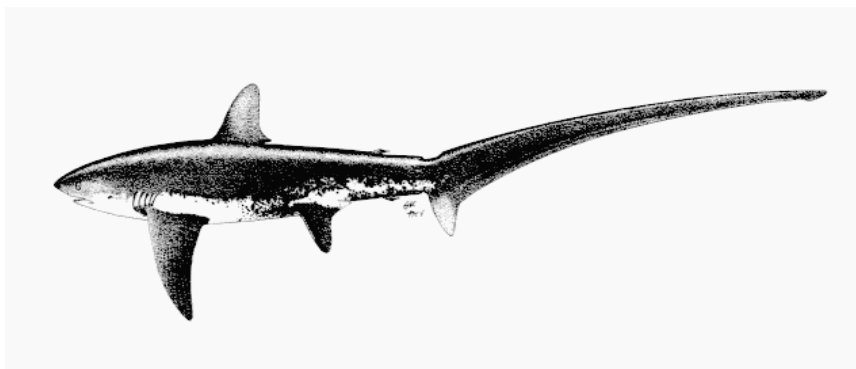
1.4.3. *Sphyrna zygaena* – Ζύγαινα (Linnaeus, 1758)



Εικόνα 1.3. *Sphyrna zygaena* – Compagno (1984b).

Η ζύγαινα (Elasmobranchii > Carcharhiniformes > Sphyrnidae) συναντάται παράκτια καθώς και υπεράκτια, κατά μήκους της ηπειρωτικής και νησιώτικης υφαλοκρηπίδας. Αποτελεί πελαγικό είδος, ζώντας σε βάθη από 1-139 m και παρατηρείται συχνά στον πυθμένα. Ως μεγαλόσωμος σφυροκέφαλος, χαρακτηρίζεται από μια εγκοπή στο κέντρο της κεφαλής του, σχετικά υψηλό πρώτο ραχιαίο πτερύγιο, χαμηλά δεύτερα ραχιαία και κοιλιακά πτερύγια. Ο χρωματισμός της ζύγαινας είναι λαδί-γκρί ραχιαία και λευκό κοιλιακά. Το σύννηθες της μέγεθος είναι 335 cm TL και η μέγιστη καταγεγραμμένη ηλικία 21 χρονών. Τρέφεται με άλλα ελασμοβράγχια, οστεϊχθύες, γαρίδες, καβούρια, βαλάνους και κεφαλόποδα. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του αποτελεί ζωοτόκο είδος. Θεωρείται ευάλωτο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2005.

1.4.4. *Alopias vulpinus* - Καρχαρίας αλεπού ή Αλεπόσκυλος (Bonnaterre, 1788)

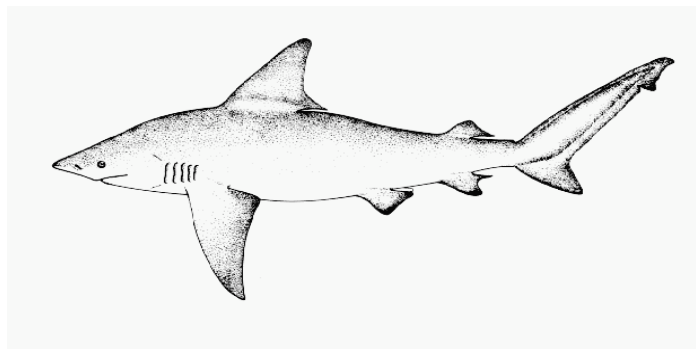


Εικόνα 1.4. *Alopias vulpinus* - Compagno (1984a).

Ο Αλεπόσκυλος (Elasmobranchii > Lamniformes > Alopiidae) συναντάται παράκτια κατά μήκους της ηπειρωτικής και νησιώτικης υφαλοκρηπίδας και επιπελαγικά μακριά από τη στεριά. Αποτελεί ωκεάνιο είδος αν και αφθονεί κυρίως κοντά στη στεριά, πελαγικά στα 1-366 m. Είναι μεγαλόσωμο είδος με σχετικά μικρούς οφθαλμούς που διαθέτει ουραίο πτερύγιο με στενή άκρη και εμφανές λευκό σημάδι πάνω από την βάση των θωρακικών πτερυγίων. Ο άνω λοβός του ουραίου πτερυγίου είναι ιδιαίτερα μακρύς, ίδιου μήκους με το σώμα του αλεπόσκυλου ή και μακρύτερος. Ο χρωματισμός του είναι καφέ, γκρι, μπλε-γκρι ή ελαφρώς μαύρο στη ράχη και πίσω από το ρύγχος, πιο ανοιχτόχρωμο στα πλαϊνά και λευκή κοιλιά. Μια λευκή περιοχή εκτείνεται από την κοιλιά μέχρι πάνω από την βάση των θωρακικών πτερυγίων. Το μήκος του κυμαίνεται γύρω στα 450 cm TL και η μέγιστη καταγεγραμμένη ηλικία είναι τα 25 έτη. Τρέφεται με ιχθύς που σχηματίζουν κοπάδια (για παράδειγμα σκουμπριά και κλουπεΐδες), καλαμάρια, χταπόδια, πελαγικά καρκινοειδή και σπάνια πτηνά. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του είναι ωοζωοτόκο είδος, όπου το έμβρυο τρέφεται με τον λεκιθικό σάκο και άλλα ωάρια.

Θεωρείται ευάλωτο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2007.

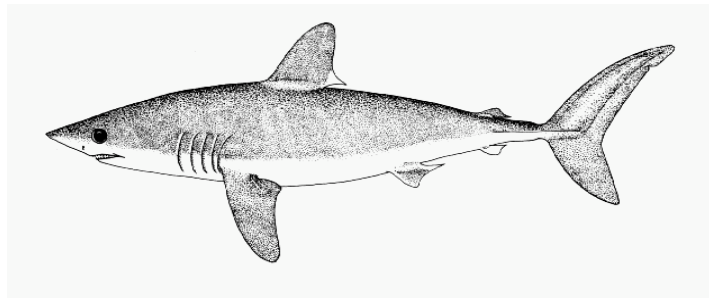
1.4.5. *Carcharhinus plumbeus* - Σταχτοκαρχαρίας (Nardo, 1827)



Εικόνα 1.5. *Carcharhinus plumbeus* - Compagno (1984b).

Ο σταχτοκαρχαρίας (Elasmobranchii > Carcharhiniformes > Charcharhinidae) συναντάται παράκτια και υπεράκτια, κατά μήκους της ηπειρωτικής και νησιώτικης υφαλοκρηπίδας και παρακείμενα βαθιά νερά. Αποτελεί πελαγικό είδος το οποίο παρατηρείται συχνά στον πυθμένα από 1-280 m. Περιστασιακά συναντάται σε ωκεάνια ύδατα. Έχει παρατηρηθεί εκτεταμένη εποχιακή μετανάστευση σε κάποιες περιοχές εξάπλωσης του είδους. Το σύνηθες μήκος του σταχτοκαρχαρία είναι γύρω στα 200 cm TL και η μεγαλύτερη καταγεγραμμένη ηλικία 34 χρόνια. Διαθέτει μετρίου μήκους στρογγυλεμένο ρύγχος και ψηλά τριγωνικά πριονωτά άνω δόντια. Επιπλέον, χαρακτηρίζεται από το υπερμέγεθες του πρώτο ραχιαίο πτερύγιο. Ο χρωματισμός του είναι γκριζος - καφέ ή χάλκινος χωρίς ευδιάκριτα σημάδια ραχιαία και λευκός κοιλιακά. Τρέφεται κυρίως με οστεϊχθύες, άλλα ελασμοβράγχια, κεφαλόποδα, γαρίδες και γαστερόποδα. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του είναι ζωοτόκο, με φυλετικό διμορφισμό εμφανή από το πάχος του δέρματος στα κατά την ωρίμανση και ενήλικα θηλυκά. Οι πληθυσμοί διαχωρίζονται ανάλογα με την ηλικία. Θεωρείται ευάλωτο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2007.

1.4.6. *Lamna nasus* – Λάμια (Bonnaterre, 1788)

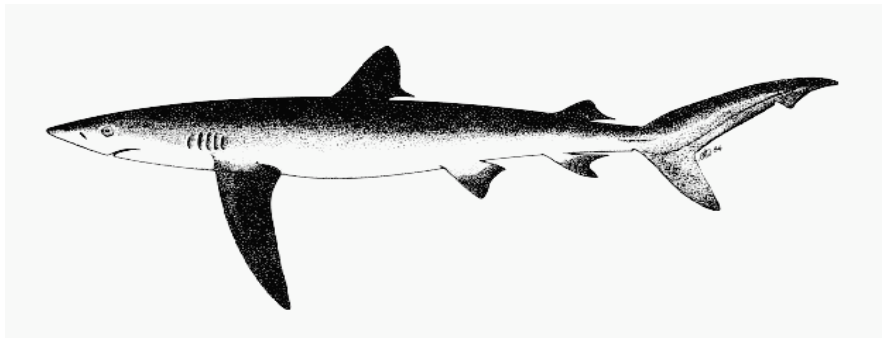


Εικόνα 1.6. *Lamna nasus* - Compagno (1984a) .

Η Λάμια (Elasmobranchii > Lamniformes > Lamnidae) συναντάται συνήθως στις ηπειρωτικές υπεράκτιες αλιευτικές περιοχές αλλά και παράκτια σε βάθη μεταξύ 0 - 715 m. Αποτελεί πελαγικό, επιπελαγικό ή παράκτιο είδος, ιδιαίτερα ανθεκτικό στις χαμηλές θερμοκρασίες. Υψηλά μεταναστευτικό είδος, κυρίως κατά μήκους της ηπειρωτικής υφαλοκρηπίδας. Η Λάμια διαθέτει στρογγυλεμένο σώμα, μεγάλους μαύρους οφθαλμούς, μυτερό, κωνικό ρύγχος, μακριές βραγχιακές σχισμές και μικρά, λεία, λεπτά δόντια. Η ράχη της είναι σκούρα γκρι και η κοιλιά της λευκή. Το πίσω άκρο του πρώτου ραχιαίου πτερυγίου είναι λευκό. Συνήθως το μήκος της είναι γύρω στα 244 cm TL και η μέγιστη καταγεγραμμένη ηλικία τα 30 έτη. Τρέφεται με μικρού με μετρίου μεγέθους πελαγικά είδη που σχηματίζουν κοπάδια, άλλα είδη καρχαρία, καλαμάρια and βενθοπελαγικούς ιχθύς. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του είναι ωοζωotόκο είδος.

Θεωρείται είδος σε κρίσιμο κίνδυνο σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2006.

1.4.7. *Prionace glauca* - Γλαυκοκαρχαρίας ή Γαλάζιος (Linnaeus, 1758)

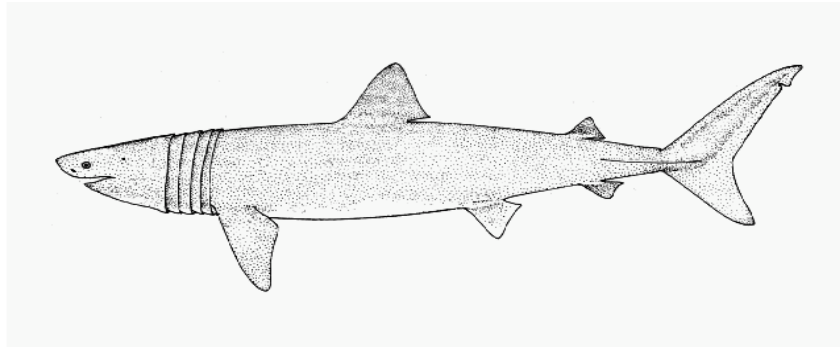


Εικόνα 1.7. *Prionace glauca* - Compagno (1984b).

Ο γαλάζιος καρχαρίας (Elasmobranchii > Carcharhiniformes > Carcharhinidae) αποτελεί ωκεάνιο είδος, το οποίο επίσης συναντάται κοντά στην ακτή όπου στενεύει η ηπειρωτική υφαλοκρηπίδα και σε εκβολές ποταμών. Διαβιεί μέχρι τα 150 m στην επιπελαγική ζώνη και περιστασιακά παράκτια. Το σύνηθες μήκος του είναι 335cm TL και η μέγιστη καταγεγραμμένη ηλικία 20 έτη. Χαρακτηρίζεται από λεπτό σώμα, μακρύ κωνικό ρύγχος, μεγάλους οφθαλμούς και κυρτά τριγωνικά πριονωτά άνω δόντια. Τα θωρακικά του πτερύγια είναι μακριά και λεπτά. Διαθέτει σκούρα μπλε ράχη, σκούρα μπλε πλευρά και λευκά κοιλιά. Οι άκρες των θωρακικών και εδρικών πτερυγίων είναι επίσης σκούρες. Τρέφεται με ιχθύες (για παράδειγμα ρέγγα, μπακαλιάρo, σκουμπρί), καρχαρίες μικρού μεγέθους, καλαμάρια, καβούρια, νεκρά κητοειδή και περιστασιακά απορρίμματα και πτηνά. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του είναι ζωotόκο είδος, όπου η κύηση διαρκεί σχεδόν ένα έτος και γεννιούνται από 4 μέχρι 135 νεαρά άτομα μήκους 40cm TL ανά γέννα. Παρατηρείται φυλετικός

διμορφισμός στο πάχος του δέρματος των κατά την ωρίμανση και ενήλικων θηλυκών ατόμων. Το κρέας του αξιοποιείται για ανθρώπινη κατανάλωση, καθώς και τα πτερύγιά του για σούπα. Θεωρείται είδος σχεδόν απειλούμενο σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2005.

1.4.8. *Cetorhinus maximus* - Καρχαρίας Προσκυνητής ή Σαπουνάς (Gunnerus, 1765)

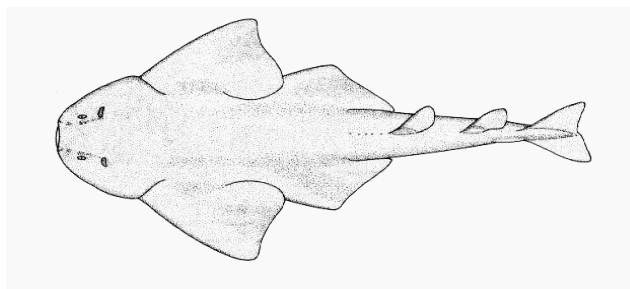


Εικόνα 1.8. *Cetorhinus maximus* - Compagno (1984a).

Ο καρχαρίας Προσκυνητής (Elasmobranchii > Lamniformes > Cetorhinidae) αποτελεί το δεύτερο μεγαλύτερο είδος καρχαρία φτάνοντας μέχρι και 1.220-1.520 cm. Θεωρείται ότι ζει μέχρι και 50 έτη και το μήκος του κυμαίνεται γύρω στα 700 cm TL. Αποτελεί μεταναστευτικό ημιωκεάνιο ή ωκεάνιο είδος. Συναντάται κατά μήκους της ηπειρωτικής και νησιώτικης υφαλοκρηπίδας, υπεράκτια, παράκτια και σε κόλπους. Αποτελεί πελαγικό είδος και διαβιεί από 1m μέχρι άγνωστα βάθη. Παρατηρούνται μεμονωμένα άτομα, ζεύγη, ομάδες τριών ή παραπάνω ατόμων και μεγάλα κοπάδια (έχουν καταγραφεί κοπάδια μέχρι και 100 ατόμων). Χαρακτηρίζεται από τις υπερμεγέθους βραγχιακές του σχισμές οι οποίες εκτείνονται κυκλικά γύρω από το κεφάλι του. Διαθέτει μυτερό ρύγχος, μεγάλο στόμα με μικρά κυρτά δόντια, ουραίο μίσχο με έντονες πλευρικές καρίνες και κυρτό ουραίο πτερύγιο. Το σώμα του είναι μαύρο με γκριζο-καφέ, γκριζο ή μπλε-γκρί με συχνές ακανόνιστες λευκές κηλίδες κάτω από την κεφαλή και την κοιλιά, και καλυμμένο με πλακοειδή λέπια. Τρέφεται με φυτοπλαγκτόν φιλτράροντας νερό, καθώς πραγματοποιεί εκτεταμένες οριζόντιες και κάθετες κινήσεις κατά μήκους της ηπειρωτικής υφαλοκρηπίδας και του ορίου της. Τον χειμώνα συναντάται σε βαθύτερα νερά. Αποτελεί ωοζωοτόκο είδος και έχει παρατηρηθεί φυλετικός και ηλικιακός διαχωρισμός. Το κρέας, ήπαρ και πτερύγιά του αξιοποιούνται για ανθρώπινη κατανάλωση.

Θεωρείται απειλούμενο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2005.

1.4.9. *Squatina squatina* - Αγγελοκαρχαρίας (Linnaeus, 1758)

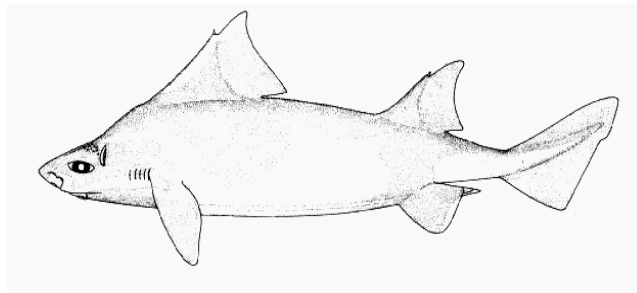


Εικόνα 1.9. *Squatina squatina* - Compagno (1984a).

Ο αγγελοκαρχαρίας (Elasmobranchii > Squatiniformes > Squatinidae) αποτελεί βενθικό είδος το οποίο συναντάται παράκτια, κατά μήκους της ηπειρωτικής υφαλοκρηπίδας. Διαβιεί κυρίως σε αμμώδης ή λασπώδης πυθμένες σε βάθη 5-150 m. Το σύνηθες μήκος του αγγελοκαρχαρία είναι 150 cm TL και διαθέτει φαρδύ πεπλατυσμένο σώμα, με μεγάλα θωρακικά και κοιλιακά πτερύγια, ενώ δεν διαθέτει εδρικό πτερύγιο. Οι οφθαλμοί και οι αναπνευστικές σπείρες βρίσκονται στην ραχιαία πλευρά του σώματος και οι βραγχιακές σχισμές στα πλαϊνά της κεφαλής. Ο χρωματισμός του εμφανίζει παραλλαγές από γκρι με κοκκινωπό ή πράσινο-καφέ, με διασκορπισμένες ραχιαίες λευκές και μαύρες κηλίδες. Τρέφεται κυρίως με πλατύψαρα και άλλους βενθικούς ιχθύες, καθώς και σαλάχια, ράγιες, βάτους, καρκινοειδή και μαλάκια. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του, αποτελεί ωοζωοτόκο είδος. Έχει τη δυνατότητα να ανιχνεύει αδύναμα ηλεκτρικά πεδία που παράγουν άλλοι οργανισμοί.

Θεωρείται απειλούμενο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2014.

1.4.10. *Oxynotus centrina* - Αχινόγατος (Linnaeus, 1758)

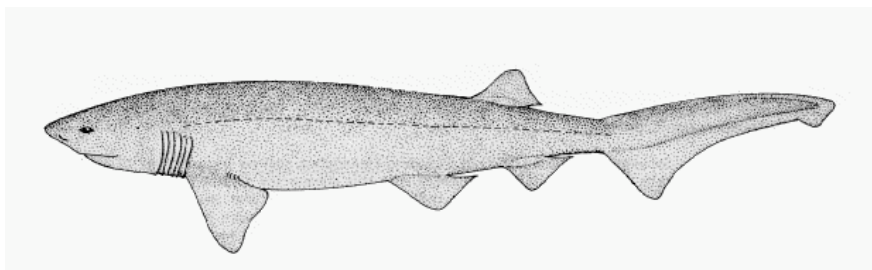


Εικόνα 1.10. *Oxynotus centrina* – Compagno (1984a).

Ο Αχινόγατος (Elasmobranchii > Squaliformes > Oxynotidae) συναντάται κατά μήκους της εξωτερικής ηπειρωτικής υφαλοκρηπίδας και στο άνω πρανές σε βάθη 60-660 m (549-777 m στο ανατολικό Ιόνιο). Αποτελεί μικρόσωμο βενθοπελαγικό είδος που διαβιεί σε μεγάλα βάθη. Διαθέτει υψηλό σώμα με δέρμα εχιοειδής υφής και σύνηθες μήκος 55.0cm TL. Ο χρωματισμός του είναι γκρι με γκρι-καφέ. Τρέφεται με πολύχαιτους και σιπουνκουλοειδή, τα οποία πέπτονται ταχύτατα, τελεόστεους ιχθύς, καρκινοειδή και εχινόδερμα. Επιπλέον έχει καταγραφεί περιστασιακή θήρευση των σάκων αυγού του καρχαρία *Scyliorhinus canicula*. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του αποτελεί ωοζωοτόκο είδος, με 7-8 γόνους ανά γέννα. Αξιοποιείται για ανθρώπινη κατανάλωση, ιχθυάλευρα και έλαια.

Θεωρείται ευάλωτο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2007.

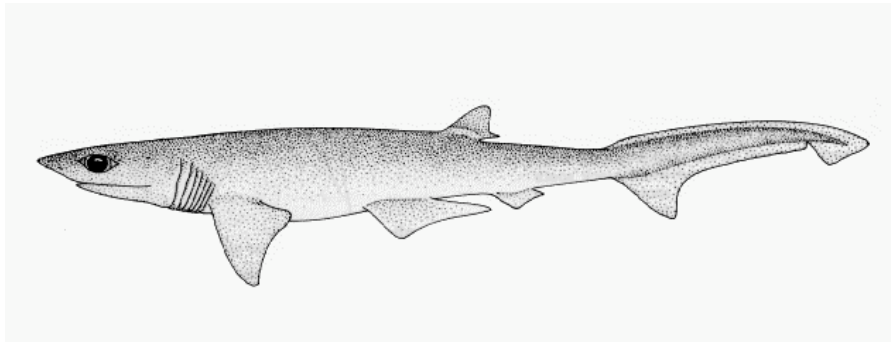
1.4.11. *Hexanchus griseus* - Εξαβράγχιος καρχαρίας (Bonnaterre, 1788)



Εικόνα 1.11. *Hexanchus griseus* - Compagno (1984a).

Ο Εξαβράγχιος καρχαρίας (Elasmobranchii > Hexanchiformes > Hexanchidae) αποτελεί είδος βαθέων υδάτων με σύνηθες μήκος 300 cm TL και συναντάται κατά μήκους της εξωτερικής ηπειρωτικής και νησιώτικης υφαλοκρηπίδας και στο ανώτερο πρανές σε βάθη 0-2000m. Διαβιεί κοντά στον πυθμένα και περιστασιακά στην πελαγική ζώνη, ενώ τα ενήλικα άτομα παρατηρούνται συνήθως κάτω των 91 m. Επίσης, τα νεαρά άτομα παρατηρούνται περιστασιακά παράκτια. Κατά τη διάρκεια της ημέρας συναντώνται στον πυθμένα και μετακινούνται προς την επιφάνεια κατά τη νύχτα για την εύρεση τροφής. Η ευκαιριακή αλιεία του Εξαβράγχιου οφείλεται σε αυτή του τη συνήθεια, καθώς πιάνεται από παραγάδια που προορίζονται για άλλα είδη. Επιπλέον η κατανομή του βάθους συσχετίζεται με το στάδιο ανάπτυξης και την θερμοκρασία, και έχουν πραγματοποιηθεί καταγραφές νεαρών ατόμων στις πιο κρύες και πλησιέστερες στους πόλους περιοχές. Χαρακτηρίζεται από το βαρύ ατρακτοειδές του σώμα, πλατιά κεφαλή, έξι ιδιαίτερα μακριές βραγχιακές οπές και φθορίζοντες πράσινοι οφθαλμοί στα ζωντανά δείγματα. Το στόμα του εντοπίζεται κοιλιακά με έξι σειρές χαμηλών, αιχμηρών και χτενοειδών δοντιών σε κάθε πλευρά. Το ρύγχος του είναι φαρδύ και στρογγυλεμένο. Το εδρικό του πτερύγιο είναι μικρότερο του ραχιαίου. Διαθέτει καφέ ή γκρίζα ράχη και μια ανοιχτόχρωμη γραμμή κατά μήκους των πλευρών του, ενώ η κοιλιά του είναι πιο ανοιχτόχρωμη. Οι άκρες των πτερυγίων του είναι λευκές. Τρέφεται με ποικίλους θαλάσσιους οργανισμούς όπως άλλους χονδριχθύες, οστεϊχθύες, καλαμάρια, καβούρια, κουφάρια και φώκιες. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του αποτελεί ωοζωοτόκο είδος και γεννά 22 με 108 νεαρά άτομα μήκους 60-75 cm ανά γέννα. Το κρέας του αξιοποιείται νωπό, κατεψυγμένο και παστό για ανθρώπινη κατανάλωση, ενώ παράγωγά του αποτελούν έλαια και ιχθυάλευρα. Θεωρείται σχεδόν απειλούμενο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2005.

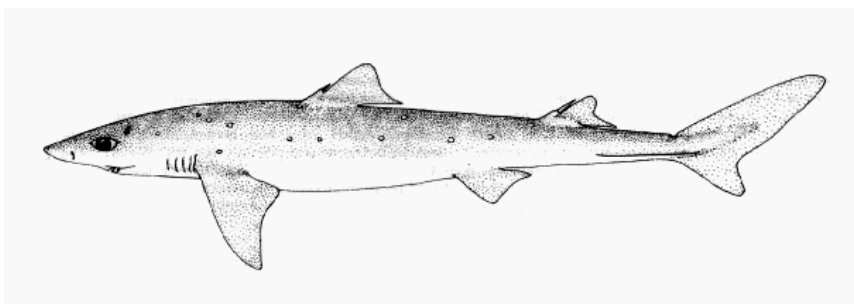
1.4.12. *Heptranchias perlo* - Επταβράγχιος καρχαρίας (Bonnaterre, 1788)



Εικόνα 1.12. *Heptranchias perlo* - Compagno (1984a).

Ο επταβράγχιος (Elasmobranchii > Hexanchiformes > Hexanchidae) συναντάται κατά μήκους της εξωτερικής ηπειρωτικής και νησιώτικης υφαλοκρηπίδας και στο ανώτερο πρανές σε βάθη 100 με 400 m, καθώς και παράκτια μέχρι και 1000 m. Το σύνηθες μέγεθός του είναι 100 cm TL. Διαθέτει στενή κεφαλή, επτά βραγχιακές σχισμές και μεγάλους οφθαλμούς οι οποίοι είναι πράσινοι φθορίζοντες στα ζωντανά δείγματα. Το σώμα του είναι λεπτό και ατρακτοειδές, με μικρό ραχιαίο πτερύγιο, το οποίο ξεκινά από τα εσωτερικά περιθώρια των κοιλιακών πτερυγίων, και μικρό εδρικό πτερύγιο. Επιπλέον τα δόντια του είναι φαρδιά, χαμηλά και χτενοειδή. Ο χρωματισμός του επταβράγχιου είναι καφέ-γκρί στη ράχη, με ανοιχτόχρωμη κοιλιά και περιστασιακά μη διακριτές σκούρες κηλίδες. Στα νεαρά άτομα παρατηρείται μαύρος χρωματισμός των άκρων του ραχιαίου και ουραίου πτερυγίου, ενώ στα ενήλικα άτομα ανοιχτόχρωμα περιθώρια πτερυγίων. Τρέφεται με μικρόσωμα ελασμοβράγχια και οστεϊχθύες, γαρίδες, καβούρια, αστακούς, καλαμάρια και σουπιές. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του αποτελεί ωοζωοτόκο είδος, γεννώντας 9-12 νεαρά άτομα περίπου 25 cm ανά γέννα. Το ήπαρ του αξιοποιείται για την παραγωγή ελαίων. Θεωρείται σχεδόν απειλούμενο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2003.

1.4.13. *Squalus acanthias* - Κεντρόνι (Linnaeus, 1758)

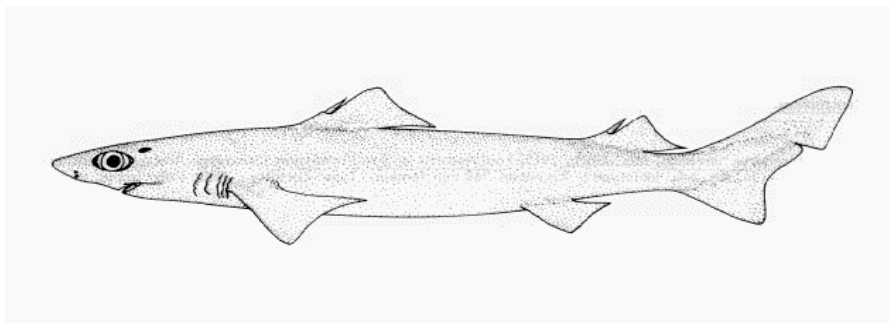


Εικόνα 1.13. *Squalus acanthias* - Compagno (1984a).

Το Κεντρόνι (Elasmobranchii > Squaliformes > Squalidae), πιθανά το πιο σε αφθονία εν ζωή είδος καρχαρία, συναντάται παράκτια, υπεράκτια, κατά μήκους της εξωτερικής ηπειρωτικής και νησιώτικης υφαλοκρηπίδας και στο ανώτερο πρανές. Διαβιεί συνήθως κοντά στον πυθμένα, αλλά και στα μεσόνερα και στην επιφάνεια σε βάθη 10-200m. Αποτελεί υψηλά μεταναστευτικό είδος, το οποίο σχηματίζει μεγάλα, έως χιλιάδων ατόμων, κοπάδια για την αναζήτηση τροφής. Τα κοπάδια μεγαλόσωμων θηλυκών που κυοφορούν προτιμούνται από την στοχευμένη αλιεία. Οι ρυθμοί ανάπτυξής του είναι αργοί, ζει μέχρι τα 20-24 έτη και το κοινό παρατηρούμενο μήκος του 100.0 cm TL. Θεωρείται σκυλόψαρο μετρίου μεγέθους και χαρακτηρίζεται από το μικρό, ιδιαίτερα λεπτό σώμα του και την στενή του κεφαλή. Ο χρωματισμός της ράχης και των πλευρικών του επιφανειών του σώματος είναι μπλε-γκρί με ακανόνιστη συστοιχία μεσαίου μεγέθους λευκές κηλίδες και λευκή κοιλιά. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του αποτελεί ωοζωοτόκο είδος. Τρέφεται με ποικιλία θηραμάτων, από μέδουσες, καλαμάρια και ρέγγες μέχρι βενθικούς ιχθύες, γαρίδες, καβούρια και θαλάσσια αγγούρια. Η ουρά του διαθέτει τοξίνες και έχει την ικανότητα να εντοπίζει αδύναμα ηλεκτρικά πεδία που παράγουν πιθανά θηράματα.

Θεωρείται είδος ελάχιστης ανησυχίας σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2006.

1.4.14. *Centrophorus granulosus* -Κοκκαγκαθίτης (Bloch & Schneider, 1810)

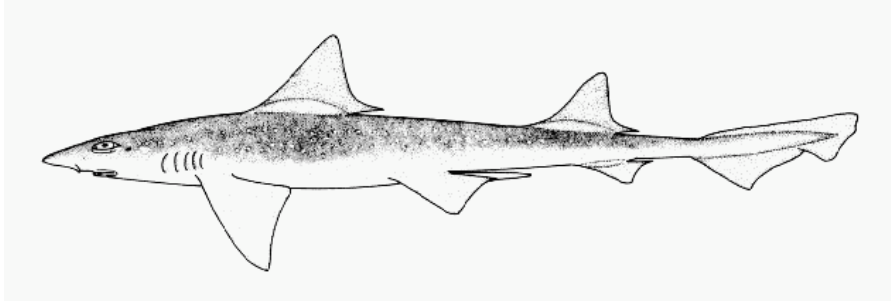


Εικόνα 1.14. *Centrophorus granulosus* - Compagno (1984a).

Ο Κοκκαγκαθίτης (Elasmobranchii > Squaliformes > Centrophoridae) αποτελεί κοινό είδος σκυλόψαρου των βαθέων υδάτων που συναντάται κατά μήκους της εξωτερικής ηπειρωτικής υφαλοκρηπίδας και στο ανώτερο πρανές σε βάθη μεγαλύτερα των 200 m. Καθιστά συνήθως βενθικό αλλά και επιβενθικό είδος σε βάθη 50-1440m, με τις περισσότερες καταγραφές να κυμαίνονται μεταξύ 200-600m. Μέγιστο καταγεγραμμένο μέγεθος για τα αρσενικά άτομα είναι τα 170cm TL και 145.5cm TL για τα θηλυκά. Επιπλέον, διαθέτει δύο ραχιαία αγκάθια. Ο χρωματισμός του είναι ανοιχτό γκρι-καφέ στην ραχιαία περιοχή, με πιο ανοιχτόχρωμη κοιλιακή περιοχή και

πρασινωπούς οφθαλμούς. Στα ενήλικα άτομα οι άκρες των ραχιαίων πτερυγίων είναι σκούρες. Τα ενήλικα άτομα τρέφονται με οστεϊθχές, καλαμάρια και καρκινοειδή. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του αποτελεί ωοζωοτόκο είδος. Έχει καταγραφεί ένα νεαρό άτομο ανά γέννα για τους Κοκκαγκαθίτες της Μεσογείου, και θεωρείται ότι στο είδος γενικά γεννιούνται 1 με 2 νεαρά άτομα 30 με 42 cm ανά γέννα. Αξιοποιείται για ανθρώπινη κατανάλωση, ιχθυάλευρα και έλαια. Θεωρείται είδος ανεπαρκώς γνωστό σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2006.

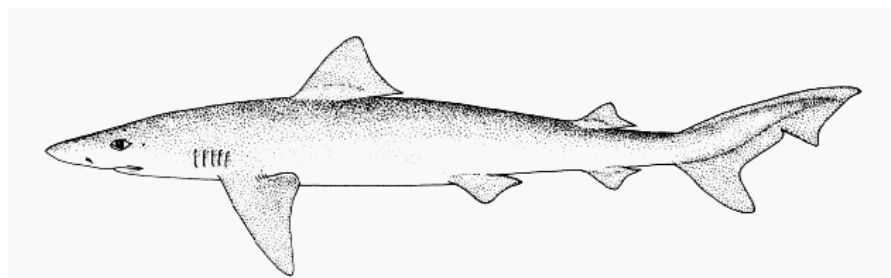
1.4.15. *Mustelus asterias* - Αστρογαλέος (Cloquet, 1819)



Εικόνα 1.15. *Mustelus asterias* - Compagno (1984b).

Ο Αστρογαλέος (Elasmobranchii > Carcharhiniformes > Triakidae > Triakinae) αποτελεί βενθοπελαγικό, παράκτιο και υπεράκτιο είδος που συναντάται κατά μήκους της ηπειρωτικής και νησιώτικης υφαλοκρηπίδας σε βάθη 0-350 m. Προτιμά τους αμμώδης και χαλικώδης πυθμένες. Τρέφεται κυρίως με καρκινοειδή. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του αποτελεί ωοζωοτόκο είδος. Θεωρείται είδος ελάχιστης ανησυχίας σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2006.

1.4.16. *Galeorhinus galeus* - Δροσίτης ή Γαλέος (Linnaeus, 1758)

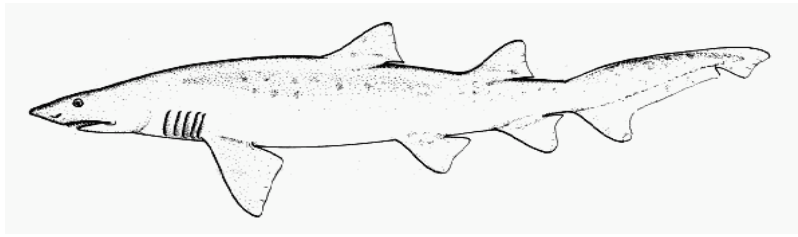


Εικόνα 1.16. *Galeorhinus galeus* - Compagno (1984b).

Ο Γαλέος (Elasmobranchii > Carcharhiniformes > Triakidae > Galeorhininae) αποτελεί βενθοπελαγικό είδος που συναντάται κατά μήκους της ηπειρωτικής και νησιώτικης υφαλοκρηπίδας και στο ανώτερο πρανές σε βάθη 0-1100 m. Στον ανοιχτό ωκεανό συναντάται και ως πελαγικό είδος. Το μέσο μήκος του Γαλέου είναι 160 cm TL και μέγιστη καταγεγραμμένη ηλικία τα 55 έτη. Διαθέτει μακρύ, μυτερό ρύγχος, μεγάλο στόμα και μικρά, μυτερά δόντια. Ο χρωματισμός του είναι γκρι στην ραχιαία και λευκός στην κοιλιακή περιοχή. Τρέφεται με ιχθύες (βενθικά και πελαγικά είδη), καρκινοειδή, κεφαλόποδα, σκουλήκια και εχινόδερμα. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του αποτελεί ωοζωοτόκο είδος.

Θεωρείται ευάλωτο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2006.

1.4.17. *Carcharias taurus* - Ταυροκαρχαρίας (Rafinesque, 1810)

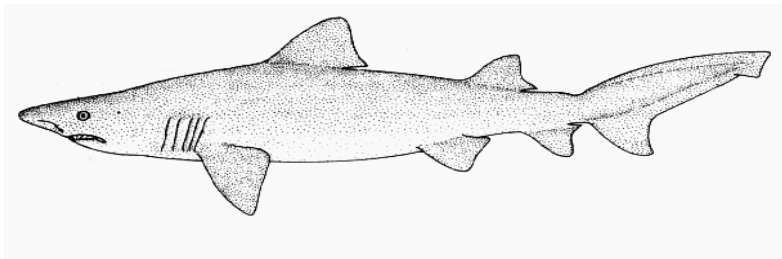


Εικόνα 1.17. *Carcharias taurus* - Compagno (1984a).

Ο Ταυροκαρχαρίας (Elasmobranchii > Lamniformes > Odontaspidae) συναντάται παράκτια, σε ρηχούς κόλπους και στην ηπειρωτική υφαλοκρηπίδα από 1-191 m. Αποτελεί το μόνο γνωστό είδος καρχαρία που διαθέτει την ικανότητα να καταπίνει και να αποθηκεύει αέρα στο στομάχι του ώστε να διατηρεί ουδέτερη πλευστότητα όσο κολυμπάει. Το κοινό μήκος του Ταυροκαρχαρία είναι 250 cm TL και χαρακτηρίζεται από το κοντό μυτερό του ρύγχος, μικρούς οφθαλμούς, και προεξέχοντα, μυτερά δόντια. Ο χρωματισμός του είναι ανοιχτό καφέ ή γκρι, πιο ανοιχτόχρωμη η κάτω μεριά και σκούρες κηλίδες που παρουσιάζονται ξεθωριασμένες στα ενήλικα άτομα. Τρέφεται με οστεϊχθύες, μικρόσωμα ελασμοβράγχια, καλαμάρια, καβούρια και αστακούς. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του είναι ωοζωοτόκο είδος, όπου το έμβρυο τρέφεται με τον λεκιθικό σάκο, άλλα ωάρια και συγγενικά του άτομα κατά την παραμονή στη μήτρα.

Θεωρείται είδος σε κρίσιμο κίνδυνο σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2007.

1.4.18. *Odontaspis ferox* - Αγριοκαρχαρίας (Risso, 1810)

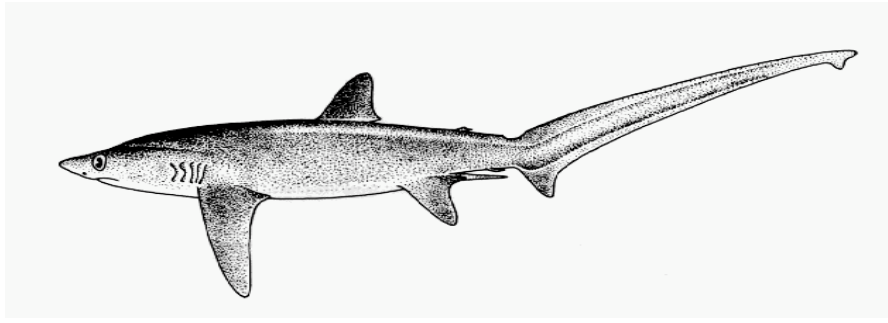


Εικόνα 1.18. *Odontaspis ferox* - Compagno (1984a).

Ο Αγριοκαρχαρίας (Elasmobranchii > Lamniformes > Odontaspidae) συναντάται κοντά στον πυθμένα της ηπειρωτικής και νησιώτικης υφαλοκρηπίδας και στο ανώτερο πρανές. Αποτελεί βενθοπελαγικό είδος με εύρος βάθους 10 - 2000 m. Το μέγιστο καταγεγραμμένο μέγεθός του είναι 450 cm TL. Χαρακτηρίζεται από το κοντό, μυτερό του ρύγχος, μικρούς οφθαλμούς, προεξέχοντα μυτερά δόντια και μικρά, ίδιου μεγέθους ραχιαία και εδρικά πτερύγια. Επιπλέον, το πρώτο ραχιαίο πτερύγιο βρίσκεται πιο κοντά στα θωρακικά παρά στα κοιλιακά πτερύγια. Αξιοποιεί την μακριά σωματική του κοιλότητα και το ελαιώδες του ήπαρ για την ρύθμιση πλευστότητας. Ο χρωματισμός του Αγριοκαρχαρία είναι γκρι στη ράχη με ανοιχτόχρωμη κοιλιά. Περιστασιακά παρατηρούνται κόκκινες κηλίδες κατά μήκους των πλευρών. Τρέφεται με μικρόσωμους οστεϊχθύες, καλαμάρια και καρκινοειδή. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του είναι ωοζωοτόκο είδος, όπου το έμβρυο τρέφεται με τον λεκιθικό σάκο και άλλα ωάρια. Γεννά δύο νεαρά άτομα ανά γέννα μήκους 105 cm ή και παραπάνω. Το κρέας του αξιοποιείται για ανθρώπινη κατανάλωση καθώς και το ήπαρ του για έλαια.

Θεωρείται ευάλωτο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2015.

1.4.19. *Alopias superciliosus* – Αλωπίας ο μεγαλόματος (Lowe, 1841)

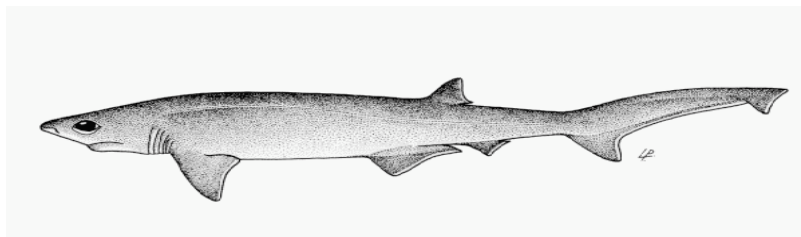


Εικόνα 1.19. *Alopias superciliosus*- Compagno (1984a).

Ο Αλωπίας ο μεγαλόματος (Elasmobranchii > Lamniformes > Alopiidae) συναντάται σε παράκτια ύδατα κατά μήκους της ηπειρωτικής υφαλοκρηπίδας, περιστασιακά σε ρηχά νερά κοντά στην ακτή και στην ανοιχτή θάλασσα μακριά από την στεριά. Αποτελεί ωκεάνιο, πελαγικό και κοντά στον πυθμένα είδος με εύρος βάθους 1-500 m. Το σύνηθες μήκος του είναι 350 cm TL και μέγιστη καταγεγραμμένη ηλικία τα 20 έτη. Χαρακτηρίζεται από το μεγάλο του μέγεθος και ιδιαίτερα μεγάλους του οφθαλμούς. Επιπλέον διαθέτει φαρδιά ουραία άκρη, κυρτά θωρακικά πτερύγια με φαρδιές άκρες και εσοχή στο μέτωπό του. Το πρώτο του ραχιαίο πτερύγιο βρίσκεται πιο πίσω σε σχέση με συγγενικά του είδη. Ο άνω λοβός του ουραίου πτερυγίου είναι πολύ μακρύς, ίσου ή σχεδόν ίσου μήκους με το σώμα του καρχαρία, ενώ ο κάτω λοβός είναι κοντός αλλά καλά ανεπτυγμένος. Ο χρωματισμός του είναι μωβ-γκρί στη ράχη, με ανοιχτόχρωμη κοιλιακή περιοχή. Οι πίσω άκρες των θωρακικών, ουραίων και περιστασιακά του πρώτου ραχιαίου πτερυγίου είναι σκουρόχρωμες. Επίσης, το ανοιχτό χρώμα της κοιλιακής χώρας δεν εξαπλώνεται στις βάσεις των θωρακικών πτερυγίων. Τρέφεται με πελαγικούς και βενθικούς ιχθύες, καθώς και καλαμάρια. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του είναι ωοζωοτόκο είδος, όπου το έμβρυο τρέφεται με τον λεκιθικό σάκο και άλλα ωάρια. Γεννά 2-4 νεαρά άτομα μήκους 64-106 cm ανά γέννα. Χρησιμοποιεί το μακρύ ουραίο του πτερύγιο για την ακινητοποίηση του θηράματός του. Αξιοποιείται για ανθρώπινη κατανάλωση και παραγωγή ελαίων.

Θεωρείται ευάλωτο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2007.

1.4.20. *Hexanchus nakamurai*–Μεγαλόματος εξαβράγχιος (Teng, 1962)

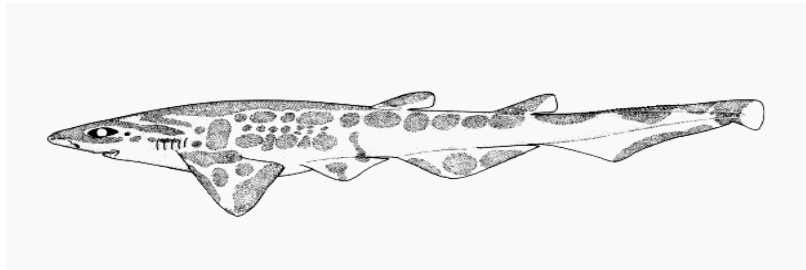


Εικόνα 1.20. *Hexanchus nakamurai* - Compagno (1984a).

Ο Μεγαλόματος εξαβράγχιος (Elasmobranchii > Hexanchiformes > Hexanchidae) συναντάται κατά μήκους της ηπειρωτικής, νησιώτικης υφαλοκρηπίδας και στο άνω πρανές σε βάθη 90-600 m. Συνήθως διαβιεί στον πυθμένα ή κοντά σε αυτόν και πιθανά να μετακινείται προς την επιφάνεια τη νύχτα. Το σύνηθες μέγεθός του είναι 120cm TL και διαθέτει 155 σπόνδυλους. Χαρακτηρίζεται από το στενό, μικρό του σώμα, στενή του κεφαλή και 5 κατώτερα χτενοειδή προσθιοπλάγια δόντια.

Επιπλέον διαθέτει μακριά λεπτή ραχοουραία περιοχή, με την απόσταση μεταξύ της αρχής του ραχιαίου πτερυγίου μέχρι την άνω ουραία αρχή να είναι τουλάχιστον δύο φορές το μήκος της βάσης του ραχιαίου πτερυγίου. Τα άνω και κάτω ουραία μεταραχιαία περιθώρια σχηματίζουν έντονο τόξο. Ο χρωματισμός του είναι ομοιόμορφο ανοιχτό καφέ στη ράχη και οι άκρες των πτερυγίων περιστασιακά λευκές. Τρέφεται πιθανά με οστεϊχθύες και καρκινοειδή. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του είναι ωοζωotόκο είδος, γεννώντας 13 νεαρά άτομα 40-43 cm TL ανά γέννα. Το κρέας, τα πτερύγια και τα έλαια παραγόμενα από το ήπαρ του αξιοποιούνται για ανθρώπινη κατανάλωση, αλλά έχει χαμηλή εμπορική αξία λόγω του μικρού του μεγέθους. Θεωρείται ανεπαρκώς γνωστό είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2008.

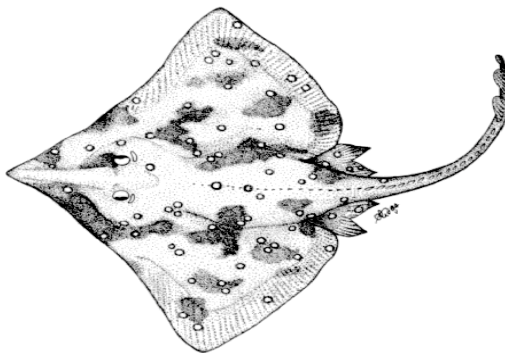
1.4.21. *Galeus melastomus* - Μελανόσκυλος (Rafinesque, 1810)



Εικόνα 1.21. *Galeus melastomus* - Compagno (1984b).

Ο Μελανόσκυλος (Elasmobranchii > Carcharhiniformes > Scyliorhinidae) διαβιεί στην εξωτερική ηπειρωτική υφαλοκρηπίδα και στο άνω πρηνές σε βάθη 55-1873 m, αν και συνήθως συναντάται μεταξύ 150-1200 m. Το σύνηθες μέγεθός του είναι 50cm TL. Τρέφεται κυρίως με βενθικά ασπόνδυλα όπως γαρίδες και κεφαλόποδα, μικρού μεγέθους πελαγικούς οστεϊχθύες και μικρόσωμα ελασμοβράγχια. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του είναι ωotόκο είδος, με μέχρι και 13 αυγά παρόντα στις σάλπιγγες ανά φορά. Έχει καταγραφεί ότι άτομα προερχόμενα από το Ιόνιο πέλαγος φαίνεται να αναπαράγονται από τα τέλη Φεβρουάριου με Σεπτέμβρη, με τα αυγά να εναποθέτονται μεταξύ 200-600 m. Τέλος, το κρέας του αξιοποιείται για ανθρώπινη κατανάλωση. Θεωρείται είδος ελάχιστης ανησυχίας σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2003.

1.4.22. *Dipturus batis* - Γκριζόβατος (Linnaeus, 1758)



Εικόνα 1.22. *Dipturus batis* – Bauchot (1987).

Ο Γκριζόβατος (Elasmobranchii > Rajiformes > Rajidae > Rajinae) αποτελεί βενθικό είδος το οποίο διαβιεί στα ύδατα της υφαλοκρηπίδας και του πρηνούς, με ευρεία ανοχή όσο αφορά το βάθος και την θερμοκρασία. Συναντάται παράκτια συνήθως εντός εύρους 200m σε βάθη 100-1000 m. Το

σύννηθες μήκος του είναι 100cm TL και χαρακτηρίζεται από το μακρύ, μυτερό του ρύγχος και φαρδύ ρομβοειδές του δίσκο με έντονες τις εξωτερικές του γωνίες. Ο δίσκος του δεν διαθέτει αγκάθια, ενώ η άνω επιφάνειά του είναι λαδί-γκρί ή καφέ με μεταβλητό μοτίβο λευκών κηλίδων και η κάτω επιφάνειά του σκούρο γκρι με μπλε-γκρι Τρέφεται με μεγάλη ποικιλία βενθικών ειδών, συμπεριλαμβανομένων άλλα σαλάχια. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του είναι ωοτόκο είδος. Θεωρείται είδος σε κρίσιμο κίνδυνο σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2006.

1.4.23. *Mobula mobular* – Διαβολόψαρο (Bonnaterre, 1788)

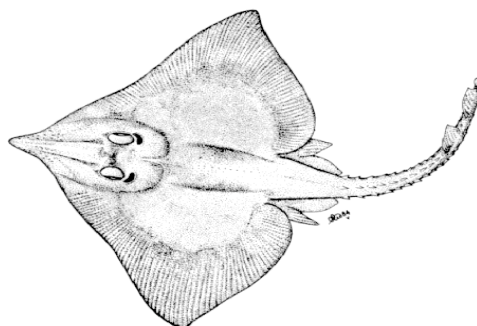


Εικόνα 1.23. *Mobula mobular* – Gervais (1877).

Το Διαβολόψαρο (Elasmobranchii > Myliobatiformes > Myliobatidae > Mobulinae) αποτελεί επιπελαγικό είδος που συναντάται κατά μήκος της ηπειρωτικής υφαλοκρηπίδας και κοντά σε ωκεάνια νησιά, με μέγιστο καταγεγραμμένο μήκος 520 cm. Τρέφεται με μικρού μεγέθους πελαγικούς ιχθύες και καρκινοειδή, διοχετεύοντας διαμέσου κεφαλικών περυγίων και εγκλωβίζοντας ή φιλτράροντας την τροφή τους μέσω εξειδικευμένων βραγχιακών πλακών. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του είναι ωοζωοτόκο είδος. Επίσης, αποτελεί συχνά παρεμπίπτον αλίευμα κατά την αλιευτική δραστηριότητα στη Μεσόγειο. Το κρέας του αξιοποιείται για ανθρώπινη κατανάλωση.

Θεωρείται απειλούμενο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2014.

1.4.24. *Rostroraja alba* - Λευκόβατος (Lacépède, 1803)



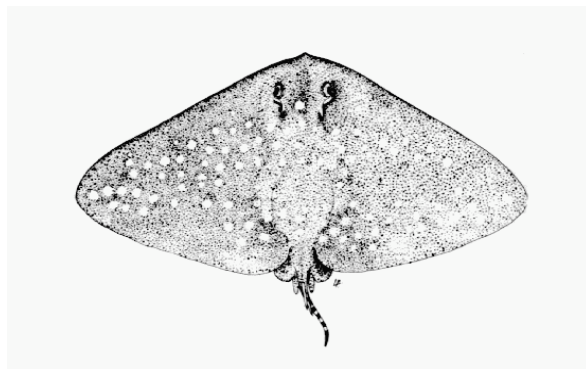
Εικόνα 1.24. *Rostroraja alba* - Bauchot (1987).

Ο Λευκόβατος (Elasmobranchii > Rajiformes > Rajidae > Rajinae) συναντάται στην υδάτινη περιοχή της υφαλοκρηπίδας και του πρσανούς. Διαβιεί σε αμμώδης και πετρώδης πυθμένες σε βάθη 30-600 m. Το μέγιστο καταγεγραμμένο μήκος του είναι 230 cm TL για τα αρσενικά άτομα και 202cm TL για τα θηλυκά. Χαρακτηρίζεται από το μεγάλο του μέγεθος, το γωνιώδες θωρακικό του δίσκο και τις τρεις σειρές από μεγάλα αγκάθια στην ουρά του. Ο χρωματισμός των μεγάλου

μεγέθους ανώριμων και ενήλικων ατόμων είναι γκρι με πολυάριθμες μικρές λευκές κηλίδες στη ράχη, λευκή κοιλιακή περιοχή χωρίς μαύρους πόρους. Τρέφεται με οστεϊχθύες, άλλα ελασμοβράγχια, καβούρια, γαρίδες, χταπόδια και σουπιές. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του είναι ωοτόκο είδος.

Θεωρείται απειλούμενο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2006.

1.4.25. *Gymnura altavela* - Πλατυσέλαχο (Linnaeus, 1758)

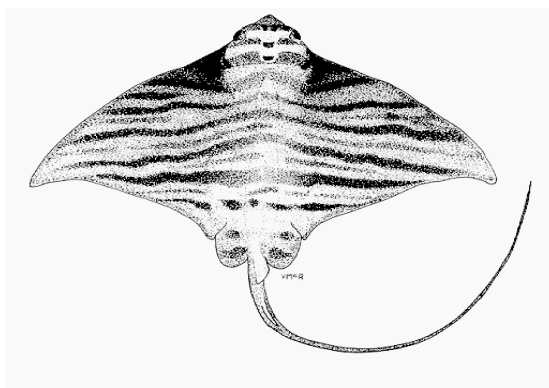


Εικόνα 1.25. *Gymnura altavela* – Cervigón et al. (1992).

Το πλατυσέλαχο (Elasmobranchii > Myliobatiformes > Gymnuridae) αποτελεί βενθοπελαγικό είδος που διαβιεί σε βάθη 5-100 m και προτιμά αμμώδης και λασπώδης πυθμένες. Το μέγιστο καταγεγραμμένο του μήκος είναι 140 cm, ενώ το κοινό του μήκος 200 cm. Χαρακτηρίζεται από την κοντή, οπλισμένη με αγκάθι του ουρά και τον ιδιαίτερα φαρδύ του δίσκο. Ο χρωματισμός του δίσκου του είναι σκούρο καφέ-γκρι. Οι χαμηλότερες επιφάνειες του δίσκου και των κοιλιακών πτερυγίων του είναι λευκές, ανοιχτό ρόζ ή χάλκινες. Η κάτω μεριά της ουράς του είναι ανοιχτό ρόζ ή λευκό. Τρέφεται με ιχθύες, καρκινοειδή, μαλάκια και πλαγκτόν. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του είναι ωοζωοτόκο είδος.

Θεωρείται ευάλωτο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2007.

1.4.26. *Aetomylaeus bovinus* – Ρυγχαετόψαρο (Geoffroy, 1817)

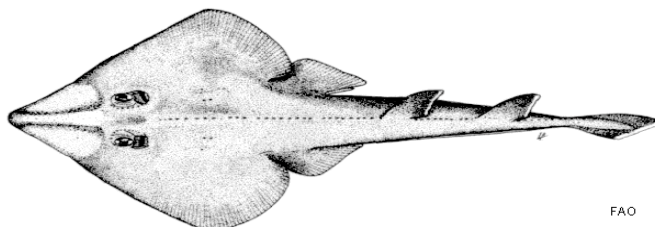


Εικόνα 1.26. *Aetomylaeus bovinus* – Compagno (1986).

Το Ρυγχαετόψαρο (Elasmobranchii > Myliobatiformes > Myliobatidae > Myliobatinae) αποτελεί βενθοπελαγικό είδος που διαβιεί σε βάθη 10-150m. Συναντάται σε παράκτια, περιστασιακά υπεράκτια, τροπικά και ζεστά εύκρατα ύδατα. Το σύνηθες μήκος του είναι 150 cm. Χαρακτηρίζεται από το μακρύ, πεπλατυσμένο του ρύγχος που θυμίζει ράμφος πάπιας. Επίσης διαθέτει παχιά

κεφαλή και θωρακικό δίσκο μεγωνιώδες άκρες που σχηματίζουν απότομη καμπύλη. Ο χρωματισμός του είναι ανοιχτό καφέ με πλήθος ανοιχτόχρωμων μπλε-γκρί γραμμών στη ράχη (σε κάποια άτομα μπορεί να λείπουν) και λευκός στην κοιλιακή περιοχή. Τρέφεται με καρκινοειδή και μαλάκια που ζουν στον πυθμένα. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του αποτελεί ωοζωοτόκο. Θεωρείται ανεπαρκώς γνωστό είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2006.

1.4.27. *Rhinobatos rhinobatos* - Κοινός ρινόβατος (Linnaeus, 1758)

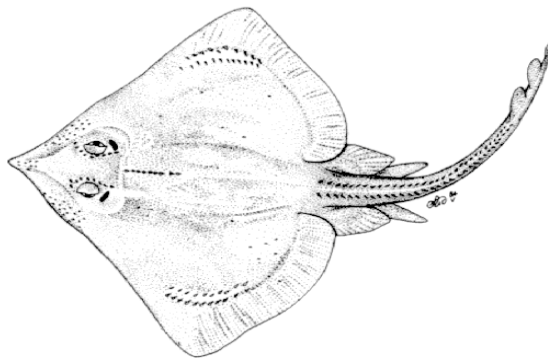


Εικόνα 1.27. *Rhinobatos rhinobatos* – Bianchi (1986).

Ο κοινός ρινόβατος (Elasmobranchii > Rhinopristiformes > Rhinobatidae > Rhinobatinae) συναντάται σε αμμώδης και λασπώδης πυθμένες, σπανιότερα σε βραχώδης υφάλους, σε βάθη 0-100m όπου κολύμπα αργά πάνω από τον πυθμένα ή είναι μερικώς θαμμένος. Το σύνηθες του μήκος είναι 80 cm TL. Ο χρωματισμός του είναι λαδί-καφέ στη ράχη και λευκός στην κοιλιακή περιοχή. Τρέφεται με βενθικά ασπόνδυλα, κυρίως καρκινοειδή, και ιχθύες μικρού μεγέθους. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του αποτελεί ωοζωοτόκο είδος.

Θεωρείται απειλούμενο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2007.

1.4.28. *Leucoraja fullonica* – Ακανθόβατος (Linnaeus, 1758)

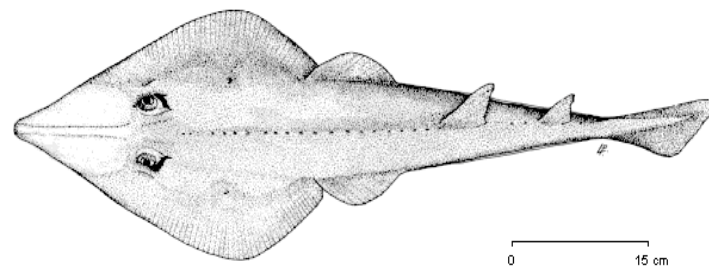


Εικόνα 1.28. *Leucoraja fullonica* - Bauchot (1987).

Ο Ακανθόβατος (Elasmobranchii > Rajiformes > Rajidae) συναντάται συνήθως σε κρύα παράκτια ύδατα και στα ανώτερα σημεία του ηπειρωτικού πρηνούς. Αποτελεί βενθοπελαγικό είδος και διαβιεί σε βάθη 0-550 m. Το μέγιστο καταγεγραμμένο μήκος είναι 120cm TL για τα αρσενικά άτομα και 111cm TL για τα θηλυκά. Χαρακτηρίζεται από το έντονο, μυτερό ρύγχος του. Ο χρωματισμός της άνω επιφάνειάς του είναι γκρι ενώ της κάτω λευκός. Τρέφεται με βενθικά είδη, πιθανά προτιμώντας ιχθύες. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του είναι ωοτόκο είδος.

Θεωρείται ευάλωτο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2014.

1.4.29. *Glaucostegus cemiculus* - Μαυρορινόβατος (Geoffroy, 1817)

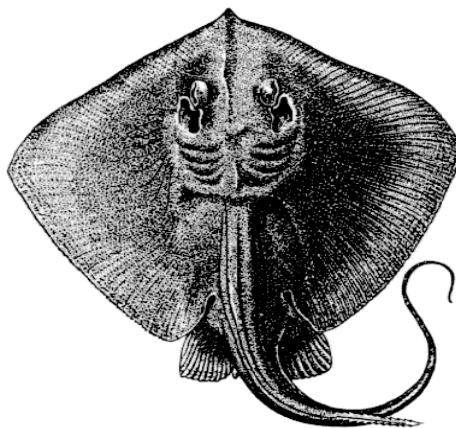


Εικόνα 1.29. *Glaucostegus cemiculus* – Bauchot (1987).

Ο Μαυρορινόβατος (Elasmobranchii > Rhinopristiformes > Glaucostegidae > Rhinobatinae) αποτελεί παράκτιο, βενθικό είδος που συναντάται σε αμμώδης και λασπώδης πυθμένες σε βάθη 9-100m. Το σύνηθες μήκος του είναι 200cm TL. Χαρακτηρίζεται από το μεγάλο του μέγεθος, τον μπεζ με καφέ δίσκο του και το τραχύ του δέρμα. Διαθέτει μακρύ και αρκετά φαρδύ τριγωνικό ρύγχος με στρογγυλεμένο ρινικό χόνδρο στην άκρη του και φαρδιά λοξά ρουθούνια. Τρέφεται κυρίως με βενθικά καρκινοειδή και ιχθύες μικρού μεγέθους. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του αποτελεί ωοζωοτόκο είδος.

Θεωρείται απειλούμενο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2007.

1.4.30. *Dasyatis pastinaca* – Βατοτρυγόνα (Linnaeus, 1758)

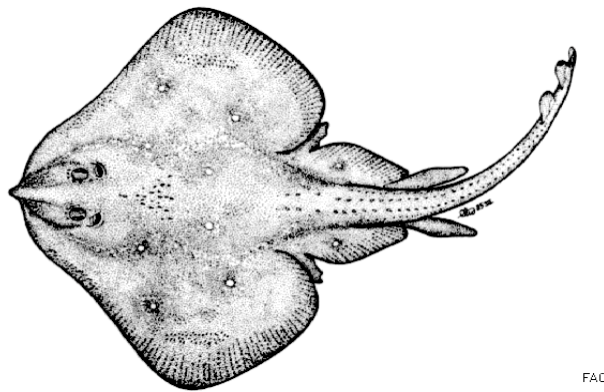


Εικόνα 1.30. *Dasyatis pastinaca* - Reiner (1996).

Η Βατοτρυγόνα (Elasmobranchii > Myliobatiformes > Dasyatidae > Dasyatinae) αποτελεί παράκτιο είδος που εισέρχεται σε παράκτιες λιμνοθάλασσες, ρηχούς κόλπους και εκβολές ποταμών. Συναντάται σε αμμώδης και λασπώδης πυθμένες και περιστασιακά σε βραχώδης υφάλους σε βάθη 5-200 m. Διαθέτει ένα δηλητηριώδες αγκάθι μήκους μέχρι και 35cm το οποίο περιστασιακά απορρίπτεται και αντικαθίστανται. Επίσης, το μέγιστο καταγεγραμμένο πλάτος του είναι 150cm και μέγιστο καταγεγραμμένο μήκος 64cm WD. Τρέφεται με βενθικούς ιχθύς, καρκινοειδή και μαλάκια. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του αποτελεί ωοζωοτόκο είδος.

Θεωρείται ανεπαρκώς γνωστό είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2003.

1.4.31. *Leucoraja circularis* – Στρογγυλόβατος (Couch, 1838)

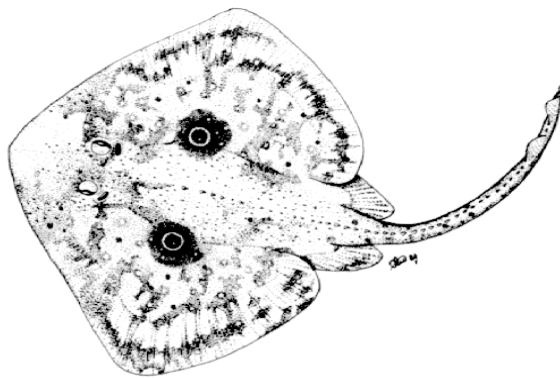


FAO

Εικόνα 1.31. *Leucoraja circularis* – Bauchot (1987).

Ο Στρογγυλόβατος (Elasmobranchii > Rajiformes > Rajidae) συναντάται στα παράκτια ύδατα της υφαλοκρηπίδας και στο άνω πρανές σε βάθη 70-275 m, ενώ στο ανατολικό Ιόνιο πέλαγος παρατηρείται σε βάθη 463-676 m. Το σύνηθες μήκος του είναι 70cm TL. Διαθέτει κοντό ρύγχος με έντονο άκρο. Ο χρωματισμός της άνω επιφάνειας της κοιλιάς είναι κόκκινο-καφέ με σκούρο καφέ και 4-6 ανοιχτόχρωμες κηλίδες στο κάθε φτερό. Ο χρωματισμός της κάτω επιφάνειας είναι λευκός. Τρέφεται με βενθικά είδη. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του είναι ωτόκο είδος. Θεωρείται απειλούμενο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2014.

1.4.32. *Raja radula* – Τραχύβατος (Delaroche, 1809)



FAO

Εικόνα 1.32. *Raja radula* - Bauchot (1987).

Ο Τραχύβατος (Elasmobranchii > Rajiformes > Rajidae > Rajinae) συναντάται παράκτια μέχρι και βάθη 300m depth. Το μέγιστο καταγεγραμμένο μήκος του είναι 70 cm TL. Τρέφεται με ποικιλία βενθικών ειδών. Όσο αφορά την αναπαραγωγή του είναι ωτόκο είδος. Θεωρείται απειλούμενο είδος σύμφωνα με την αξιολόγηση IUCN Red List, 2016.

1.5. Η εφαρμογή του DNA Barcoding και οι μοριακοί δείκτες στην φυλογενετική ανάλυση των ελασμοβράγχιων της Ανατολικής Μεσογείου

Στην λεκάνη της Μεσογείου παρατηρούνται οικοσυστήματα με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, τα οποία λόγω των πυκνοκατοικημένων ακτών και του εγκλεισμού της από στεριά, απειλούνται από πληθώρα ανθρωπογενών παραγόντων. Οι συνθήκες αυτές καθιστούν σημαντική την κατανόηση των οργανισμών που διαβιούν σε αυτή, τις μεταξύ τους σχέσεις και την ανθρώπινη επίδραση, ειδικά για απειλούμενα είδη όπως οι ελασμοβράγχιοι ιχθύες. Ενώ έχουν πραγματοποιηθεί κάποιες εργασίες όσο αφορά το DNA Barcoding και την μέσω μοριακών δεικτών φυλογενετική ανάλυση των ελασμοβράγχιων της Μεσογείου, κυρίως ως κομμάτι επιστημονικών ερωτημάτων μεγαλύτερης γεωγραφικής κάλυψης, η έρευνα που επικεντρώνεται στην Ανατολική Μεσόγειο είναι περιορισμένη.

Οι ελασμοβράγχιοι ιχθύες της Μεσογείου έχουν αποτελέσει αντικείμενο μελέτης στα πλαίσια ερευνών μεγάλης γεωγραφικής κλίμακας. Στην παγκόσμιας εμβέλειας έρευνα των Magnussen et al. (2006) για την ανάπτυξη μεθόδου ταυτοποίησης μέσω του μοριακού δείκτη ITS2 για το είδος *Cetorhinus maximus* στην διεθνή αγορά πτερυγίων καρχαρία, συμπεριλήφθηκαν και Μεσογειακής προέλευσης άτομα του είδους. Αντίστοιχα και η εργασία των Shivji et al. (2002) βασίστηκε στην ανάπτυξη μεθόδου ταυτοποίησης μέσω του ίδιου μοριακού δείκτη για τα συνήθη είδη καρχαριών που στοχεύονται από την παγκόσμια πελαγική αλιεία, συμπεριλαμβανομένων και ατόμων προερχόμενα από τη Μεσόγειο. Όσο αφορά την φυλογενετική ανάλυση, έμφαση έχει δοθεί στην γενετική συνδεσιμότητα μεταξύ ελασμοβράγχιων της Μεσογείου και του Ατλαντικού Ωκεανού. Δίνεται ως παράδειγμα η εργασία των Griffiths et al. (2011) πάνω στο είδος *Dipturus oxyrinchus*, όπου αξιοποιείται η μιτοχονδριακή περιοχή ελέγχου (D-Loop), και των Gubili et al. (2016) πάνω στο είδος *Etmopterus spinax* όπου αξιοποιείται η μιτοχονδριακή περιοχή ελέγχου (D-Loop) και το γονίδιο ITS2. Η μέθοδος DNA Barcoding του γονιδίου COI για την φυλογενετική ανάλυση ελασμοβράγχιων εφαρμόζεται στην εργασία των Ball et al. (2016) για τους Ευρωπαϊκούς πληθυσμούς δύο ειδών σαλαχιών (*Raja maderensis*, *Raja clavata*) με τον σκοπό διαλεύκανσης ταξινομικών ερωτημάτων. Επιπλέον, οι Cannas et al. (2010) αλληλούχησαν μεταξύ άλλων γονιδίων και το COI ώστε να αποδείξουν την παρουσία του Νορβηγικού είδους σαλαχιού *Dipturus nidarosiensis* στην Μεσόγειο.

Αξιοσημείωτη δουλειά έχει γίνει και αποκλειστικά για τα είδη ελασμοβράγχιων της Μεσογείου. Οι Vella et al. (2017) χρησιμοποίησαν τεχνικές DNA Barcoding μέσω των γονιδίων COI και NADH για αναγνώριση είδους στα πλαίσια της αλιείας στα ύδατα της Μάλτας (Κεντρική Μεσόγειος), όπου αναγνωρίστηκαν με επιτυχία 36 είδη ελασμοβράγχιων ιχθύων. Μεγάλου σκέλους έρευνα στα πλαίσια του DNA Barcoding έχει πραγματοποιηθεί από τους Cariani et al. (2017) οι οποίοι αλληλούχησαν 42 είδη χονδριχθών (41 είδη ελασμοβράγχιων) μέσω του γονιδίου COI. Σκοπός τους η δημιουργία μιας γενετικής βάσης δεδομένων για τους χονδριχθούς της Μεσογείου και η διευκόλυνση της ταξινομικής τους μέσω φυλογενετικής ανάλυσης και μορφολογικών μετρήσεων, ώστε να παραχθούν τα κατάλληλα δεδομένα για την προστασία και διαχείριση των απειλούμενων αυτών ειδών. Επίσης, οι Barbuto et al. (2010) απέδειξαν την σημασία του DNA Barcoding για τον έλεγχο υποκαταστάσεων στα αλιευτικά προϊόντα προερχόμενα από καρχαρίες στην ιταλική αγορά χρησιμοποιώντας το γονίδιο COI. Όσο αφορά την φυλογενετική, οι Valsecchi et al. (2005) ανέδειξαν την αποτελεσματικότητα της χρήσης της μιτοχονδριακής περιοχής ελέγχου (D-Loop) ως μοριακό δείκτη για πληθυσμούς των σαλαχιών *R. clavata*, *R. miraletus* και *R. asterias* στα ανατολικά και δυτικά Ιταλικά ύδατα. Επιπλέον οι Kousteni et al. (2015), βασισμένοι στις γεωμορφολογικές ιδιαιτερότητες που την χαρακτηρίζουν, εντόπισαν μέσω του γονιδίου COI και μικροδορυφόρων γενετικά διαφορετικούς μεταξύ τους πληθυσμούς για το είδος καρχαρία *Scyliorhinus canicula* στην λεκάνη της Μεσογείου.

Λόγω της χαμηλής εμπορικής αξίας των περισσότερων ειδών ελασμοβράγχιων ιχθύων της Μεσογείου η υπάρχουσα έρευνα είναι ολιγάριθμη συγκριτικά με άλλα, μεγαλύτερης εμπορικής αξίας είδη. Το υψηλό κόστος των μοριακών μεθόδων, καθώς και η τεχνική τους δυσκολία στο παρελθόν πιθανά να αποτέλεσε περιοριστικό παράγοντα στην ευρεία χρήση τους. Λόγω της

διαδεδομένης, πλέον διαθεσιμότητας πληθώρας χαμηλού κόστους και εύχρηστων τεχνικών και εξοπλισμού είναι δυνατή η ευρεία χρήση τους στην έρευνα. Στα ύδατα της Ανατολικής Μεσογείου η γενετική έχει αξιοποιηθεί για την απάντηση ερωτημάτων όπως τα ποσοστά λανθασμένης επισημάνσης του είδους προέλευσης για τα προερχόμενα από ελασμοβράγχιους ιχθύς αλιευτικά προϊόντα. Οι Pazartzi et al. (2019) αλληλούχισαν μέσω DNA Barcoding τα μιτοχονδριακά γονίδια COI και 16S για την ταυτοποίηση είδους αλιευμάτων που πωλούνται υπό την ονομασία 'Γαλέος' σε αγορές ελληνικών πόλεων, αποκαλύπτοντας υψηλά ποσοστά μη προβλεπόμενων και σε πολλές περιπτώσεις απειλούμενων ειδών. Στα πλαίσια της διαχείρισης των αλιευτικών πόρων της Ανατολικής Μεσογείου, οι μοριακές τεχνικές αποτελούν χρήσιμο εργαλείο για την κατανόηση της πληθυσμιακής δομής μεταξύ ειδών. Επίσης, ιδιαίτερα σημαντική είναι η ικανότητα επίλυσης δυσκολιών στην ταυτοποίηση, όπως μορφολογικά όμοια είδη και νεαρά άτομα. Παράδειγμα αποτελεί η εργασία των Tinti et al. (2003) οι οποίοι μέσω της αλληλούχησης του μιτοχονδριακού γονιδίου 16S και της μετέπειτα φυλογενετικής ανάλυσης στόχευσαν στην καλύτερη κατανόηση της πληθυσμιακής δομής μελών της ευάλωτης στις υπάρχουσες αλιευτικές πρακτικές οικογένειας *Rajidae* στην θάλασσα της Αδριατικής. Η συνδυαστική προσέγγιση DNA Barcoding και φυλογενετικής χρησιμοποιήθηκε επίσης από τους Mofteh et al. (2011) για την καταγραφή των καρχαριών των Αιγυπτιακών υδάτων και της δημιουργίας μιας εξειδικευμένης για την περιοχή βάσης δεδομένων, μέσω του γονιδίου COI. Επιπλέον, αξιοσημείωτη είναι η δυνατότητα χρήσης μορφολογικών μετρήσεων και μοριακών δεικτών για την ανάδειξη αποτελεσματικών πρωτοκόλλων αναγνώρισης μεταξύ απειλούμενων ειδών τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν εκτεταμένα σε συνθήκες εργαστηρίου ή πεδίου. Χαρακτηριστικά είδη για τα οποία έχουν αναπτυχθεί τέτοιες μέθοδοι είναι οι καρχαρίες *Mustelus mustelus* και *Mustelus punctulatus* (Marino et al. 2015, Marino et al. 2018). Τέλος, η φυλογενετική ανάλυση μέσω μοριακών δεικτών αποτελεί ισχυρό εργαλείο για την διερεύνηση της πληθυσμιακής δομής και γενετικής συνδεσιμότητας των ελασμοβράγχων, ειδικά για είδη που δέχονται υψηλή αλιευτική πίεση. Εργασίες όπως των Kousteni et al. (2016) για τον καρχαρία *Squalus blainville*, είδος για το οποίο υπάρχουν περιορισμένες πληροφορίες, και του Turan (2008) για την κατανόηση των μεταξύ τους εξελικτικών σχέσεων της οικογένειας *Rajidae* αποτελούν παραδείγματα εφαρμογής των μεθόδων αυτών σε πληθυσμούς της Ανατολικής Μεσογείου.

1.6. Οι μοριακοί δείκτες στην φυλογενετική ανάλυση και η ταξινομική ασάφεια του είδους *Galeus melastomus*

Το σκυλόψαρο *Galeus melastomus* (Rafinesque, 1810) αποτελεί μικρόσωμο, βενθικό είδος καρχαρία της οικογένειας σκυλιορινίδων (*scyliorhinid*), ευρέως κατανεμημένο κατά την ηπειρωτική υφαλοκρηπίδα και άνω πρηνές του Νοτιοανατολικού Ατλαντικού Ωκεανού και της λεκάνης της Μεσογείου Θάλασσας (Compagno 1984). Όσο αφορά την γενετική του είδους, έρευνες έχουν δείξει ότι δεν διαθέτει διακριτή πληθυσμιακή δομή και παρατηρείται υψηλή γενετική συνδεσιμότητα μεταξύ γεωγραφικών περιοχών (Ramírez-Amaro et al. 2017). Συγκεκριμένα δεν υπάρχει χωρική γενετική διαφοροποίηση μεταξύ Ανατολικής και Δυτικής Μεσογείου (Ferrari et al. 2018). Επίσης έχει αποδειχτεί ότι έχει υποστεί πρόσφατη πληθυσμιακή επέκταση (Ferrari et al. 2018, Ramírez-Amaro et al. 2017).

Παρατηρείται συμπατρικά σε σημεία του γεωγραφικού του εύρους και χαρακτηρίζεται από μορφολογική ομοιότητα με το κοντινό του συγγενικά είδος *Galeus atlanticus*. Χάρη στο γεγονός αυτό έχει ξεκινήσει διάλογος για το αν θα έπρεπε να επαναχαρακτηριστούν ως ένα είδος. Επιπλέον, η μορφολογική ομοιότητα και η γεωγραφική αλληλεπικάλυψη μεταξύ των δύο ειδών καθιστά την ταυτοποίηση είδους δύσκολη, παραποιεί τα στατιστικά δεδομένα της παρεμπίπτουσας αλιείας και οδηγεί σε αβεβαιότητα όσο αφορά την διαχείριση των πληθυσμών (Erzini et al. 2002, Coelho et al. 2005, Castilho et al. 2007). Σε τέτοιες περιπτώσεις είναι που οι μοριακές τεχνικές καλούνται να υποστηρίξουν μορφολογικά δεδομένα, ή και να δώσουν απαντήσεις σε περιπτώσεις που τα μορφολογικά χαρακτηριστικά δεν διακρίνονται.

1.7. Σκοπός της διπλωματικής εργασίας

Στα πλαίσια της εργασίας αυτής εφαρμόστηκε η μέσω DNA Barcoding του γονιδίου COI ταυτοποίηση είδους σε δείγματα ελασμοβράγχων ιχθύων της Ανατολικής Μεσογείου, για τα οποία έχουν ήδη πραγματοποιηθεί μορφολογικές μετρήσεις. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε φυλογενετική ανάλυση ώστε να διερευνηθούν οι μεταξύ τους εξελικτικές σχέσεις, με εστίαση στο αμφιλεγόμενο ταξινομικά είδος *Galeus melastomus*.

Σε περιπτώσεις που τα υπό μελέτη δείγματα εμπεριέχουν νεαρά ή μορφολογικά όμοια άτομα, μπορεί να προκύψει δυσκολία κατά τις μορφολογικές μετρήσεις. Οι μοριακές τεχνικές αποτελούν χρήσιμο εργαλείο με το οποίο μπορούν να λειτουργήσουν συμπληρωματικά, ώστε να επαληθευτούν τα μορφολογικά δεδομένα. Επίσης μέσω των φυλογενετικών αναλύσεων προκύπτουν νέα δεδομένα για τις μεταξύ ελασμοβράγχων εξελικτικές σχέσεις, αλλά και επαληθεύονται ή αναθεωρούνται αποτελέσματα παλαιότερων ερευνών. Η ανάπτυξη νέων πρωτοκόλλων και τεχνικών είναι ιδιαίτερα σημαντική, καθώς και η επαλήθευση της αποτελεσματικότητας ήδη χρησιμοποιούμενων, καθώς αυξάνει την υπάρχουσα διαθέσιμη τεχνογνωσία. Επιπλέον, η καταχώρηση νέων αλληλουχιών σε βάσεις δεδομένων διευρύνει τα διαθέσιμα στον επιστημονικό κόσμο γενετικά δεδομένα, τα οποία μπορούν να αξιοποιηθούν και σε μελλοντικές μελέτες.

Ο σκοπός της εργασίας είναι η παραγωγή δεδομένων τα οποία θα αποτελέσουν κομμάτι της ευρείας προσπάθειας για κατανόηση της γενετικής, της πληθυσμιακής δομής και μεταξύ τους εξελικτικών σχέσεων των ελασμοβράγχων ιχθύων της Ανατολικής Μεσογείου, περιοχής για την οποία υπάρχει έλλειψη πληροφοριών γενετικής φύσεως. Η σημαντικότητα αυτής της προσπάθειας διαφαίνεται από την μεγάλη ποικιλία εφαρμογών που έχουν οι μοριακές τεχνικές και τα δεδομένα που παράγουν στην ορθή διαχείριση του θαλάσσιου περιβάλλοντος.

2. ΜΕΘΟΔΟΙ & ΥΛΙΚΑ

2.1. Δείγματα

Χρησιμοποιήθηκαν αρχειακά δείγματα του Τμήματος Βιολογίας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, όπου πραγματοποιήθηκε ταυτοποίηση είδους με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά.

Πίνακας 2.1. Πληροφορίες χρησιμοποιηθέντων δειγμάτων.

ΔΕΙΓΜΑ	ΕΙΔΟΣ	ΜΕΘΟΔΟΣ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗΣ	ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ	ΜΗΚΟΣ/ ΒΑΡΟΣ	ΦΥΛΟ	ΠΕΡΙΟΧΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ
A1	<i>Galeus melastomus</i>	95% Αιθανόλη - 20oC				ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
A2	<i>Galeus melastomus</i>	95% Αιθανόλη - 20oC				ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
A3	<i>Galeus melastomus</i>	95% Αιθανόλη - 20oC				ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
20A1	<i>Prionace glauca</i>	95% Αιθανόλη - 20oC				ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
20A2	<i>Centrophorus granulosus</i>	95% Αιθανόλη - 20oC				ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
20A3	<i>Hexanchus griseus</i>	95% Αιθανόλη - 20oC	22/5/2015	247cm		ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
20A4	<i>Isurus oxyrinchus</i>	95% Αιθανόλη - 20oC	17/7/2015	97cm		ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
20A5	<i>Odontaspis ferox</i>	95% Αιθανόλη - 20oC	04/10/15			ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
20A6	<i>Cetorhinus maximus</i>	95% Αιθανόλη - 20oC				ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
20A7	<i>Alopias superciliosus</i>	95% Αιθανόλη - 20oC				ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
20A8	<i>Prionace glauca</i>	95% Αιθανόλη - 20oC	13/6/2015	280cm		ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
20A9	<i>Prionace glauca</i>	95% Αιθανόλη - 20oC	13/6/2015	266cm		ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
20B1	<i>Hexanchus nakamurai</i>	95% Αιθανόλη - 20oC	18/4/2016	72cm	ΑΡΣΕΝΙΚΟ	ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
20B2	<i>Heptranchias perlo</i>	95% Αιθανόλη - 20oC		100cm		ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
20B3	<i>Heptranchias perlo</i>	95% Αιθανόλη - 20oC		129cm		ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
20C1	<i>Oxynotus centrina</i>	Αποξηραμένο				ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
20C2	<i>Mobular mobular</i>	Κατεψυγμένο - 80oC	07/12/15			ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
20C3	<i>Mobular mobular</i>	Κατεψυγμένο - 80oC	20/9/2016	160 kg		ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
20C4	<i>Oxynotus centrina</i>	Κατεψυγμένο - 80oC	17/10/2015		ΘΗΛΥΚΟ	ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ- ΠΑΛΑΙΟΧΩΡΑ
20C5	<i>Heptranchias perlo</i>	Κατεψυγμένο - 80oC	28/11/2015			ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ- ΚΥΚΛΑΔΕΣ

20C6	<i>Alopias superciliosus</i>	Κατεψυγμένο - 80oC	26/2/2016			ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ
20C7	<i>Odontaspis ferox</i>	Κατεψυγμένο - 80oC	02/12/15		ΘΗΛΥΚΟ	ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ-ΧΙΟΣ
20C8	<i>Hexanchus griseus</i>	Κατεψυγμένο - 80oC	30/9/2015	60kg		ΑΝΑΤΟΛΙΚΗ ΜΕΣΟΓΕΙΟΣ-ΝΟΤΙΑ ΚΡΗΤΗ

2.2. Απομόνωση γονιδιωματικού DNA

Το γονιδιωματικό DNA απομονώθηκε μέσω ενός πρωτοκόλλου φαινόλης-χλωροφόρμης (phenol-chloroform protocol) βασισμένο σε αυτό των Sambrook et al. (1989), το οποίο υποβλήθηκε σε τροποποιήσεις. Ακολουθήθηκαν τα εξής βήματα:

- Τοποθετήθηκε 0.1gr ιστού σε αποστειρωμένο φιαλίδιο. Στη συνέχεια προστέθηκαν 500μl ρυθμιστικού διαλύματος TNE (10mM Tris-Cl/0.1M NaCl/1mM EDTA), 100μl ρυθμιστικού διαλύματος Tris-HCl (1M/7.5pH), 150μl ρυθμιστικού διαλύματος NaCl (1M) ή 125μl NaCl (1.2M), 100μl ρυθμιστικού διαλύματος SDS (10%) και 10μl Πρωτεϊνάση K⁺ (20mg/ml, Proteinase K⁺).
- Αφού αναδεύτηκαν επαρκώς τοποθετήθηκαν για > 2 ώρες στους 55°C.
- Στα φιαλίδια με τα δείγματα προστέθηκαν 300μl Φαινόλη (Phenol) και 300μl ρυθμιστικού διαλύματος SEVAG (Χλωροφόρμη/Ισοαμυλική Αλκοόλη-Chloroform/Iso-Amylic Alcohol 24:1).
- Ανάδευση για τουλάχιστον 10 λεπτά.
- Φυγοκέντριση στα 12000 rpm για 10 λεπτά.
- Μεταφορά του υπερκείμενου σε αποστειρωμένα φιαλίδια.
- Προσθήκη 600μl ρυθμιστικού διαλύματος SEVAG.
- Ανάδευση για 3 λεπτά.
- Φυγοκέντριση στα 12000 rpm για 3 λεπτά.
- Μεταφορά του υπερκείμενου σε αποστειρωμένα φιαλίδια.
- Προσθήκη 1ml παγωμένης αιθανόλης (100%).
- Προσθήκη 15μl οξικού νατρίου (CH₃COONa/3M).
- Τα δείγματα τοποθετήθηκαν στους -20°C για 30 λεπτά.
- Φυγοκέντριση στα 12000 rpm για 10 λεπτά.
- Απόρριψη του υπερκείμενου.
- Προσθήκη 200μl παγωμένης αιθανόλης (70%).
- Φυγοκέντριση στα 12000 rpm για 5 λεπτά.
- Απόρριψη του υπερκείμενου.
- Στέγνωμα του σχηματιζόμενου σφαιριδίου κυττάρων.
- Προσθήκη 80μl H₂O και επαναιώρηση του σφαιριδίου κυττάρων .

Τα αποτελέσματα της απομόνωσης γονιδιωματικού DNA ελέγχθηκαν σε πήκτωμα αγαρόζης 0.8%.

2.3. PCR (Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης)

2.3.1. Εκκινητές

Χρησιμοποιήθηκαν γενικής χρήσης εκκινητές (universal primers) που στοχεύουν την υπομονάδα I της οξειδάσης του κυτοχρώματος c (cytochrome oxidase subunit I - COI), περιοχή μεγέθους περίπου 1500 ζεύγη βάσεων (bp) η οποία βρίσκεται στο μιτοχόνδριο, L5950 (Forward) and H7196

(Reverse) (Normark et al. 1991).

- L5950 (5'-ACAATCACAAAGA(CT)AT(CT)GG-3')
- H7196 (5'-AGAAAATGTTG(AT)GGGAA(AG)AA-3')

2.3.2. Μείγμα PCR

Το μείγμα που χρησιμοποιήθηκε για την PCR αποτελούνταν από 50μl διαλύματος με τα εξής αντιδραστήρια:

- 3μl DNA
- 5μl 10X ρυθμιστικό διάλυμα PCR (PCR buffer-TaKaRa)
- 5μl τριφωσφορικά δεοξυριβονουκλεοτίδια-dNTPs(2mM)(deoxyribonucleotide triphosphate-Jena Bioscience)
- 5μl από κάθε 3mM primer (forward, reverse-Eurofins Genomics)
- 0.5μl LA Taq πολυμεράση (LA Taq polymerase-TaKaRa)
- MgCl₂: 5μl (TaKaRa)
- ddH₂O: 21.5μl

2.3.3. Πρόγραμμα PCR

Ο μέσω PCR πολλαπλασιασμός πραγματοποιήθηκε σε συσκευή PTC-200 thermal cycler (MJ Research) κάτω από τις εξής συνθήκες:

Η αρχική μετουσίωση πραγματοποιείται στους 95°C για 10 λεπτά, ακολουθούν 40 κύκλοι.

Κάθε κύκλος:

Μετουσίωση στους 95°C για 45 δευτερόλεπτα

Ανασυνδυασμός στους 50°C για 45 δευτερόλεπτα

Επιμήκυνση στους 72°C για 2 λεπτά

Τελική επιμήκυνση στους 72°C for 10 λεπτά.

Τα αποτελέσματα της PCR ελέγχθηκαν σε πήκτωμα αгарόζης 1.8%.

2.3.4. Απομόνωση προϊόντων PCR

Για την απομόνωση των προϊόντων της μέσω PCR πολλαπλασιασμού χρησιμοποιήθηκε το NucleoSpin Gel and PCR Clean-up Kit της εταιρίας Macherey-Nagel.

Πρωτόκολλο απομόνωσης DNA από πήκτωμα αгарόζης (DNA extraction from agarose gels):

- Το επιθυμητό τμήμα του DNA αποκόπτεται από το πήκτωμα αгарόζης κάτω από υπεριώδους ακτινοβολία (UV) με ένα καθαρό νυστέρι και τοποθετείται σε φιαλίδιο, περιορίζοντας τον χρόνο έκθεσης σε UV ώστε να μην υποβαθμιστεί η ποιότητα του DNA. Τοποθετείται στους -80°C για 15-30 λεπτά. Για κάθε 100 mg πυκτώματος αгарόζης < 2 % προσθέτουμε 200 μL ρυθμιστικού διαλύματος Buffer NT1. Το δείγμα επωάζεται για 5-10 λεπτά στους 50 °C. Στη συνέχεια, το δείγμα ανακατεύεται μέσω της συσκευής vortex ανά 2-3 λεπτά μέχρι το κομμάτι του πηκτώματος να διαλυθεί πλήρως.
- Δέσμευση DNA. Η κολώνα που προέρχεται από τον εξοπλισμό του πρωτοκόλλου τοποθετείται σε φιαλίδιο συλλογής (2 mL) και φορτώνεται με μέχρι και 700 μL δείγμα. Φυγοκέντριση για 30 δευτερόλεπτα στα 11000xg. Απορρίπτεται το προϊόν της εκροής και η κολώνα επανατοποθετείται στο φιαλίδιο συλλογής. Εάν υπάρχει επιπλέον δείγμα,

- φορτώνεται στην κολώνα και επαναλαμβάνεται η διαδικασία της φυγοκέντρισης.
- Πλύση μεμβράνης πυριτίου. Προστίθενται 700 μL ρυθμιστικού διαλύματος Buffer NT3 στην κολώνα. Πραγματοποιείται φυγοκέντριση για 30 δευτερόλεπτα στα 11000xg. Απορρίπτεται το προϊόν της εκροής και η κολώνα επανατοποθετείται στο φιαλίδιο συλλογής.
- Στέγνωμα μεμβράνης πυριτίου. Φυγοκέντριση για 1 λεπτό στα 11000xg ώστε να αφαιρεθεί πλήρως το Buffer NT3.
- Έκλουση του DNA. Η κολώνα τοποθετείται σε καθαρό φιαλίδιο των 1.5 mL. Προστίθενται 20 μL H_2O και πραγματοποιείται επώαση σε θερμοκρασία δωματίου (18–25 °C) για 3 λεπτά. Φυγοκέντριση για 1 λεπτό στα 11000xg.

Τα αποτελέσματα της απομόνωσης ελέγχθηκαν σε πήκτωμα αγαρόζης 1.8%.

2.4. Κλωνοποίηση

Λόγω χαμηλής συγκέντρωσης του προϊόντος PCR των δειγμάτων 20A2, 20A3, 20A5, 20A6, 20A7, 20B1, 20B2, 20B3, 20C5, 20C8 και της αδυναμίας του να σταλθούν κατευθείαν για αλληλούχιση, κλωνοποιήθηκαν σε πλασμίδιο με βάση το πρωτόκολλο pGEM-T Easy Vector Systems της Promega.

2.4.1. Απολίνωση DNA

Η απολίνωση του DNA (ligation) πραγματοποιήθηκε σε μείγμα που αποτελούνταν από 10 μL διαλύματος με τα εξής αντιδραστήρια:

- 3 μL ένθετο DNA
- 1 μL DNA λιγάση (T4 DNA Ligase)
- 5 μL ρυθμιστικό διάλυμα απολίνωσης (2X Rapid Ligation Buffer)
- 1 μL φορέα κλωνοποίησης (pGEM-T Easy vector)

Στη συνέχεια, οι αντιδράσεις επώαστηκαν επί μια νύχτα σε θερμοκρασία 4°C.

2.4.2. Μεταμόρφωση

Στα προϊόντα της απολίνωσης προστέθηκαν 2001 μL κύτταρα *e.coli*. Στη συνέχεια ακολουθήθηκαν τα εξής βήματα:

- 30 λεπτά στον πάγο.
- 2.5 λεπτά στους 42°C.
- Το φιαλίδιο συμπληρώθηκε μέχρι πάνω με θρεπτικό υλικό (LB medium).
- Επώαση για 1 ώρα στους 37°C.
- Φυγοκέντριση στα 13000rpm για 1 λεπτό.
- Απόρριψη του μεγαλύτερου μέρους του υπερκειμένου (αφήνονται περίπου 200 μL).
- Επαναιώρηση του παραγόμενου σφαιριδίου στο θρεπτικό υλικό που έχει παραμείνει.
- Τα προϊόντα της μεταμόρφωσης στρώνονται σε τρυβλία τα οποία έχουν στρωθεί με θρεπτικό υλικό (LB medium), αμπικιλίνη (ampicillin), X-Gal και IPTG.
- Τα τρυβλία επωάζονται επί μια νύχτα στους 37°C.

2.4.3. Καλλιέργεια κυττάρων

Επιλέχθηκαν λευκές αποικίες για καλλιέργεια, καθώς σύμφωνα με το πρωτόκολλο φέρουν το επιθυμητό ένθετο DNA. Οι επιλεγμένες αποικίες τοποθετήθηκαν σε 5 μL θρεπτικό υλικό (LB medium) και επωάστηκαν σε επωαστήρα ανάδευσης (shake incubator) επί μια νύχτα.

2.4.4. Απομόνωση Πλασμιδίων

Για την απομόνωση των πλασμιδίων χρησιμοποιήθηκε το NucleoSpin Plasmid EasyPure kit της εταιρίας Macherey-Nagel.

Πρωτόκολλο απομόνωσης NucleoSpin Plasmid EasyPure protocol:

- Τοποθετούνται σε φιαλίδιο 2–10 mL κορεσμένης καλλιέργειας *E. coli*/θρεπτικού υλικού LB (LB medium) και φυγοκεντρούνται για 30 δευτερόλεπτα στα >12000xg ώστε να παραχθεί σφαιρίδιο κυττάρων. Απορρίπτεται το υπερκείμενο.
- Λύση κυττάρων. Προστίθενται 150 μ L ρυθμιστικού διαλύματος Buffer A1 και επαναιωρείται το σφαιρίδιο κυττάρων μέσω της συσκευής vortex ή με την πιπέτα. Προστίθενται 250 μ L ρυθμιστικού διαλύματος Buffer A2 και τα αντιδραστήρια αναμειγνύονται μέσω αναστροφής του φιαλιδίου 5 φορές. Επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για μέχρι και 2 λεπτά ή μέχρι το λύμα να είναι διαφανές. Προστίθενται 350 μ L ρυθμιστικού διαλύματος Buffer A3 και τα αντιδραστήρια αναμειγνύονται μέσω αναστροφής του φιαλιδίου μέχρι ο μπλε χρωματισμός των δειγμάτων να γίνει διαφανής.
- Καθαρισμός του λύματος. Φυγοκέντριση για 3 λεπτά στα >12000xg.
- Δέσμευση του DNA. Η κολώνα που προέρχεται από τον εξοπλισμό του πρωτοκόλλου τοποθετείται σε φιαλίδιο συλλογής (2 mL) και φορτώνεται το υπερκείμενο που παράχθηκε από το προηγούμενο βήμα του πρωτοκόλλου. Φυγοκέντριση για 30 δευτερόλεπτα στα 1800xg. Απορρίπτεται το προϊόν της εκροής και η κολώνα επανατοποθετείται στο φιαλίδιο συλλογής. Το βήμα αυτό επαναλαμβάνεται για το εναπομείναν λύμα.
- Πλύση και στέγνωμα μεμβράνης πυριτίου. Προστίθενται 450 μ L ρυθμιστικού διαλύματος Buffer AQ. Φυγοκέντριση για 1 λεπτό στα >12000xg. Απορρίπτεται το φιαλίδιο συλλογής μαζί με το προϊόν της εκροής.
- Έκλουση του DNA. Η κολώνα τοποθετείται σε καθαρό φιαλίδιο των 1.5 mL. Προστίθενται 60 μ L H₂O. Επώαση για 3 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Φυγοκέντριση για 1 λεπτό στα >12000xg.

2.4.5. Πέψεις

Πραγματοποιήθηκαν πέψεις των πλασμιδίων με το ένζυμο ECORI (Promega) για τον εντοπισμό του ένθετου DNA μέσω του παρακάτω διαλύματος 40 μ l:

- 4 μ l Πλασμίδια
- 0.5 μ l ECORI (Promega)
- 4 μ l Ρυθμιστικό διάλυμα 10X (10X Buffer)
- 4 μ l BSA
- 27.5 μ l H₂O

Τα αποτελέσματα της πέψης ελέγχθηκαν σε πήκτωμα αгарόζης 1.8%.

2.5. Αλληλούχιση

Τα δείγματα στάλθηκαν για αλληλούχιση στην Eurofins Genomics. Πραγματοποιήθηκε αλληλούχιση Sanger (Sanger sequencing) χρησιμοποιώντας τους ίδιους με της PCR εκκινητές (L5950, H7196) για τα δείγματα τα οποία στάλθηκαν ως προϊόν PCR (A1, A2, A3, 20A1, 20A4, 20A8, 20A9, 20C1, 20C2, 20C3, 20C4, 20C6, 20C7), ενώ για τα δείγματα τα οποία κλωνοποιήθηκαν (20A2, 20A3, 20A5, 20A6, 20A7, 20B1, 20B2, 20B3, 20C5, 20C8) χρησιμοποιήθηκαν οι τυποποιημένοι εκκινητές της εταιρίας.

2.6. Επεξεργασία δεδομένων

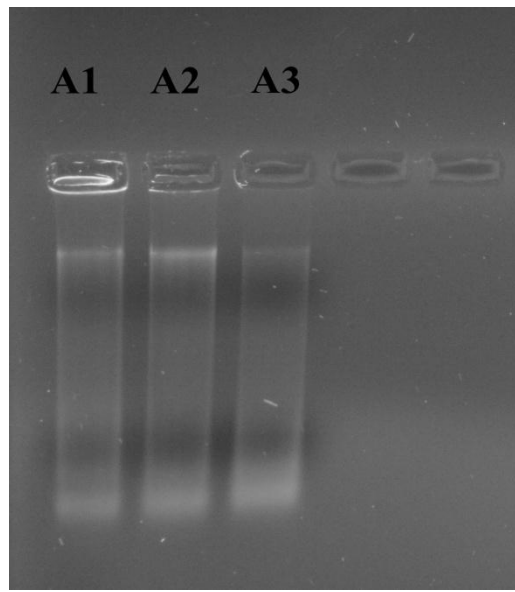
Για την μέσω DNA Barcoding ταυτοποίηση είδους χρησιμοποιήθηκαν όλες οι αλληλουχίες εκτός των 20A3 και 20C3 που δεν απέδωσαν επαρκούς μεγέθους και καθαρό διάβασμα. Οι αλληλουχίες των δειγμάτων αντιστοιχήθηκαν με βάση την ομοιότητά τους σε αλληλουχίες της βάσης δεδομένων GenBank μέσω της μηχανής αναζήτησης BLAST.

Για την φυλογενετική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν οι αλληλουχίες A2, A3, 20A4, 20A6, 20A8, 20A9 20B2, 20B3, 20C2, 20C4, 20C6, 20C7, 20C8 και ως outgroup αλληλουχία του είδους *Chimaera monstrosa* (GenBank: AJ310140.1). Μέσω οπτικής εξέτασης των χρωματογραμμάτων αποφασίστηκε η χρήση τμήματος με έναρξη την αρχή της αλληλουχίας μεγέθους 600 ζεύγη βάσεων (bp), λόγω του ότι αποτελεί το καθαρότερο τμήμα του διαβάσματος. Στη συνέχεια οι αλληλουχίες εξετάστηκαν μέσω του προγράμματος ClustalXn.2.1 όπου και πραγματοποιήθηκε ευθυγράμμιση (alignment). Με το πρόγραμμα MEGA7 δημιουργήθηκε φυλογενετικό δέντρο σύμφωνα με την μέθοδο Μέγιστης Πιθανοφάνειας (Maximum likelihood) βασισμένη στο μοντέλο Kimura 2-parameter (Kimura 1980), υπό συνθήκες ελέγχου φυλογένεσης μέσω bootstrap στα 500 αντίγραφα και υπολογισμό ποσοστών μεταξύ περιοχών μέσω Gamma with invariant sites. Επιπλέον πραγματοποιήθηκε Μπεϋζιανή Ανάλυση (Bayesian Analysis) (Huelsenbeck et al. 2001) μέσω του προγράμματος Mr. Bayes υπό τις παρακάτω συνθήκες. Οι τρεις αντίστοιχοι χώροι των δέντρων διερευνήθηκαν χρησιμοποιώντας τέσσερις αλυσίδες, μία ψυχρή και τρεις θετικά θερμαινόμενες με θερμοκρασία ρυθμισμένη σε τιμή 0.20. Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε μοντέλο εξέλιξης αλληλουχίας GTR, επιτρέποντας μεταξύ περιοχών διακύμανση τιμών σχήματος γάμμα (gamma shape). Λήφθηκαν κατανομές των εκ' των υστέρων πιθανοτήτων (posterior probability) για τις φυλογένιες και προσαρμόστηκαν οι παράμετροι του μοντέλου της εξέλιξης των αλληλουχιών όπου τα τυχαία δέντρα χρησιμοποιήθηκαν ως seeds. Οι χώροι των δέντρων διερευνήθηκαν συνάπτοντας 1000000 γενιές, λαμβάνοντας 100 γενιές ανά δειγματοληψία με τιμή burn-in 100.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

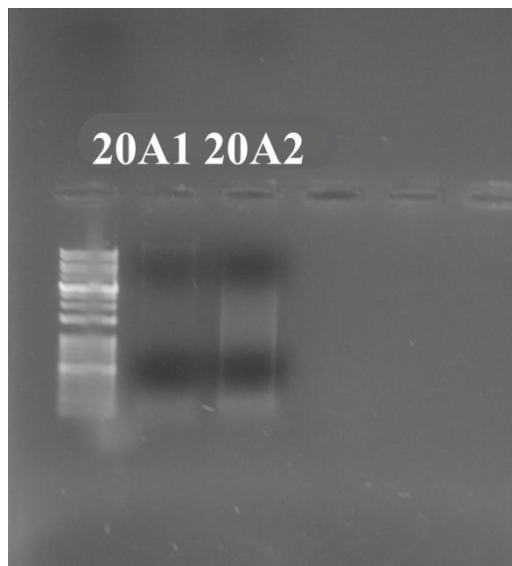
3.1. Απομόνωση γονιδιωματικού DNA

Πραγματοποιήθηκε απομόνωση γονιδιωματικού DNA μέσω ενός τροποποιημένου πρωτοκόλλου φαινόλης-χλωροφόρμης βασισμένο σε αυτό των Sambrook et al. (1989). Η απομόνωση γονιδιωματικού DNA επιβεβαιώθηκε σε πήκτωμα αγαρόζης 0.8%.



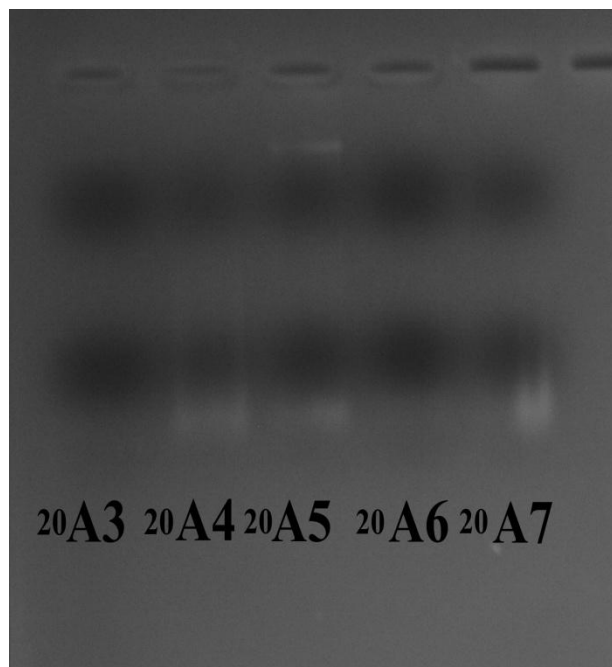
Εικόνα 3.1. Απομόνωση γονιδιωματικού DNA - Δείγματα A1,A2,A3 (*G. melastomus*). Πήκτωμα αγαρόζης 0.8%.

Για τα δείγματα A1, A2 και A3, τα οποία σύμφωνα με τις μορφολογικές μετρήσεις ανήκουν στο είδος *G. melastomus*, απομονώθηκε γονιδιωματικό DNA. Η επιτυχία της απομόνωσης φαίνεται στο παραπάνω πήκτωμα αγαρόζης .



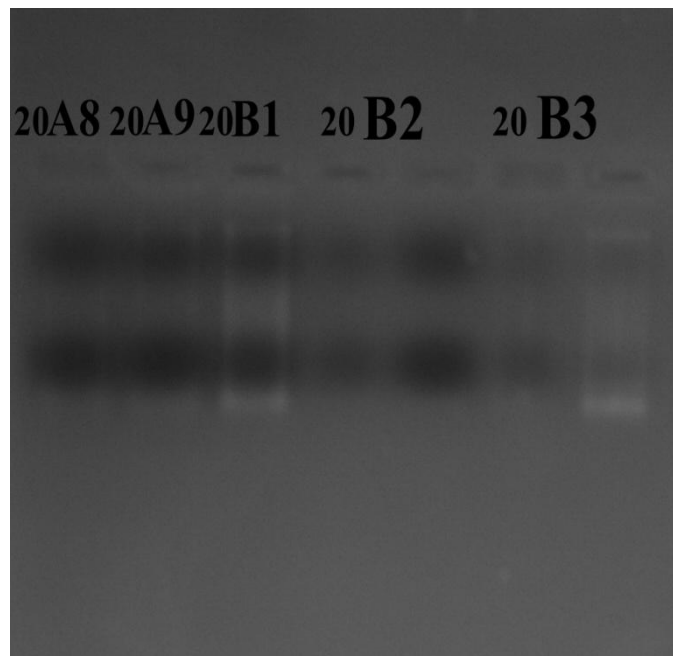
Εικόνα 3.2. Απομόνωση γονιδιωματικού DNA - Δείγματα 20A1 (*P. glauca*), 20A2 (*C. granulosus*). Πήκτωμα αгарόζης 0.8%.

Για τα δείγματα 20A1 και 20A2, τα οποία σύμφωνα με τις μορφολογικές μετρήσεις ανήκουν στα είδη *P. glauca* και *C. granulosus* αντίστοιχα, το γονιδιωματικό DNA απομονώθηκε με επιτυχία. Διακρίνεται στο πήκτωμα αгарόζης η χαμηλή του συγκέντρωση.



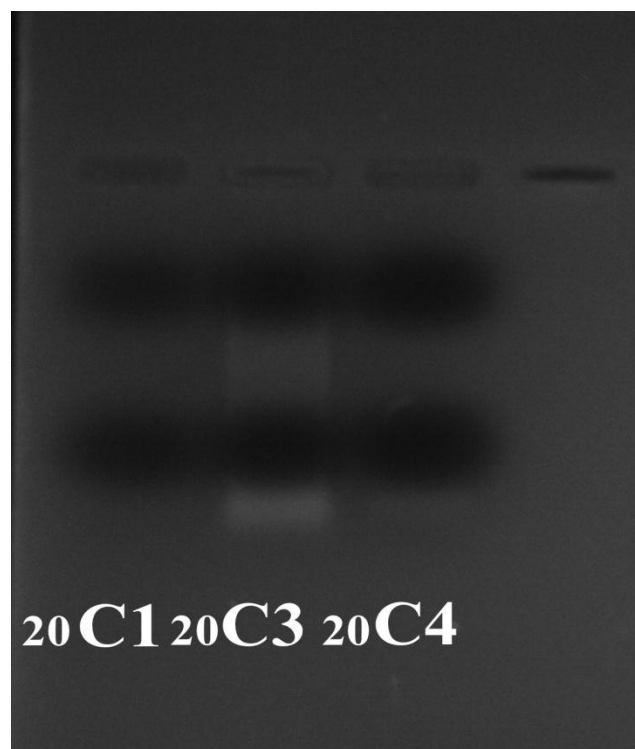
Εικόνα 3.3. Απομόνωση γονιδιωματικού DNA - Δείγματα 20A3 (*H. griseus*), 20A4 (*I. oxyrinchus*), 20A5 (*O. ferox*), 20A6 (*C. maximus*), 20A7 (*A. superciliosus*). Πήκτωμα αгарόζης 0.8%.

Στη συνέχεια απομονώθηκε επιτυχημένα γονιδιωματικό DNA για τα δείγματα 20A3 (*H. griseus*), 20A4 (*I. oxyrinchus*), 20A5 (*O. ferox*), 20A6 (*C. maximus*), 20A7 (*A. superciliosus*). Παρατηρείται χαμηλή συγκέντρωση γονιδιωματικού DNA σε όλα εκτός του δείγματος 20A5.



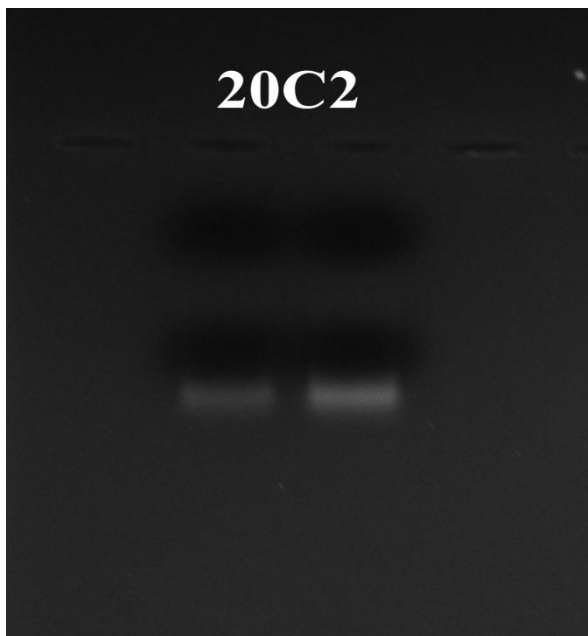
Εικόνα 3.4. Απομόνωση γονιδιωματικού DNA - Δείγματα 20A8 (*P. glauca*), 20A9 (*P. glauca*), 20B1(*H. nakamurai*), 20B2 (*H. perlo*) και 20B3 (*H. perlo*). Πήκτωμα αγαρόζης 0.8%.

Για τα δείγματα 20A8 (*P. glauca*), 20A9 (*P. glauca*), 20B1(*H. nakamurai*), 20B2 (*H. perlo*) και 20B3 (*H. perlo*) απομονώθηκε επιτυχώς γονιδιωματικό DNA. Παρατηρήθηκε χαμηλή συγκέντρωση για τα δείγματα 20A8, 20A9 και 20B2.



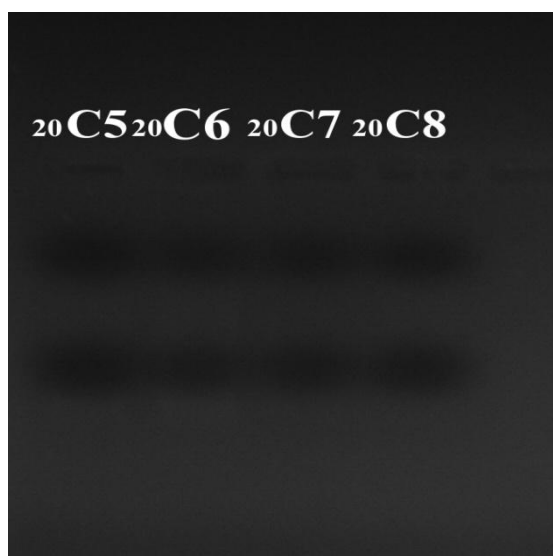
Εικόνα 3.5. Απομόνωση γονιδιωματικού DNA - Δείγματα 20C1 (*O. centrina*), 20C3 (*M. mobular*), 20C4 (*O. centrina*). Πήκτωμα αγαρόζης 0.8%.

Η διαδικασία της απομόνωσης για τα δείγματα 20C1 (*O. centrina*), 20C3 (*M. mobular*), 20C4 (*O. centrina*) απέδωσε χαμηλή συγκέντρωση γονιδιωματικού DNA, ιδιαίτερα για τα δείγματα 20C1 και 20C4.



Εικόνα 3.6. Απομόνωση γονιδιωματικού DNA - Δείγμα 20C2 (*M. mobular*). Πήκτωμα αгарόζης 0.8%.

Επιτυχημένη ήταν η απομόνωση γονιδιωματικού DNA από το δείγμα 20C2 (*M. mobular*), ενώ παρατηρήθηκε χαμηλή συγκέντρωση.

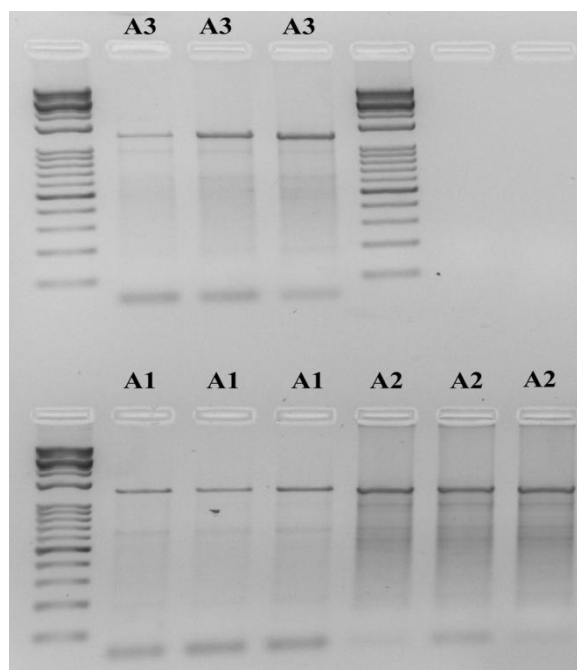


Εικόνα 3.7. Απομόνωση γονιδιωματικού DNA - Δείγματα 20C5 (*H. perlo*), 20C6 (*A. superciliosus*), 20C7 (*O. ferox*), 20C8 (*H. griseus*). Πήκτωμα αгарόζης 0.8%.

Η απομόνωση γονιδιωματικού DNA από τα δείγματα 20C5 (*H. perlo*), 20C6 (*A. superciliosus*), 20C7 (*O. ferox*), 20C8 (*H. griseus*), αν και επιτυχημένη χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερα χαμηλή συγκέντρωση γονιδιωματικού DNA, όπως διαφαίνεται από την αδυναμία διάκρισής του στο παραπάνω πήκτωμα αгарόζης.

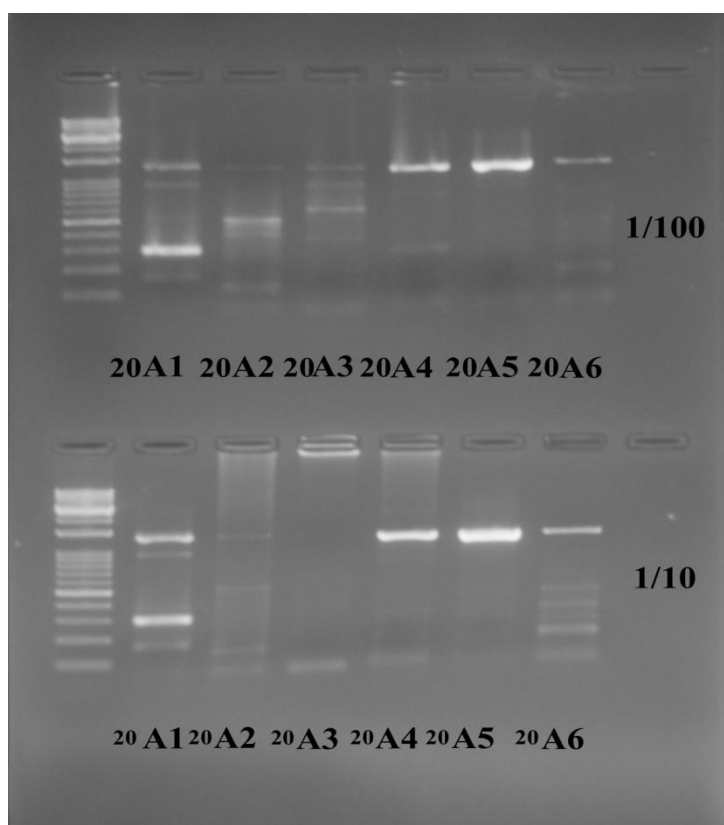
3.2. PCR

Ο επιτυχημένος μέσω PCR πολλαπλασιασμός του γονιδίου στόχευσης επιβεβαιώθηκε σε πήκτωμα αγαρόζης 1.8%. Για όλες τις παραπάνω περιπτώσεις απομόνωσης γονιδιωματικού DNA, ανεξαρτήτου συγκέντρωσης, ήταν δυνατός ο πολλαπλασιασμός του γονιδίου στόχευσης COI. Ανάλογα με την συγκέντρωση γονιδιωματικού DNA του εκάστοτε είδους επιλέχτηκε η χρήση της κατάλληλης αραίωσης κατά την PCR. Στην περίπτωση υψηλότερης συγκέντρωσης αξιοποιήθηκε γονιδιωματικό DNA συγκέντρωσης 1/10 και σε περίπτωση χαμηλής αραίωση 1/100. Ιδιαιτερότητες που προέκυψαν αντιμετωπίστηκαν ανά περίπτωση.



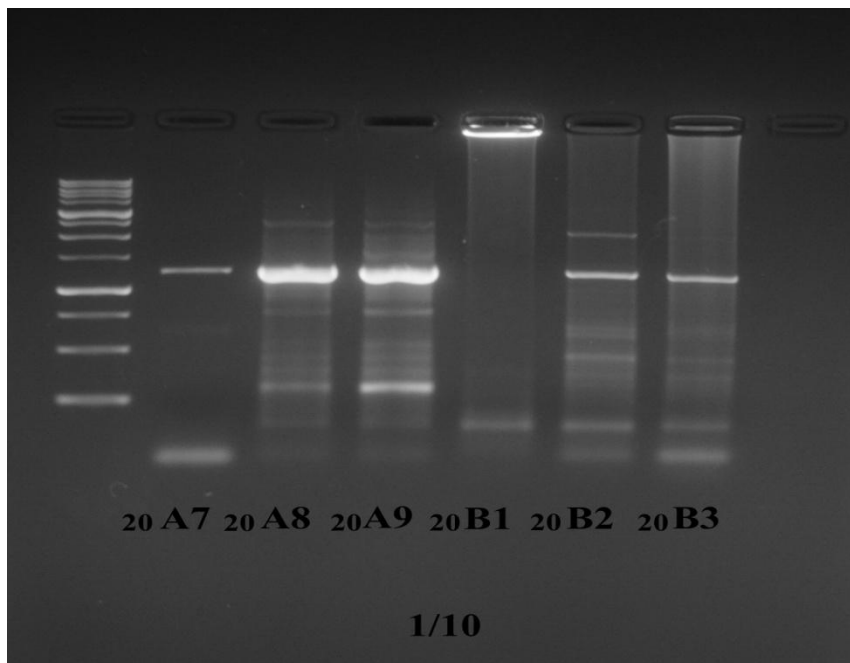
Εικόνα 3.8. Μέσω PCR πολλαπλασιασμός του γονιδίου COI – Δείγματα A1, A2, A3 (*G. melastomus*). Πήκτωμα αγαρόζης 1.8%.

Ο μέσω PCR πολλαπλασιασμός του γονιδίου στόχευσης COI πραγματοποιήθηκε με επιτυχία για τα δείγματα A1, A2, A3 (*G. melastomus*), όπως παρατηρείται από τον ορθό εντοπισμό του στο μέγεθος περίπου 1500bp στο παραπάνω πήκτωμα αγαρόζης.



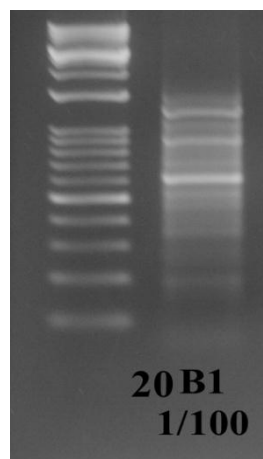
Εικόνα 3.9. Μέσω PCR πολλαπλασιασμός του γονιδίου COI – Δείγματα 20A1 (*P. glauca*), 20A2 (*C. granulatus*), 20A3 (*H. griseus*), 20A4 (*I. oxyrinchus*), 20A5 (*O. ferox*), 20A6 (*C. maximus*). Αραιώσεις 1/10 και 1/100 σε πήκτωμα αγαρόζης 1.8%.

Ο μέσω PCR πολλαπλασιασμός του γονιδίου COI για τα δείγματα 20A1 (*P. glauca*), 20A2 (*C. granulatus*), 20A3 (*H. griseus*), 20A4 (*I. oxyrinchus*), 20A5 (*O. ferox*) και 20A6 (*C. maximus*) πραγματοποιήθηκε για αραιώσεις 1/10 και 1/100 του γονιδιωματικού DNA. Όπως διαφαίνεται από τον εντοπισμό του γονιδίου στο μέγεθος περίπου 1500bp στο παραπάνω πήκτωμα αγαρόζης, η PCR επιτεύχθηκε μέσω αραιώσης 1/10 για τα δείγματα 20A1, 20A2, 20A4, 20A5 και 20A6, με χαμηλή συγκέντρωση προϊόντος PCR για το δείγμα 20A2. Για την αραιώση 1/100 η PCR επιτεύχθηκε για τα δείγματα 20A1, 20A2, 20A3, 20A4, 20A5, 20A6, με χαμηλή συγκέντρωση προϊόντος PCR για τα δείγματα 20A2, 20A3.



Εικόνα 3.10. Μέσω PCR πολλαπλασιασμός του γονιδίου COI – Δείγματα 20A7 (*A. superciliosus*), 20A8 (*P. glauca*), 20A9 (*P. glauca*), 20B1 (*H. nakamurai*), 20B2 (*H. perlo*) και 20B3 (*H. perlo*). Αραίωση 1/10 σε πήκτωμα αγαρόζης 1.8%.

Ο μέσω PCR πολλαπλασιασμός του γονιδίου COI για τα δείγματα 20A7 (*A. superciliosus*), 20A8 (*P. glauca*), 20A9 (*P. glauca*), 20B1 (*H. nakamurai*), 20B2 (*H. perlo*) και 20B3 (*H. perlo*) πραγματοποιήθηκε με επιτυχία για αραίωση 1/10, όπως φαίνεται από τον εντοπισμό του γονιδίου στο μέγεθος περίπου 1500bp στο παραπάνω πήκτωμα αγαρόζης. Για το δείγμα 20B1 δεν ήταν δυνατός ο μέσω PCR πολλαπλασιασμός του γονιδίου, γεγονός που επισημαίνεται από την παρουσία αδιάλυτου DNA, άρα στην συνέχεια χρησιμοποιήθηκε γονιδιωματικό DNA αραίωσης 1/100 κατά την PCR.



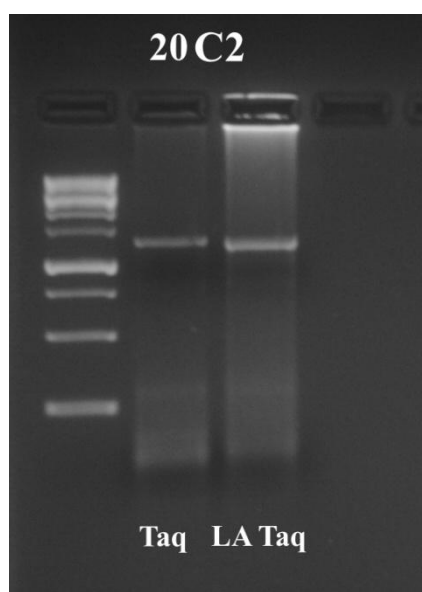
Εικόνα 3.11. Μέσω PCR πολλαπλασιασμός του γονιδίου COI – Δείγμα 20B1 (*H. nakamurai*). Αραίωση 1/100 σε πήκτωμα αγαρόζης 1.8%.

Ο μέσω PCR πολλαπλασιασμός του γονιδίου COI για το δείγμα 20B1 (*H. nakamurai*) πραγματοποιήθηκε με επιτυχία σε αραίωση 1/100, με τον εντοπισμό του γονιδίου στο ορθό μέγεθος των περίπου 1500bp στο παραπάνω πήκτωμα αγαρόζης.



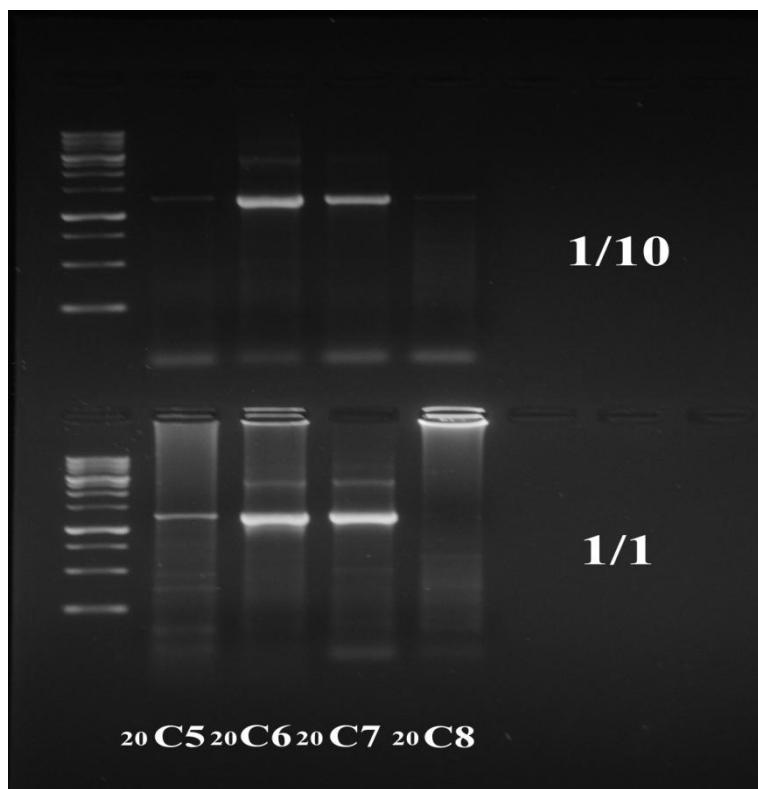
Εικόνα 3.12. Μέσω PCR πολλαπλασιασμός του γονιδίου COI – Δείγματα 20C1 (*O. centrina*), 20C3 (*M. mobular*), 20C4 (*O. centrina*). Αραιώσεις 1/1, 1/10 και 1/100 σε πήκτωμα αγαρόζης 1.8%.

Λόγω του ιδιαίτερα χαμηλής συγκέντρωσης γονιδιωματικού τους DNA χρησιμοποιήθηκε τουλάχιστον μια αραιώση 1/1 ή 1/10 για κάθε δείγμα. Για το δείγμα 20C1 (*O. centrina*) ο μέσω PCR πολλαπλασιασμός του γονιδίου COI επιτεύχθηκε με υψηλή συγκέντρωση για αραιώση 1/1 και χαμηλή για αραιώση 1/10. Στη συνέχεια για το δείγμα 20C3 (*M. mobular*) παρατηρήθηκε υψηλής συγκέντρωσης προϊόν PCR και για τις δυο αραιώσεις 1/1 και 1/100. Τέλος, για το δείγμα 20C4 (*O. centrina*) το προϊόν PCR ήταν υψηλής συγκέντρωσης για την αραιώση 1/10 και χαμηλότερης για συγκέντρωση 1/100.



Εικόνα 3.13. Μέσω PCR πολλαπλασιασμός του γονιδίου COI – Δείγμα 20C2 (*M. mobular*). Αραιώση 1/10 σε πήκτωμα αγαρόζης 1.8%.

Ο μέσω PCR πολλαπλασιασμός του γονιδίου COI για το δείγμα 20C2 (*M. mobular*) πραγματοποιήθηκε με επιτυχία για αραιώση 1/10 σύμφωνα με τον εντοπισμό του γονιδίου στο ορθό μέγεθος των περίπου 1500bp στο πήκτωμα αγαρόζης. Χρησιμοποιήθηκαν δύο μείγματα PCR, ένα με LA Taq και ένα με κοινή Taq, ώστε να επαληθευτεί η δυνατότητα χρήσης της κοινής Taq διότι για τα αρχικά δείγματα αδυνατούσε να πραγματοποιηθεί PCR μέσω αυτής.

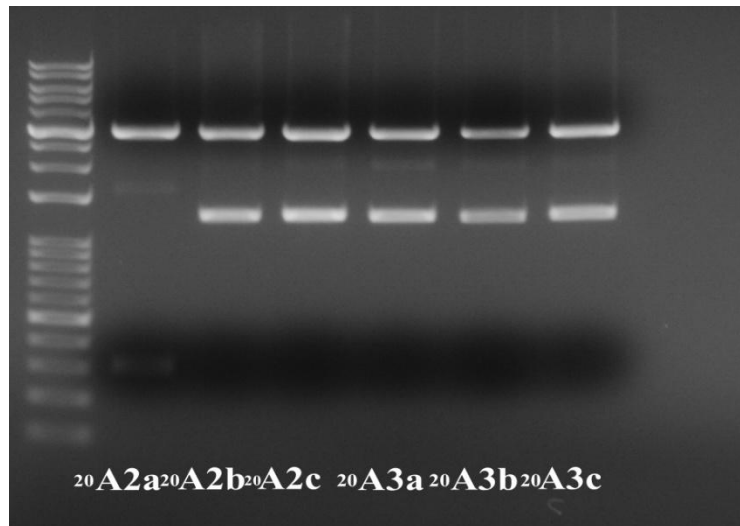


Εικόνα 3.14. Μέσω PCR πολλαπλασιασμός του γονιδίου COI – Δείγματα 20C5 (*H. perlo*), 20C6 (*A. superciliosus*), 20C7 (*O. ferox*) και 20C8 (*H. griseus*). Αραιώσεις 1/1 και 1/10 σε πήκτωμα αγαρόζης 1.8%.

Λόγω της ιδιαίτερα χαμηλής συγκέντρωσης του γονιδιωματικού τους DNA και της αδυναμίας διάκρισής τους στο πήκτωμα αγαρόζης, ο μέσω PCR πολλαπλασιασμός του γονιδίου COI των δειγμάτων 20C5 (*H. perlo*), 20C6 (*A. superciliosus*), 20C7 (*O. ferox*) και 20C8 (*H. griseus*) πραγματοποιήθηκε για αραιώσεις 1/1 και 1/10. Η PCR επιτεύχθηκε μέσω αραιώσης 1/1 για τα δείγματα 20C5, 20C6 και 20C7, ενώ για το δείγμα 20C8 το DNA ήταν αδιάλυτο. Για αραιώση 1/10 η PCR επιτεύχθηκε για όλα τα δείγματα, με υψηλή συγκέντρωση προϊόντος PCR στα δείγματα 20C6 και 20C7 και χαμηλή στα 20C5 και 20C8.

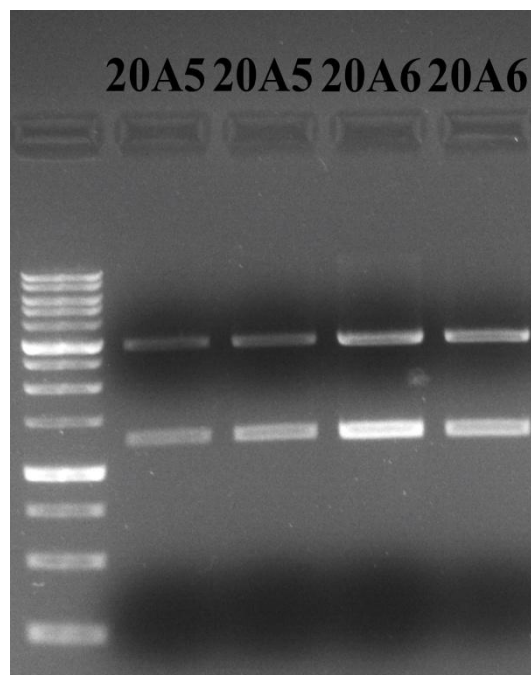
3.3. Κλωνοποίηση

Στα δείγματα 20A2 (*C. granulosus*), 20A3 (*H. griseus*), 20A5 (*O. ferox*), 20A6 (*C. maximus*), 20A7 (*A. superciliosus*), 20B1 (*H. nakamurai*), 20B2 (*H. perlo*) και 20B3 (*H. perlo*), 20C5 (*H. perlo*) και 20C8 (*H. griseus*) η συγκέντρωση προϊόντος PCR ήταν ιδιαίτερα χαμηλή, εμποδίζοντας την απευθείας αποστολή για αλληλούχιση. Συνεπώς πραγματοποιήθηκε κλωνοποίηση του γονιδίου στόχευσης COI σε πλασμίδιο. Η επιτυχία της κλωνοποίησης επιβεβαιώθηκε μέσω πέσεων με το ένζυμο ECORI, οι οποίες ελέγχθηκαν σε πήκτωμα αγαρόζης 1.8%.



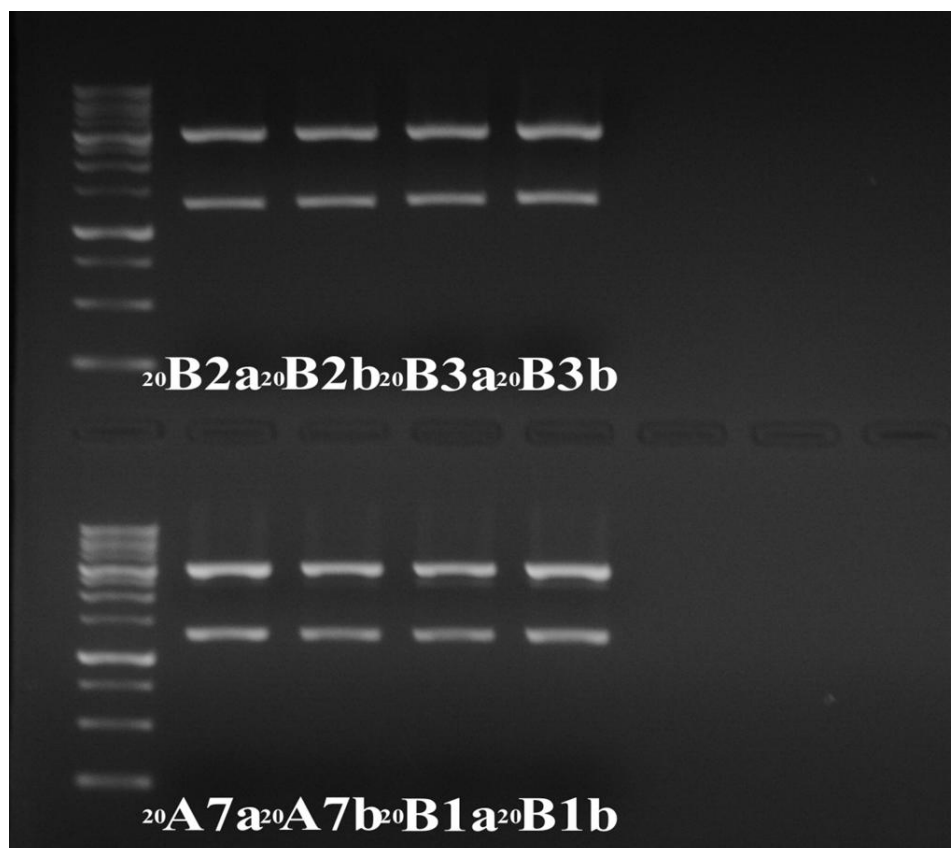
Εικόνα 3.15. Αποτέλεσμα κλωνοποίησης, πέψη μέσω ενζύμου ECORI – Δείγματα 20A2 (*C. granulatus*) και 20A3 (*H. griseus*). Πήκτωμα αγαρόζης 1.8%.

Στο παραπάνω πήκτωμα αγαρόζης εντοπίζεται η επιτυχημένη κλωνοποίηση του γονιδίου στόχευσης COI για τα δείγματα 20A2 (*C. granulatus*) και 20A3 (*H. griseus*). Από τις τρεις διαφορετικές αποικίες που λήφθηκαν για το δείγμα 20A2 επιτεύχθηκε η κλωνοποίηση για τα 20A2b και 20A2c, όπου διακρίνεται ταυτόχρονα η παρουσία του πλασμιδίου μεγέθους 3015bp και του ένθετου DNA μεγέθους περίπου 1500bp. Στην περίπτωση του 20A2a εντοπίζεται μόνο το πλασμίδιο, γεγονός που αποδεικνύει την αποτυχία της κλωνοποίησης. Από τις τρεις διαφορετικές αποικίες που λήφθηκαν για το δείγμα 20A3 επιτεύχθηκε κλωνοποίηση σε όλες τις περιπτώσεις, όπου διακρίνεται ταυτόχρονα η παρουσία του πλασμιδίου και του ένθετου DNA στα ορθά μεγέθη.



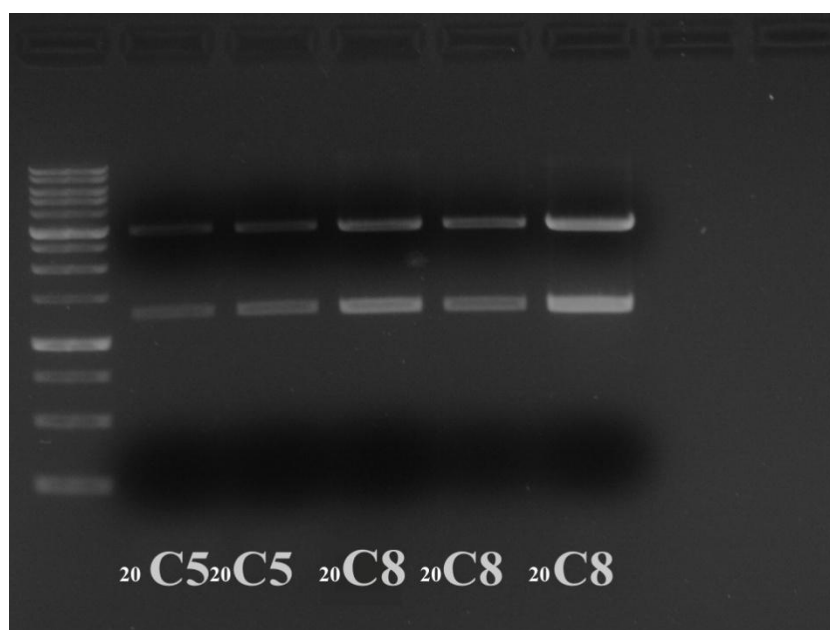
Εικόνα 3.16. Αποτέλεσμα κλωνοποίησης, πέψη μέσω ενζύμου ECORI – Δείγματα 20A5 (*O. ferox*), 20A6 (*C. maximus*). Πήκτωμα αγαρόζης 1.8%.

Επιτυχημένη αποδεικνύεται η κλωνοποίηση του γονιδίου στόχευσης σε όλες τις αξιοποιημένες αποικίες των δειγμάτων 20A5 (*O. ferox*) και 20A6 (*C. maximus*), όπου διακρίνεται ταυτόχρονα η παρουσία του πλασμιδίου μεγέθους 3015bp και του ένθετου DNA μεγέθους περίπου 1500bp.



Εικόνα 3.17. Αποτέλεσμα κλωνοποίησης, πέψη μέσω ενζύμου ECORI – Δείγματα 20A7 (*A. superciliosus*), 20B1 (*H. nakamurai*), 20B2 (*H. perlo*) και 20B3 (*H. perlo*). Πήκτωμα αгарόζης 1.8%.

Ως αντίστοιχα επιτυχημένη αναγνωρίζεται η κλωνοποίηση των δειγμάτων 20A7 (*A. superciliosus*), 20B1 (*H. nakamurai*), 20B2 (*H. perlo*) και 20B3 (*H. perlo*), όπου για όλες τις χρησιμοποιούμενες αποικίες διακρίνεται ταυτόχρονα η παρουσία του πλασμιδίου μεγέθους 3015bp και του ένθετου DNA μεγέθους περίπου 1500bp.



Εικόνα 3.18. Αποτέλεσμα κλωνοποίησης, πέψη μέσω ενζύμου ECORI – Δείγματα 20C5 (*H. perlo*) και 20C8 (*H. griseus*). Πήκτωμα αгарόζης 1.8%.

Τέλος, με επιτυχία πραγματοποιήθηκε η κλωνοποίηση για τα δείγματα 20C5 (*H. perlo*) και 20C8 (*H. griseus*), όπου για όλες τις χρησιμοποιούμενες αποικίες διακρίνεται ταυτόχρονα η παρουσία του πλασμιδίου μεγέθους 3015bp και του ένθετου DNA μεγέθους περίπου 1500bp. Σημειώνεται ότι διακρίνονται διαφορές στις συγκεντρώσεις μεταξύ χρησιμοποιούμενων αποικιών του ίδιου δείγματος και επιλέχθηκαν για αλληλούχιση αυτές με την υψηλότερη συγκέντρωση. Επίσης, στις πέψεις των αποικιών του δείγματος 20C5 το πλασμίδιο είναι δυσδιάκριτο.

3.4. DNA Barcoding

Τα δείγματα επεξεργάστηκαν μέσω του μηχανισμού αναζήτησης της βάσης δεδομένων BLAST. Όλα τα δείγματα εκτός των 20A3 και 20C3 αντιστοιχίστηκαν σε είδος. Η αλληλούχιση των δειγμάτων 20A3 και 20C3 δεν απέδωσε αρκετά μεγάλο μέγεθος βάσεων ώστε να μπορούν να αντιστοιχηθούν σε είδος (>250bp) μέσω του γονιδίου COI, πιθανά λόγω υποβαθμισμένου DNA του ιστού των δειγμάτων. Το δείγμα 20A1, ενώ αντιστοιχίστηκε σε είδος δεν θεωρείται αξιόπιστο αποτέλεσμα λόγω πιθανού σφάλματος κατά την αρχειοθέτηση. Οι τιμές ομοιότητας (Identity) του BLAST ήταν αρκετά υψηλές ώστε να θεωρηθούν αξιόπιστα τα αποτελέσματα των αντιστοιχιών για όλα τα δείγματα εκτός του A1, καθώς απαιτείται τιμή ομοιότητας άνω του 98% για αντιστοιχία σε είδος. Θεωρείται ότι μπορεί να ληφθεί υπ' όψη μόνο η αντιστοιχία σε γένος στην προκειμένη περίπτωση. Η γενετική ταυτοποίηση του δείγματος 20B1, μορφολογικά αναγνωρισμένου ως *Hexanchus nakamurai*, στο είδος *Hexanchus griseus* πιθανά οφείλεται στο ότι το δείγμα ιστού ανήκει σε νεαρό άτομο και στην μορφολογική ομοιότητα των δύο αυτών συγγενικών ειδών, γεγονός που καθιστά την μορφολογική τους αναγνώριση δύσκολη.

Πίνακας 3.1. Αντιστοιχίες δειγμάτων μέσω της βάσης δεδομένων BLAST.

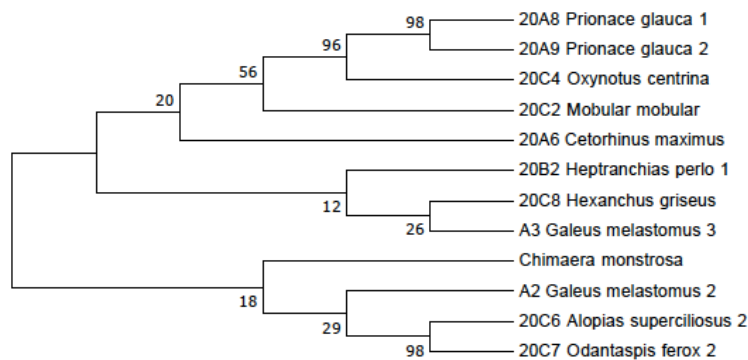
ΔΕΙΓΜΑ	ΕΙΔΟΣ (Μορφολογικές Μετρήσεις)	ΕΙΔΟΣ (DNA BARCODING)	BLAST Identity
A1	<i>Galeus melastomus</i>	<i>Galeus melastomus</i>	97.66%
A2	<i>Galeus melastomus</i>	<i>Galeus melastomus</i>	99.68%
A3	<i>Galeus melastomus</i>	<i>Galeus melastomus</i>	99.84%

20A1	<i>Prionace glauca</i>	<i>Prionace glauca</i>	99.89%
20A2	<i>Centrophorus granulosus</i>	<i>Glaucostegus cemiculus</i>	99.84%
20A3	<i>Hexanchus griseus</i>	-	-
20A4	<i>Isurus oxyrinchus</i>	<i>Isurus oxyrinchus</i>	98.91%
20A5	<i>Odontaspis ferox</i>	<i>Odontaspis ferox</i>	99.85%
20A6	<i>Cetorhinus maximus</i>	<i>Cetorhinus maximus</i>	99.10%
20A7	<i>Alopias superciliosus</i>	<i>Alopias superciliosus</i>	99.58%
20A8	<i>Prionace glauca</i>	<i>Prionace glauca</i>	99.59%
20A9	<i>Prionace glauca</i>	<i>Prionace glauca</i>	99.70%
20B1	<i>Hexanchus nakamurai</i>	<i>Hexanchus griseus</i>	99.85%
20B2	<i>Heptanchias perlo</i>	<i>Heptanchias perlo</i>	98.59%
20B3	<i>Heptanchias perlo</i>	<i>Heptanchias perlo</i>	98.74%
20C1	<i>Oxynotus centrina</i>	<i>Oxynotus centrina</i>	99.64%
20C2	<i>Mobular mobular</i>	<i>Mobular mobular</i>	99.50%
20C3	<i>Mobular mobular</i>	-	-
20C4	<i>Oxynotus centrina</i>	<i>Oxynotus centrina</i>	100.00%
20C5	<i>Heptanchias perlo</i>	<i>Alopias superciliosus</i>	99.04%
20C6	<i>Alopias superciliosus</i>	<i>Alopias superciliosus</i>	100.00%
20C7	<i>Odontaspis ferox</i>	<i>Odontaspis ferox</i>	100.00%
20C8	<i>Hexanchus griseus</i>	<i>Hexanchus griseus</i>	99.85%

3.5. Φυλογενετική Ανάλυση

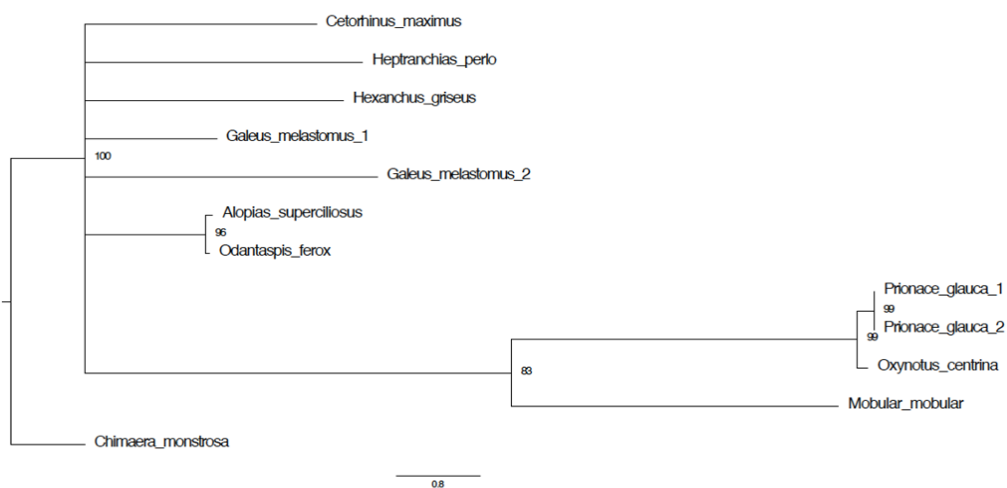
Έπειτα από οπτική εξέταση των αποτελεσμάτων της ευθυγράμμισης και επανεξέταση των χρωματογραμμάτων αποφασίστηκε η χρήση 570 bp από τα αρχικά 600 bp, όπου αφαιρέθηκαν 30 bp από την αρχή των αλληλουχιών λόγω του ότι το διάβασμα δεν ήταν αρκετά καθαρό σε αυτό τμήμα τους. Στη συνέχεια αφαιρέθηκαν από την φυλογενετική ανάλυση τα δείγματα 20A4 και 20B3 λόγω του ότι η καθαρότητα του διαβάσματός τους δεν ήταν επαρκής, και κατά τις πρώτες απόπειρες ανάλυσης των δεδομένων διαστρέβλωναν τα αποτελέσματα των φυλογενετικών δέντρων.

Σύμφωνα με το φυλογενετικό δέντρο που δημιουργήθηκε με τη μέθοδο Μέγιστης Πιθανοφάνειας (Maximum Likelihood), τα είδη *P. glauca*, *O. centrina*, *M. mobular* και *C. maximus* σχηματίζουν μεταξύ τους παραφυλετική ομάδα. Μεταξύ των *P. glauca* και *O. centrina* παρατηρήθηκε υψηλή αξία υποστήριξης bootstrap με τιμή 96, ενώ μεταξύ αυτών και του *M. Mobular* χαμηλή με τιμή 56. Ακόμα χαμηλότερη αξία υποστήριξης bootstrap με τιμή 20 παρατηρήθηκε μεταξύ των προαναφερόμενων ειδών και του *C. maximus*. Μονοφυλετικές ομάδες σχηματίζουν μεταξύ τους τα είδη *H. perlo* και *H. griseus* με το ένα δείγμα του είδους *G. melastomus*, καθώς και τα είδη *C. monstrosa*, *A. superciliosus* και *O. ferox* με το δεύτερο δείγμα του είδους *G. melastomus*. Στην συστάδα των *H. perlo*, *H. griseus* και *G. melastomus* μεταξύ των ειδών *H. griseus* και *G. melastomus* καταγράφηκε χαμηλή αξία υποστήριξης bootstrap με τιμή 26, ενώ μεταξύ αυτών και του *H. perlo* ακόμα χαμηλότερη με τιμή 12. Όσο αφορά τη συστάδα των *C. monstrosa*, *A. superciliosus*, *O. ferox* και *G. melastomus*, μεταξύ των *A. superciliosus* και *O. ferox* παρατηρήθηκε υψηλή αξία υποστήριξης bootstrap με τιμή 98, ενώ μεταξύ αυτών και του *G. melastomus* χαμηλή με τιμή 29. Τέλος, το είδος *C. monstrosa* που χρησιμοποιήθηκε ως outgroup διαχωρίζεται από τα υπόλοιπα είδη της συστάδας και διαθέτει χαμηλή αξία υποστήριξης bootstrap 18.



Εικόνα 3.19. Φυλογενετικό δέντρο - Μέγιστη Πιθανοφάνεια.

Σύμφωνα με το φυλογενετικό δέντρο που δημιουργήθηκε με τη μέθοδο της Μπεϋζιανής Ανάλυσης (Bayesian Analysis), τα είδη *C. maximus*, *H. perlo*, *H. griseus*, *G. melastomus*, *A. superciliosus* και *O. ferox* σχηματίζουν παραφυλετική ομάδα με αξία υποστήριξης bootstrap 96. Επιπλέον, τα είδη *P. glauca*, *O. centrina* και *M. mobular* αποτελούν μονοφυλετική ομάδα με αξία υποστήριξης bootstrap 88, με συστάδα αποτελούμενη από τα είδη *P. glauca* και *O. centrina* να διαθέτει υψηλή αξία υποστήριξης bootstrap με τιμή 99. Ως outgroup, το είδος *C. monstrosa* τοποθετείται ορθώς εκτός του κύριου άξονα του φυλογενετικού δέντρου.



Εικόνα 3.20. Φυλογενετικό δέντρο - Μπεϋζιανή Ανάλυση.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Πληθώρα ερευνών έχουν αποδείξει την αποτελεσματικότητα της χρήσης του γονιδίου COI στα πλαίσια του DNA Barcoding, καθώς και την μέσω αυτού ταυτοποίηση δείγματος σε είδος. Τα αποτελέσματα της παρούσας διπλωματικής εργασία βρίσκονται σε συμφωνία με την υπάρχουσα βιβλιογραφία καθώς τα είδη στα οποία ανήκουν τα περισσότερα δείγματα ταυτοποιήθηκαν με επιτυχία σύμφωνα με την βάση δεδομένων BLAST. Εξαίρεση αποτέλεσαν οι περιπτώσεις αδυναμίας παραγωγής αλληλουχίας επαρκούς μεγέθους για το γονίδιο COI. Σε αυτή την περίπτωση θεωρήθηκε ότι τα δείγματα αυτά διαθέτουν υποβαθμισμένο DNA, και θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν μελλοντικά υψηλότερης ακρίβειας πρωτόκολλα απομόνωσης γονιδιωματικού DNA και πιο συγκεκριμένοι εκκινητές κατά την PCR. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι κάποια δείγματα αντιστοιχήθηκαν σε διαφορετικά είδη από αυτά που ορίζει η μορφολογική ταυτοποίηση. Λόγω ότι όλα εκτός του δείγματος 20B1 πρόκεινται για είδη υπερβολικά μακρινής συγγένειας ώστε να αμφισβητηθεί είτε η μορφολογική, είτε η μοριακή ταυτοποίηση θεωρούμε ότι υπήρξε σφάλμα κατά την αρχειοθέτηση.

Ειδική περίπτωση αποτελεί το δείγμα 20B1 καθώς κατά την μορφολογική του ανάλυση αναγνωρίστηκε ως *Hexanchus nakamurai*, ενώ κατά τη μοριακή του ταυτοποίηση αντιστοιχήθηκε στο συγγενικό του είδος *Hexanchus griseus*. Οι εξαβράγχιοι καρχαρίες του γένους *Hexanchus* (*Hexanchiformes*, *Hexanchidae*) αποτελούν μεγάλωσους ελασμοβράγχιους ιχθύες που διαβιούν σε μεγάλα βάθη και θεωρούνται από τα αρχαιότερα γενεαλογικά είδη σπονδυλωτών. Διαθέτουν υψηλά συντηρημένα μορφολογικά χαρακτηριστικά και παρατηρείται δυσκολία στην αναλυτική ταξινομική τους μελέτη. Επιπλέον, λόγω του δυσμενούς, δύσκολα προσβάσιμου περιβάλλοντος διαβίωσής τους, δείγματα αυτού του γένους ελασμοβράγχιων είναι σπάνια. Τα παραπάνω οδηγούν στην δυσκολία περιγραφής της άλφα ταξινομικής (alpha taxonomy), γεωγραφικής κατανομής και λεπτομερούς χαρακτηρισμού του κύκλου ζωής του γένους για τις περισσότερες περιοχές όπου συναντάται (Daly-Engel et al. 2018). Λόγω περιβαλλοντικών βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων, στα είδη που διαβιούν σε μεγάλα βάθη παρατηρούνται πιο αργοί ρυθμοί στην ανάπτυξη και άλλες πτυχές του κύκλου ζωής συγκριτικά με είδη ρηχότερων υδάτων. Το γεγονός αυτό μπορεί να οδηγήσει σε χαμηλότερους ρυθμούς μεταβολισμού των ειδών βαθέων υδάτων, οδηγώντας σε αργότερους ρυθμούς μοριακής εξέλιξης, ειδογένεσης και μορφολογικής απόκλισης (Brown et al. 1979, Daly-Engel et al. 2018, Daly-Engel et al. 2010, Martin et al. 1992, Sorenson et al. 2014).

Η κοινώς χρησιμοποιούμενη μεθοδολογία για την μορφολογική διαφοροποίηση μεταξύ των ειδών *H. nakamurai* και *H. griseus* είναι η καταμέτρηση των δοντιών, κατά την οποία παρατηρούνται στο είδος *H. nakamurai* πέντε κάτω πλάκες δοντιών σε κάθε πλευρά της γνάθου και έξι στο είδος *H. griseus*. Περεταίρω διαφοροποίηση του *H. nakamurai* από τον *H. griseus* επιτυγχάνεται μέσω της μεγαλύτερης ραχιαίας-ουραίας περιοχής που προκύπτει από την τοποθεσία του ραχιαίου πτερυγίου πρόσθια του του εδρικού πτερυγίου. Όσο αφορά την μοριακή τους ταυτοποίηση, σύμφωνα με την εργασία των Daly-Engel et al. (2018) η μεταξύ ειδών γενετική απόσταση ως ποσοστό απόκλισης αλληλουχίας για το γένος *Hexanchus* κυμαίνεται από 7.037 μέχρι 8.200 %, ενώ εντός του ίδιου είδους από < 0.001 μέχρι 0.340 %. Καθώς στην παραπάνω μελέτη χρησιμοποιήθηκαν τα γονίδια COI και ND2 λαμβάνεται υπ' όψη ότι το ND2 χαρακτηρίζεται από υψηλότερο ρυθμό εξέλιξης και πολυμορφισμό, γεγονός που πιθανά έχει συντελέσει στην αύξηση του μεγέθους τιμών απόκλισης. Αναφέρεται και η μελέτη των Ward et al. (2007) όπου πραγματοποιήθηκε DNA Barcoding 654 ζευγών βάσεων του γονιδίου COI για 15 είδη σκυλόψαρων βαθέων υδάτων του γένους *Squalus*, όπου παρατηρήθηκε ότι η μέση μεταξύ διαφορετικών ειδών απόκλιση αλληλουχίας είναι 4.35 ± 0.23 %, ενώ εντός ίδιων ειδών είναι 0.17 ± 0.05 %. Καθώς η αλληλουχία του δείγματος 20B1 αντιστοιχήθηκε μέσω της μηχανής αναζήτησης του BLAST στο είδος *Hexanchus griseus* με ποσοστό ομοιότητας αλληλουχίας (Sequence Identity) 99.85%, με βάση τα μέχρι τώρα δεδομένα το παρών αποτέλεσμα μπορεί να θεωρηθεί αληθές.

Τέλος, επειδή το γένος *Hexanchus* χαρακτηρίζεται από ταξινομική ασάφεια η οποία διαφαίνεται και από την παρούσα διπλωματική εργασία, συμπεραίνεται ότι θα μπορούσαν να πραγματοποιηθούν αναλυτικότερες μελέτες για την καλύτερη κατανόηση των μεταξύ ειδών φυλογενετικών σχέσεων.

Όσο αφορά την φυλογενετική ανάλυση, το δέντρο που προέκυψε μέσω της μεθόδου Μέγιστης Πιθανοφάνειας δεν μπορεί να θεωρηθεί έμπιστο λόγω των ιδιαίτερα χαμηλών τιμών της αξίας υποστήριξης bootstrap, της παρουσίας του είδους που χρησιμοποιήθηκε ως outgroup εντός του κύριου άξονα του φυλογενετικού δέντρου και της τοποθεσίας των δύο δειγμάτων του είδους *G. melastomus* σε διαφορετικές περιοχές του δέντρου. Το γεγονός αυτό αποδεικνύει την ανακρίβεια αυτής της μεθόδου στον υπολογισμό των εξελικτικών σχέσεων για τα δεδομένα της εργασίας αυτής ειδικά εφ' όσον το outgroup, είδος επιλεγμένο λόγω της μεγάλης του εξελικτικής απόστασης από τα υπόλοιπα είδη της μελέτης, δεν τοποθετήθηκε εκτός του κύριου άξονα του δέντρου. Η αδυναμία αυτή του προσδιορισμού των εξελικτικών σχέσεων πιθανά οφείλεται στο μικρό μέγεθος των χρησιμοποιηθέντων δεδομένων και μήκους αλληλουχιών (570bp). Αντιθέτως, το φυλογενετικό δέντρο το οποίο δημιουργήθηκε με την μεγαλύτερης ακρίβειας μέθοδο της Μπεϋζιανής Ανάλυσης διαθέτει υψηλές τιμές αξίας υποστήριξης bootstrap και το outgroup ορθώς τοποθετημένο εκτός του κύριου άξονα του δέντρου, άρα θεωρείται κατάλληλο για περαιτέρω ανάλυση. Τα είδη της τάξης *Lamniformes* και *Hexanchiformes* σχηματίζουν μεταξύ τους συστάδα, με τα είδη *A. superciliosus* και *O. ferox* να ξεχωρίζουν ως κοντινά συγγενικά. Σημειώνεται η τοποθεσία του *G. melastomus*, είδος της τάξης *Carcharhiniformes*, εντός της συστάδας αυτής αντί της τοποθεσίας του κοντά στο ίδιας τάξης είδος *P. glauca*. Επίσης εντός της μονοφυλετικής ομάδας που σχηματίζεται από ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα της κάθε τάξης των *Myliobatiformes*, *Squaliformes* και *Carcharhiniformes*, στα είδη *P. glauca* και *O. centrina* διαφαίνεται κοντινότερη συγγένεια σε σχέση με το *M. mobular*. Το γεγονός αυτό είναι αναμενόμενο καθώς το *M. mobular* ως σαλάχι είναι πιο μακρινό εξελικτικά από τους καρχαρίες *P. glauca* και *O. centrina*.

Σύμφωνα με τους Vélez-Zuazo & Agnarsson (2011) τα Batoidea βρίσκονται στην βάση του φυλογενετικού δέντρου των Ελασμοβράγχγιων ιχθύων, παρατήρηση που έρχεται σε αντίθεση με την παρουσία του *M. mobular* εντός συστάδας αποτελούμενης από είδη των τάξεων *Squaliformes* και *Carcharhiniformes* στην παρούσα έρευνα. Επίσης, τα είδη των τάξεων *Hexanchiformes* και *Squaliformes* είναι κοντινότερα μεταξύ τους εξελικτικά, όπως και τα είδη των τάξεων *Carcharhiniformes* και *Lamniformes*. Στην φυλογενετική ανάλυση της εργασίας των Gkafas et al. (2015) τα είδη των τάξεων *Carcharhiniformes* και *Lamniformes* απεδείχθησαν αδερφικές ομάδες. Παρατηρείται εξελικτική απόσταση μεταξύ αυτών και τα είδη της τάξης *Squaliformes*, καθώς και η θέση του αντιπροσωπευτικού δείγματος των Batoidea στην βάση του φυλογενετικού δέντρου. Τα αποτελέσματα των Human et al. (2006) επίσης χαρακτήρισαν τα είδη των τάξεων *Carcharhiniformes* και *Lamniformes* ως κοντινά εξελικτικά, σχηματίζοντας μονοφυλετική ομάδα στο φυλογενετικό δέντρο. Το ένα αντιπροσωπευτικό είδος της κάθε τάξης *Hexanchiformes* και *Squaliformes* σχηματίζουν παραφυλετική ομάδα μαζί με είδη καρχαριών άλλων τάξεων και τα Batoidea βρίσκονται στην βάση του φυλογενετικού δέντρου. Επίσης, σύμφωνα με τους Vella et al. (2017) τα είδη των τάξεων *Carcharhiniformes* και *Lamniformes* τοποθετούνται κοντινά εξελικτικά κατά την φυλογενετική ανάλυση, καθώς και τα είδη των τάξεων *Hexanchiformes* και *Squaliformes* τα οποία σχηματίζουν μονοφυλετική ομάδα με τα είδη της τάξης *Squatinaformes*. Το ένα αντιπροσωπευτικό είδος Batoidea χρησιμοποιήθηκε επιτυχημένα ως outgroup. Τέλος, αναφέρεται η εργασία των Douady et al. (2003) όπου υποστηρίζεται η κοντινή συγγένεια μεταξύ *Carcharhiniformes* και *Lamniformes*, καθώς και μεταξύ των *Hexanchiformes* και *Squaliformes*, όπου σχηματίζεται μονοφυλετική ομάδα με τα είδη της τάξης *Squatinaformes* και *Pristiophoriformes*. Όπως και στις προαναφερόμενες έρευνες τα Batoidea αποτελούν διακλάδωση στη βάση του φυλογενετικού δέντρου, εκτός του άξονα που περιλαμβάνει τα είδη καρχαριών.

Σε αντίθεση με τα αποτελέσματα των παραπάνω ερευνών, στην παρούσα εργασία παρατηρούνται κοντινότερες εξελικτικές σχέσεις μεταξύ των αντιπροσωπευτικών δειγμάτων *Lamniformes* και *Hexanchiformes*, καθώς και μεταξύ των *Squaliformes* και *Carcharhiniformes*. Επιπλέον, το δείγμα που αντιπροσωπεύει τα Batoidea βρίσκεται εντός του κύριου άξονα του φυλογενετικού δέντρου. Έχει προταθεί από την σύγχρονη κλαδιστική ότι τα Batoidea έχουν προέλθει εξελικτικά από τους καρχαρίες, υπόθεση γνωστή ως Hypnosqualean hypothesis (Shirai 1996), γεγονός το οποίο θα τα τοποθετούσε εντός του άξονα του φυλογενετικού δέντρου που περιλαμβάνει τα είδη καρχαριών. Ενώ τα αποτελέσματα της διατριβής αυτής θα μπορούσαν να θεωρηθούν απόδειξη αυτής, η

παραπάνω θεωρία έχει απορριφθεί από προηγούμενες έρευνες (Vella et al. 2017, Gkafas et al. 2015, Vélez-Zuazo & Agnarsson 2011, Human et al. 2006, Douady et al. 2003), καθώς και οι περαιτέρω ανακρίβειες που προέκυψαν κατά την φυλογενετική ανάλυση αποτελούν περιοριστικό παράγοντα ώστε να ληφθούν υπ' όψη. Με βάση τα παραπάνω συμπεράσματα, προκύπτει ότι ακόμα και με την υψηλής ακρίβειας μέθοδο της Μπεϋζιανής Ανάλυσης οι αλληλουχίες του γονιδίου COI μεγέθους 570 ζεύγη βάσεων δεν είναι κατάλληλες για φυλογενετική ανάλυση υψηλής ακρίβειας στους ελασμοβράγχιους ιχθύες.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abercrombie D.L., Clarke S.C., Shivji M.S. (2005) Global-scale genetic identification of hammerhead sharks: Application to assessment of the international fin trade and law enforcement. *Conservation Genetics*, 6:775-788.
- Alam M.T., Petit III R.A., Read T.D., Dove A.D.M. (2014) The complete mitochondrial genome sequence of the world's largest fish, the whale shark (*Rhincodon typus*), and its comparison with those of related shark species. *Gene*, 539:44-49.
- Almerón-Souza F., Sperb C., Castilho C.L., Figueiredo P.I.C.C., Goncalves L.T., Machado R., Oliveira L.R., Valiati V.H., Fagundes N.J.R. (2018) Molecular Identification of Shark Meat from Local Markets in Southern Brazil Based on DNA Barcoding: Evidence for Mislabeling and Trade of Endangered Species. *Frontiers in Genetics*, 9:138.
- Armani A., Castigliero L., Tinacci L., Gianfaldoni D., Guidi A. (2012) Multiplex conventional and real-time PCR for fish species identification of Bianchetto (juvenile form of *Sardina pilchardus*), Rossetto (*Aphia minuta*) and Icefish in fresh, marinated and cooked products. *Food Chemistry*, 133:184-192.
- Ball R.E., Serra-Pereira B., Ellis J., Genner M.J., Iglésias S., Johnson A.F., Jones C.S., Leslie R., Lewis J., Mariani S., Menezes G. Neat F., Noble, L.R., Sims D.W., Griffiths A.M. (2016) Resolving taxonomic uncertainty in vulnerable elasmobranchs: are the Madeira skate (*Raja maderensis*) and the thornback ray (*Raja clavata*) distinct species? *Conservation Genetics*, 17:565–576
- Barbuto M., Galimberti A., Ferri E., Labra M., Malandra R., Galli P., Casiraghi M. (2010) DNA barcoding reveals fraudulent substitutions in shark seafood products: The Italian case of “palombo” (*Mustelus spp.*). *Food Research International*, 43:376-381.
- Bauchot, M.L. (1987) Raies et autres batoides. In: Fischer W., Bauchot M.L., Schneider, M (eds) Fiches FAO d'identification pour les besoins de la pêche. (rev. 1). Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37. Vol. II. Commission des Communautés Européennes and FAO, Rome, pp 845-886.
- Bianchi G. (1986) Fichas FAO de identificação de espécies para propósitos comerciais. Guia de campo para as espécies comerciais marinhas e de águas salobras de Angola. FAO, Rome. pp 184.
- Bitalo D.N., Maduna S.N., da Silva C., Roodt-Wilding R., Bester-van der Merwe A. (2015) Differential gene flow patterns for two commercially exploited shark species, tope (*Galeorhinus galeus*) and common smoothhound (*Mustelus mustelus*) along the south-west coast of South Africa. *Fisheries Research* 172:190-196.
- Bonanomi S., Pellissier L., Overgaard Therkildsen N., Hedeholm R.B., Retzel A., Meldrup D., Olesen S.M., Nielsen A., Pampoulie C., Hemmer-Hansen J., Wisz M.S., Grønjar P., Nielsen E.E. (2015) Archived DNA reveals fisheries and climate induced collapse of a major fishery. *Scientific Reports*, 5:15395
- Bremer J.R.A., Mejuto J., Greig T.W., Ely B. (1996) Global population structure of the swordfish (*Xiphias gladius* L.) as revealed by analysis of the mitochondrial DNA control region. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 197:295-310.
- Brown W.M., George M. Jr, Wilson A.C. (1979) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76:1967–1971.
- Byrkjedal I., Rees D.J., Willassen E. (2007) Lumping limp-suckers: molecular and morphological insights into the taxonomic status of *Eumicrotremus spinosus* (Fabricius, 1776) and *Eumicrotremus eggvinii* (Koefoed), 1956 (Teleostei: Cyclopteridae). *Journal of Fish Biology*, 71:111-131.
- Caballero S., Cardenosa D., Soler G., Hyde J. (2012) Application of multiplex PCR approaches for shark molecular identification: feasibility and applications for fisheries management and conservation in the Eastern Tropical Pacific. *Molecular Ecology Resources*, 12:233-237.
- Cannas R., Follesa M.C., Cabiddu S., Porcu C., Salvadori S., Iglésias S.P., Deiana A.M., Cau A. (2010) Molecular and morphological evidence of the occurrence of the Norwegian skate *Dipturus nidarosiensis* (Storm, 1881) in the Mediterranean Sea. *Marine Biology Research*, 4:341-350.
- Cariani A., Messinetti S., Ferrari A., Arculeo M., Bonello J.J., Bonnici L., Cannas R., Carbonara P., Cau A., Charilaou C., El Ouamari N., Fiorentino F., Follesa M.C., Garofalo G., Golani D., Guarniero I., Hanner R., Hemida F., Kada O., Lo Brutto S., Mancusi C., Morey G., Schembri P.J., Serena F., Sion L., Stagioni M., Tursi A., Vrgoc N., Steinke D., Tinti F. (2017) Improving the Conservation of Mediterranean Chondrichthyans: The ELASMOMED DNA Barcode Reference Library. *PLoS ONE* 12(1): e0170244.
- Cashion M. S., Bailly N., Pauly D. (2019) Official catch data underrepresent shark and ray taxa caught in Mediterranean and Black Sea fisheries. *Marine Policy*, 105:1-9.

- Castilho R., Freitas M., Silva, G., Fernadez-Carvalho J., Coelho R. (2007) Morphological and mitochondrial DNA divergence validates blackmouth catshark, *Galeus maelastomus*, and Atlantic sawtail catsharks, *Galeus atlanticus*, as a separate species. *Journal of Fish Biology*, 70:346-358.
- Cavanagh R.D., Gibson C. (2007) Overview of the Conservation Status of Cartilaginous Fishes (Chondrichthyans) in the Mediterranean Sea. IUCN, Gland, Switzerland & Malaga, Spain, pp 42.
- Cervigón, F., Cipriani, R., Fischer, W., Garibaldi, L., Hendrick, M., Lemus, A.J., Márquez, R., Poutiers, J.M., Robaina, G., Rodriguez, B. (1992) Fichas FAO de identificación de especies para los fines de la pesca. Guía de campo de las especies comerciales marinas y de aguas salobres de la costa septentrional de Sur América. FAO, Rome. pp 513.
- Chabot C.L., Allen L. G. (2009) Global population structure of the tope (*Galeorhinus galeus*) inferred by mitochondrial control region sequence data. *Molecular Ecology*, 18:545-552.
- Chapman D.D., Abercrombie D.L., Douady C.J., Pikitch E.K., Stanhope M.J., Shivji M.S. (2003) A streamlined, bi-organelle, multiplex PCR approach to species identification: Application to global conservation and trade monitoring of the great white shark, *Carcharodon carcharias*. *Conservation Genetics*, 4: 415-425.
- Chow S., Okamoto H., Uozumi Y., Takeuchi Y., Takeyama H. (1997) Genetic stock structure of the swordfish (*Xiphias gladius*) inferred by PCR-RFLP analysis of the mitochondrial DNA control region. *Marine Biology*, 127:359-367.
- Coelho R., Erzini K., Bentes L., Correia C., Lino P.G., Monteiro P., Ribeiro J., Gonçalves J. M.S. (2005) Semi-pelagic longline and trammel net elasmobranch catches in Southern Portugal: catch composition, catch rates and discards. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 35:531-537.
- Coll M., Piroddi C., Steenbeek J., Kaschner K., Lasram F.B.R., Aguzzi J., Ballesteros E., Bianchi C.N., Corbera J., Dailianis T., Danovaro R., Estrada M., Frogia C., Galil B.S., Gasol G.M., Gertwagen R., Gil J., Guilhaumon F., Kesner-Reyes K., Kitsos M.S., Koukouras A., Lampadariou N., Laxamana E., López-Fé de la Cuadra C.M., Lotze H.K., Martin D., Mouillot D., Oro D., Raicevich S., Rius-Barile J., Saiz-Salinas J.I., San Vicente C., Somot S., Templado J., Turon X., Vafidis D., Villanueva R., Voultsiadou E. (2010) The Biodiversity of the Mediterranean Sea: Estimates, Patterns, and Threats. *PLoS ONE*, 5(8): e1184.
- Compagno L.J.V. (1986) Myliobatidae. In: Smith M.M. and Heemstra P.C. (eds) *Smiths' sea fishes*. Springer-Verlag, Berlin.
- Compagno L.J.V. (1984a) FAO Species Catalogue. (Vol. 4) Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Part 1 - Hexanchiformes to Lamniformes. FAO Fisheries Synopsis, 125:249.
- Compagno L.J.V. (1984b) FAO species catalogue (Vol.4). Sharks of the world: An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Part 2: Carcharhiniformes. FAO Fisheries Synopsis, 125:655.
- Compagno L.J.V. (1988) Sharks of the Order Carcharhiniforms. The Blackburn Press, New Jersey, pp 572.
- Corrigan S., Beheregaray L.B. (2009) A recent shark radiation: Molecular phylogeny, biogeography and speciation of wobbegong sharks (family: Orectolobidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 52:205-216.
- Costa F.O., Landi M., Martins R., Costa M.H., Costa M.E., Carneiro M., Alves M.J., Steinke D., Carvalho G.R. (2012) A Ranking System for Reference Libraries of DNA Barcodes: Application to Marine Fish Species from Portugal. *PloS ONE* 7(4):e35858.
- Dawney N., Ogden R., McEwig R., Carvalho G.R., Thorpe R.S (2007) Validation of the barcoding gene COI for use in forensic genetic species identification. *Forensic Science International*, 173:1-6.
- Daly-Engel T.S., Baremore I.E., Grubbs R.G., Gulak R.D., Graham R.T., Enzenauer M.P. (2018) Resurrection of the sixgill shark *Hexanchus vitulus* Springer & Waller, 1969 (Hexanchiformes, Hexanchidae) with comments on its distribution in the northwest Atlantic Ocean. *Marine Biodiversity*, 49:1-10.
- Daly-Engel T.S., Grubbs R.D., Feldheim K.A., Bowen B.W., Toonen R.J. (2010) Is multiple mating beneficial or unavoidable? Low multiple paternity and genetic diversity in the shortspine spurdog (*Squalus mitsukurii*). *Marine Ecology Progress Series*, 403:255-267.
- Deagle B.E., Tollit D.J., Jarman S.N., Hindell M.A., Trites A.W., Gales N.J. (2005) Molecular scatology as a tool to study diet: analysis of prey DNA in scats from captive Steller sea lions. *Molecular Ecology*, 14:1831-1842.
- Douady C.J., Dosay M., Shivji M.S., Stanhope M.J. (2003) Molecular phylogenetic evidence refuting the hypothesis of Batoida (rays and skates) as sharks. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 26: 215-

- Dudgeon C.L., Blower D.C., Broderick D., Giles J.L., Holmes B.J., Kashiwagi T., Krück N.C., Morgan J.A.T., Tillett B.J., Ovenden J.R. (2012) A review of the application of molecular genetics for fisheries management and conservation of sharks and rays. *Journal of Fish Biology*, 80:1789-1843.
- Erzini K., Costa M. E., Bentes L., Borges T. C. (2002) A comparative study of the species composition of discards from five fisheries from the Algarve (southern Portugal). *Fisheries Management and Ecology*, 9:31-40.
- Ferrari A., Tinti F., Bertucci Maresca V., Velonà A., Cannas R., Thasitis I., Costa F.O., Follesa M.C., Golani D., Hemida F., Helyar S.J., Mancusi C., Mulas A., Serena F., Sion L., Stagioni M., Cariani A. (2018) Natural history and molecular evolution of demersal Mediterranean sharks and skates inferred by comparative phylogeographic and demographic analyses. *PeerJ*, 6:e5560
- Franks S.J., Hoffmann A.A. (2012) Genetics of Climate Change Adaptation. *Annual Review of Genetics*, 46:185-208.
- Gervais, H. (1877) Les poissons: synonymie, description, mœurs, frai, pêche, iconographie des espèces composant plus particulièrement la faune française. Les poissons de mer, Volume 2. J. Rothschild, Lyon.
- Gkafas G.A., Megalofonou P., Batzakas G., Apostolidis A.P., Exadactylos A. (2015) Molecular phylogenetic convergence within Elasmobranchii revealed by cytochrome oxidase subunits. *Biochemical Systematics and Ecology*, 61:510-515.
- Griffiths A.M., Sims D.W., Johnson A., Lynghammar A., McHugh M., Bakken T., Genner M.J. (2011) Levels of connectivity between longnose skate (*Dipturus oxyrinchus*) in the Mediterranean Sea and the north-eastern Atlantic Ocean. *Conservation Genetics*, 12:577-582.
- Gubili C., Macleod K., Perry W., Hanel P., Batzakas I., Farrell E.D., Lynghammar A., Mancusi C., Mariani S., Menezes G.M., Neat F., Scarcella G., Griffiths A.M. (2016) Connectivity in the deep: Phylogeography of the velvet belly lanternshark. *Deep-Sea Research I*, 115:233-239.
- Hajibabaei M., Singer G.A.C., Hebert P.D.N., Hickey D.A. (2007) DNA barcoding: how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics. *Trends in Genetics*, 23:167-172.
- Heino M., Pauli B.D., Dieckmann U. (2015) Fisheries-Induced Evolution. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 46:461-480.
- Hemmer-Hansen J., Therkildsen N.O., Pujolar J.M. (2014) Population Genomics of Marine Fishes: Next-Generation Prospects and Challenges. *Biological Bulletin*, 227:117-132.
- Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., Dewaard J. (2003) Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London Biological Sciences*, 270:313-321
- Hernández S., Daley R., Walker T., Braccini M., Varela A., Francis M.P., Ritchie P.A. (2015) Demographic history and the South Pacific dispersal barrier for school shark (*Galeorhinus galeus*) inferred by mitochondrial DNA and microsatellite DNA mark. *Fisheries Research*, 167:132-142.
- Hoelzel A.R. (2001) Shark fishing in fin soup. *Conservation Genetics*, 2:69-72.
- Holmes B.H., Steinke D., Ward R.D. (2009) Identification of shark and ray fins using DNA barcoding. *Fisheries Research*, 95:280-288.
- Hsieh H.S., Hwang D.F. (2004) Molecular phylogenetic relationships of puffer fish inferred from partial sequences of cytochrome *b* gene and restriction fragment length polymorphism analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:4159-4165.
- Human B.A., Owen E.P., Compagno L.J.V., Harley E.H. (2006) Testing morphologically based phylogenetic theories within the cartilaginous fishes with molecular data, with special reference to the catshark family (Chondrichthyes; Scyliorhinidae) and the interrelationships within them. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 39:384-391.
- Huelsenbeck J. P., Ronquist F., Nielsen R., Bollback J.P. (2001) Bayesian Inference of Phylogeny and its Impact on Evolutionary Biology. *Science* 5550:2310-2314.
- Iglésias S.P., Lecointre G., Sellos D.Y. (2005) Extensive paraphyly within sharks of the order Carcharhiniformes inferred from nuclear and mitochondrial genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 34:569-583.
- Ilaria A., Marino M., Riginella E., Cariani A., Tinti F., Farrell E.D., Mazzoldi C., Zane L. (2014) New Molecular Tools for the Identification of 2 Endangered Smooth-Hound Sharks, *Mustelus mustelus* and *Mustelus punctulatus*. *Journal of Heredity*, 106(1):123-130.
- Ivanova N.V., Zemlak T.S., Hanner R.H., Herbert P.D.N. (2007) Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Molecular Ecology Notes*, 7(4):544-548.
- Jakobsdóttir K.B., Pardoe H., Magnússon A., Björnsson H., Pampoulie C., Ruzzante D.E., Marteinsdóttir G.

- (2011) Historical changes in genotypic frequencies at the Pantophysin locus in Atlantic cod (*Gadus morhua*) in Icelandic waters: evidence of fisheries-induced selection? *Evolutionary Applications*, 4:562-573.
- Karaiskou N., Apostolidis A.P., Triantafyllidis A., Kouvatsi A., Triantafyllidis C. (2003) Genetic Identification and Phylogeny of Three Species of the Genus *Trachurus* Based on Mitochondrial DNA Analysis. *Marine Biotechnology*, 5:493-504.
- Kimura M. (1980) A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16:111-120.
- Koutseni V., Kasapidis P., Kotoulas G., Megalofonou P. (2016) Evidence of high genetic connectivity for the longnose spurdog *Squalus blainville* in the Mediterranean Sea. *Mediterranean Marine Science*, 17(2) 371-383.
- Koutseni V., Kasapidis P., Kotoulas G., Megalofonou P. (2015) Strong population genetic structure and contrasting demographic histories for the small-spotted catshark (*Scyliorhinus canicula*) in the Mediterranean Sea. *Heredity*, 114:333-343.
- Kovach R.P., Gharrett A.J., Tallmon D.A. (2012) Genetic change for earlier migration timing in a pink salmon population. *Proceedings of the Royal Society of London*, 279:3870-3878.
- Lacoursière-Roussel A., Côté G., Leclerc V., Bernatchez L. (2016) Quantifying relative fish abundance with eDNA: a promising tool for fisheries management. *Journal of Applied Ecology*, 53:1148-1157
- Le Port A., Roycroft E.J., Thakur V., Lavery S.D. (2016) Characterisation of eleven new polymorphic microsatellite markers for the coastal stingray *Dasyatis brevicaudata* (Dasyatidae Hutton 1875), and cross-amplification in seven dasyatid species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 65:234-237.
- Lin W.F., Hwang D.F. (2006) Application of PCR-RFLP analysis on species identification of canned tuna. *Food Control*, 18:1050-1057.
- López J.A., Ryburn J.A., Fedrigo O., Naylor G.J.P. (2006) Phylogeny of sharks of the family Triakidae (Carcharhiniformes) and its implications for the evolution of carcharhiniform placental viviparity. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 40:50-60.
- Ludwig A., Arndt U., Debus L., Rosello E., Morales A. (2009) Ancient mitochondrial DNA analyses of Iberian sturgeons. *Journal of Applied Ichthyology*, 25:5-9.
- MacDonald C.M. (1988) Genetic variation, breeding structure and taxonomic status of the gummy shark, *Mustelus antarcticus*, in southern Australian waters. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 39:641-648.
- Magnussen J.E., Pikitch E.K., Clarke S.C., Nicholson C., Hoelzel A.R., Shivji M.S. (2007) Genetic tracking of basking shark products in international trade. *Animal Conservation*, 10:199-207.
- Marino I.A.M., Finotto L., Colloca F., Lorenzo M.D., Gristina M., Farrell E.D., Zane L., Mazzoldi C. (2018) Resolving the ambiguities in the identification of two smooth-hound sharks (*Mustelus mustelus* and *Mustelus punctulatus*) using genetics and morphology. *Marine Biodiversity*, 48:1551-1562.
- Marino I.A.M., Riginella E., Cariani A., Tinti F., Farrell E.D., Mazzoldi C., Zane L. (2015) New Molecular Tools for the Identification of 2 Endangered Smooth-Hound Sharks, *Mustelus mustelus* and *Mustelus punctulatus*. *Journal of Heredity*, 106:123-130.
- Martin A.P., Naylor G.J.P., Palumbi S.R. (1992) Rates of mitochondrial DNA evolution in sharks are slow compared with mammals. *Nature*, 357: 153-155.
- Martyniuk C.J., Denslow N.D. (2012) Exploring Androgen-Regulated Pathways in Teleost Fish Using Transcriptomics and Proteomics. *Integrative and Comparative Biology*, 52(5):695-704.
- Mendonça F.F., Hashimoto D.T., De-Franco B., Porto-Foresti F., Gadig O.B.F., Oliveira C., Foresti F. (2010) Genetic identification of lamniform and carcharhiniform sharks using multiplex-PCR. *Conservation Genetic Resources*, 2:31-35.
- Mendonça F.F., Oliveira C., Burgess G., Coelho R., Piercy A., Gadig O.B.F., Foresti F. (2011) Species delimitation in sharpnose sharks (genus *Rhizoprionodon*) in the western Atlantic Ocean using mitochondrial DNA. *Conservation Genetics*, 12:193-200.
- Metochis C.P., Carmona-Antoñanzas G., Koutseni V., Damalas D., Megalofonou P. (2018) Population structure and aspects of the reproductive biology of the blackmouth catshark, *Galeus melastomus* Rafinesque, 1810 (Chondrichthyes: Scyliorhinidae) caught accidentally off the Greek coasts. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 98(4):909-925.
- Minamoto T., Yamanaka H., Takahara T., Honjo M.N., Kawabata Z. (2012) Surveillance of fish species composition using environmental DNA. *Limnology*, 13:193.
- Moftah M., Abdel Aziz S.H., Elramah S., Favereaux A. (2011) Classification of Sharks in the Egyptian Mediterranean Waters Using Morphological and DNA Barcoding Approaches. *PloS ONE*

- Morgan J.A.T., Harry A.V., Welch D.J., Street R., White J., Geraghty P.T., Macbeth W.G., Tobin A., Simpfendorfer C.A., Ovenden J.R. (2012) Detection of interspecies hybridisation in Chondrichthyes: hybrids and hybrid offspring between Australian (*Carcharinus tilstoni*) and common (*C. Limbatus*) blacktip shark found in an Australian fishery. *Conservation Genetics*, 13:455-463.
- Moss M.L., Judd K.G., Kemp B.M. (2014) Can salmonids (*Oncorhynchus* spp.) be identified to species using vertebral morphometrics? A test using ancient DNA from Coffman Cove, Alaska. *Journal of Archaeological Science*, 41:879-889.
- Munday P.L., Warner R.R., Monro K., Pandolfi J.M., Marshall D.J. (2013) Predicting evolutionary responses to climate change in the sea. *Ecology Letters*, 16:1488-1500.
- Mushtaq M.Y., Marçal R.M., Champagne D.L. Van der Kooy F., Verpoorte R., Choi Y.H. (2014) Effect of Acute Stresses on Zebra Fish (*Danio rerio*) Metabolome Measured by NMR - Based Metabolomics. *Planta Medica*, 80:1227-1233.
- Normark B.B., McCune A.R., Harrison R.G. (1991) Phylogenetic relationships of neopterygian fishes, inferred from mitochondrial DNA sequences. *Molecular Biology and Evolution*, 8:819e834.
- O' Bryhim J., Parsons E.C.M., Lance S.L. (2017) Forensic species identification of elasmobranch products sold in Costa Rican markets. *Fisheries Research*, 186:144-150.
- Ovenden J.R., Morgan J.A.T., Street R., Tobin A., Simpfendorfer C., Macbeth W., Welch D. (2011) Negligible evidence for regional genetic population structure for two shark species *Rhizoprionodon acutus* (Rüppell, 1837) and *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith, 1834) with contrasting biology. *Marine Biology* 158:1497-1509.
- Ovenden J.R., Morgan J.A.T., Kashiwagi T., Broderick D., Salini J. (2010) Towards better management of Australia's shark fishery: genetic analyses reveal unexpected ratios of cryptic blacktip species *Carcharhinus tilstoni* and *C. Limbatus*. *Marine and Freshwater Research*, 61:253-262.
- Pank M., Stanhope M., Natanson L., Kohler N., Shivji M. (2001) Rapid and Simultaneous Identification of Body Parts from the Morphologically Similar Sharks *Carcharinus plumbeus* (Carcharhinidae) Using Multiplex PCR. *Marine Biotechnology*, 3:231-240.
- Pazartzi T., Siaperopoulou S., Gubili C., Maradidou S., Loukovitis D., Chantzispyrou A., Griffiths A.M., Minos G., Imsiridou A. (2019) High levels of mislabeling in shark meat - Investigating patterns of species utilization with DNA barcoding in Greek retailers. *Food Control*, 98:179-186.
- Pinhal D., Shivji M.S., Nachtigall P.G., Chapman D.D., Martins C. (2012) A Streamlined DNA Tool for Global Identification of Heavily Exploited Coastal Shark Species (Genus *Rhizoprionodon*). *PLoS ONE* 7(4): e34797.
- Portnoy D.S., Heist E.J. (2012) Molecular markers: progress and prospects for understanding reproductive ecology in elasmobranchs. *Journal of Fish Biology*, 80:1120-1140.
- Quattro J.M., Stoner D.S., Driggers W.B., Anderson C.A., Priede K.A., Hoppmann E.C., Campbell N.H., Duncan K.M., Grady J.M. (2006) Genetic evidence of cryptic speciation within hammerhead sharks (Genus *Sphyrna*). *Marine Biology*, 148:1143-1155.
- Reiner F. (1996) Catálogo dos peixes do arquipélago de Cabo Verde. Instituto Português de Investigação Marítima, 2:339.
- Ramírez-Amaro S., Picornell A., Arenas M., Castro J.A., Massutí E., Ramon M.M., Terrasa B. (2018) Contrasting evolutionary patterns in populations of demersal sharks throughout the western Mediterranean. *Marine Biology*, 165:3.
- Retallack H., Okihiro M.S., Britton E., Van Sommeran S., DeRisi J.L. (2019) Metagenomic next-generation sequencing reveals *Miamiensis avidus* (Ciliophora: Scuticociliatida) in the 2017 epizootic of leopard sharks (*Triakis semifasciata*) in San Francisco Bay, California, USA. *Journal of Wildlife Diseases*, 55:375-386
- Rzhetsky A., Nei M. (1992) A simple method for estimating and testing minimum evolution trees. *Molecular Biology and Evolution*, 9:945-967.
- Saitou N., Nei M. (1987) The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4:406-425.
- Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. (1989) *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*, second ed., vol. I. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Samuelsson L.M., Larsson D.G. (2008) Contributions from metabolomics to fish research. *Molecular BioSystematics*, 4:974-979.
- Sandoval-Huerta E.R., Beltrán-López R.G., Pedraza-Marrón C.R., Paz-Velásquez M.A., Angulo A., Robertson D.R., Espinoza E., Domínguez-Domínguez O. (2019) The evolutionary history of the

- goby *Elacatinus puncticulatus* in the tropical eastern pacific: Effects of habitat discontinuities and local environmental variability. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 130:269-285.
- Schultz J.K., Feldheim K.A., Gruber S.H., Ashley M.V., McGovern T.M., Bowen B.W. (2008) Global phylogeography and seascape genetics of the lemon shark (genus *Negaprion*). *Molecular Ecology*, 17:5336-5348.
- Serena F. (2005) Field identification Guide to the sharks and rays of the Mediterranean and Black Sea. FAO Species Identification Guide for Fishery Purposes. FAO, 97pp.
- Shirai S. (1996) Phylogenetic interrelationships of Neoselachians (Chondrichthyes: Euselachii). In: Stiassny M.L.J., Parenti L.R., Johnson G.D. (eds) *Interrelationships of Fishes*. Academic Press, San Diego, p. 9e34.
- Shivji M., Clarke S., Pank M., Natanson L., Kohler N., Stanhopes M. (2002) Genetic Identification of Pelagic Shark Body Parts for Conservation and Trade Monitoring. *Conservation Biology*, 16(4) 1036-1047.
- Shivji M.S., Chapman D.D., Pikitch E.K., Raymond P.W. (2005) Genetic profiling reveals illegal international trade in fins of the great white shark, *Carcharodon carcharias*. *Conservation Genetics*, 6:1035-1039.
- Sorenson L, Santini F, Alfaro ME (2014) The effect of habitat on modern shark diversification. *Journal of Evolutionary Biology*, 27:1536–1548.
- Speller C.F., Hauser L., Lepofsky D., Moore J., Rodrigues A.T., Moss M.L., McKechnie I., Yang D.Y. (2012) High Potential for Using DNA from Ancient Herring Bones to Inform Modern Fisheries Management and Conservation. *PLoS ONE* 7(11): e51122.
- Star B., Nederbragt A.J., Jentoft S., Grimholt U., Malmstrøm M., Gregers T.F., Rounge T.B., Paulsen J., Solbakken M.H., Sharma A., Wetten O.F., Lanze A., Winer R., Knight J., Vogel J.H., Aken B., Andersen Ø., Lagesen K., Tooming-Klunderud A., Edvardsen R.B., Tina K.G., Espelund M., Nepal C., Previti C., Karlsen B.O., Moum T., Skage M., Berg P.R., Gjøn T., Kuhl H., Thorsen J., Malde K., Reinhardt R., Du L., Johansen S.D., Searle S., Lien S., Nilsen F., Jonassen I., Omholt S.W., Stenseth N.C., Jakobsen K.S. (2011) The genome sequence of Atlantic cod reveals a unique immune system. *Nature*, 477:207-210.
- Teletchea F. (2009) Molecular identification methods of fish species: reassessment and possible applications. *Reviews in Fish Biology*, 19:265-293.
- Tinti F., Ungaro N., Pasolini P., De Panfilis M., Garoia F., Guarniero I., Sabelli B., Marano G., Piccinetti C. (2003) Development of molecular and morphological markers to improve species-specific monitoring and systematics of Northeast Atlantic and Mediterranean skates (Rajiformes). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 288(2):149-165.
- Turan C. (2008) Molecular Systematic Analyses of Mediterranean Skates (Rajiformes). *Turkish Journal of Zoology*, 32:437-442.
- Valsecchi E., Vacchi M., Di Sciara G.N. (2005) Characterization of a New Molecular Marker for Investigating Skate Population Genetics: Analysis of Three Mediterranean Skate Species (genus *Raja*) of Commercial Interest as a Test Case. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 35: 225-231.
- Vella A., Vella N., Schembri S. (2017) A molecular approach towards taxonomic identification of elasmobranch species from Maltese fisheries landings. *Marine Genomics*, 36:17-23.
- Vélez-Zuazo X., Agnarsson I. (2011) Shark tales: A molecular species-level phylogeny of sharks (Selachimorpha, Chondrichthyes). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 58(2):207-217.
- Ward R.D., Holmes B.H., Zemlak T.S., Smith P.J. (2007) Part 12 - DNA barcoding discriminates spurdogs of the genus *Squalus*. In: Last PR, White WT, Pogonoski JJ (eds) *Descriptions of new dogfishes of the genus Squalus (Squaloidea: Squalidae)*. CSIRO Marine and Atmospheric Research, Hobart, Australia, p 117–130.
- Ward R.D., Zemlak S., Innes B.H., Last P.R., Herbert P.D.N. (2005) DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 360:1847-1857.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

```
>A1_L5950 -- 31..936 of sequence
WTKGAATAGCTTTWGTCTACTAATTCRCGCTGADSTAGGTCAACCTGGATCTCTTTTAS
GAGATGATMASATTTATRMKGTGATCGTAACCGCCCATGCWTTTGTAAATATCTTTTTTA
TGGTTATACCAAGTAATGATTGGTGGCTYTGGAATTGACTTGTTCCTTTAATAAATTGGTG
CACCAGATATAGCATTTCCTCGAATAAATAACATGAGTTTCTGGCTTCCCTCCTTCGT
TCTTACTTCTGCTGGCTCCGAGGARTAGAAGCTGGGGCAGGAACCGAWGAACCTGTTT
ATCCACCTTTARCAGGTAATTTAGCACATGCTGGTCCCTCTGTTGATTAGCCATCTTCT
CCCTTCATTTGGCCGGTATCTCATCAATTTAGCCTCAATTAATTTATTACAACCTATTA
TTAATATAAAACCCCGAGCTATTTCTCAATATCAAACACCATTTATTTGTTGATCTATTCT
TTATTACCACCGTTTCTTACTCTCTGCTCCTCTGTTCTTGCAGCCGGAATTACAATAT
TATTAACAGACCGCAACCTCAACACTACATTCTTTGATCCCGCAGGTGGAGGGGACCCAA
TTCTCTATCAGCACTTATTTTGATTTTTTGGCCACCCAGAAGTATATATTTAATTTTAC
CAGGTTTCGGTATAATTTACATGTTGTTGCCTACTATTCAAGTAAAAAGAACCTTTTCG
GATATATGGGTATAGTATGAGCAATAATAGCAATTGGACTACTTGGTTTTATCGTATGGG
CCCATCACATATTTACAGTAGGTATAGACGTAGATACTCGAGCCTATTTTACCTCTGCAA
CAATAATTTTGGCATCCCAACAGGCGTTAAAGTGTTTAGCTGATTAGCAACCTTTCAGC
GAGGAT
```

Αλληλουχία δείγματος A1 – DNA Barcoding.

```
>A2_L5950 -- 28..1002 of sequence
AGTTGGAATAGCTTTAAGTCTACTAATTCGCGCTGAACCTAGGTCAACCTGGATCTCTTTT
AGGAGATGATMAGATTTATAATGTGATCGTAACCGCCCATGCATTTGTAAATATCTTTTTT
TATGGTTATACCAAGTAATGATTGGTGGCTTTGGAAATTGACTTGTTCCTTTAATAAATTGG
TGCACAGATATAGCATTTCCTCGAATAAATAACATGAGTTTCTGGCTTCCCTCCTTCTC
GTTCTTACTTCTGCTGGCTCCGAGGAGTARAAGCTGGGGCAGGAACCGGATGAACGTG
TTATCCACCTTTAGCAGGTAATTTAGCACATGCTGGTCCCTCTGTTGATTAGCCATCTT
CTCCCTTCATTTGGCCGGTATCTCATCAATTTTAGCCTCAATTAATTTTATACAACCTAT
TATTAATAATAAAACCCCGAGCTATTTCTCAATATCAAACACCATTTATTTGTTGATCTAT
TCTTATTACCACCGTTTCTTACTCTCTGCTCCTCTGTTCTTGCAGCCGGAATTACAAT
ATTATTAACAGACCGCAACCTCAACACTACATTCTTTGATCCCGCAGGTGGAGGGGACCC
AATTCCTCTATCAGCACTTATTTTGATTTTTTGGCCACCCAGAAGTATATATTTAATTTT
ACCAGGTTTCGGTATAATTTACATGTTGTTGCCTACTATTCAAGTAAAAAGAACCTTTT
CGGATATATGGGTATAGTATGAGCAATAATAGCAATTGGACTACTTGGTTTTATCGTATG
GGCCCATCACATATTTACAGTAGGTATAGACGTAGATACTCGAGCCTATTTTACCTCTGCA
AACATAATTTATGCCATCCCAACAGGCGTTAAAGTGTTTAGCTGATTAGCAACCTTCA
CGGAGGATCTATTAATGAGAAACCCCTACTCTGAGCCCTAGGTTTATTTCTTTTTTAC
AGTAGGAGGACTAAC
```

Αλληλουχία δείγματος A2 – DNA Barcoding.

```
>A3_L5950 -- 19..980 of sequence
GAGCAGGATAGTTGGGAATAGCTTTAAGTCTACTAATTCGCGCTGAACCTAGGTCAACCTGG
ATCTCTTTTAGGAGATGATCAGATTTATAATGTGATCGTAACCGCCCATGCATTTGTAAAT
AATCTTTTTTATGGTTATACCAAGTAATGATTGGTGGCTTTGGAAATTGACTTGTTCCTTT
AATAAATTGGTGACACAGATATAGCATTTCCTCGAATAAATAACATGAGTTTCTGGCTTCT
CCCTCCTTCGTTCTTACTTCTGCTGGCTCCGAGGAGTARAAGCTGGGGCAGGAACCGG
ATGAACCTGTTTATCCACCTTTAGCAGGTAATTTAGCACATGCTGGTCCCTCTGTTGATT
AGCCATCTTCTCCCTTCATTTGGCCGGTATCTCATCAATTTAGCCTCAATTAATTTTAT
TACAACCTATTATTAATAATAAAACCCCGAGCTATTTCTCAATATCAAACACCATTTATTTG
TTGATCTATTTCTTATTACCACCGTTCTTACTCTCTGCTCCTCTGTTCTTGCAGCCGG
AATTACAATATTATTAACAGACCGCAACCTCAACACTACATTCTTTGATCCCGCAGGTGG
AGGGGACCCCAATTCTCTATCAGCACTTATTTTGATTTTTTGGCCACCCAGAAGTATATAT
TTTAATTTTACCAGGTTTCGGTATAATTTACATGTTGTTGCCTACTATTCAAGTAAAAA
AGAACCTTTCGGATATATGGGTATAGTATGAGCAATAATAGCAATTGGACTACTTGGTTT
TATCGTATGGGCCCATCACATATTTACAGTAGGTATAGACGTAGATACTCGAGCCTATTT
TACCTCTGCAACAATAATTTATGCCATCCCAACAGGCGTTAAAGTGTTTAGCTGATTAGC
AACCCTTCACGAGGATCTATTAATGAGAAACCCCTACTCTGAGCCCTAGGTTTATTTAT
TT
```

Αλληλουχία δείγματος A3 – DNA Barcoding.

```
>20A1- 34..983 of sequence
ATGAGCAGGTATAGTTGGGACAGCCCTAAGCCTCCTAATTCGAGCTGAACCTGGGCAACC
TGGATCTCTTTTAGGAGATGATCAGATTTATAATGTAATTGTAACCGCCCATGCTTTTGT
AATAATCTTTTTTATGGTTATACCAATCATAAATTGGTGGTTTCGGAAATTGACTAGTTCC
TTTAATAATTGGAGCACCAGATATAGCCTTCCACGAATAAATAACATAAGCTTCTGACT
TCTTCCACCATCATTTCTTMTCTCTCGCTCTGCTGGAGTTGAAGCCGGAGCAGGTAC
TGGTTGAACAGTTTATCCTCCTTATGCTAGTAACCTAGCACATGCTGGACCATCTGTTGA
TTTAGCTATTTTCTCTCTTCACTTAGCCGGTATTTATCATCAATTTTAGCTTCAATTAACCT
TATTACAACCATTTATTAATAAAACCCAGCCTTTCCCAATATCAAACACCATTTATTTG
TGTTTGATCTATTTCTGTAACCACTATTCTTCTCTCTAGCACTTCCAGTTCTTGCAGC
AGGTATTACAATATTACTTACAGATCGTAACCTTAATACTACATTTCTTGACCTTGCAGG
TGGAGGAGATCCAATCCTTTATCAGCACTTATTTTGATTTTTTGGTCATCTGAAGTTTA
TATCTTAATTTTACCTGGTTTCGGAATAATCTCACATGTAGTAGCCTATTTATCAGGTAA
GAAAGAACCTTTCGGATATATGGGTATAGTTTGAGCAATAATAGCAATTGGTCTACTTGG
CTTTATTGTATGAGCCCATCATATATTTACAGTAGGTATAGACGTAGATACTCGAGCCTA
TTTCAACCTCCGCAACAATAATTTATCGCTATTTCTACAGGTGTTAAAGTCTTTAGCTGATT
AGCAACCTTCATGGAGGGACTATTAATGAGATACCTCTCTTCTCTGAG
```

Αλληλουχία δείγματος 20A1 – DNA Barcoding.


```
>20A2b- 20..1004 of sequence
CGGCCGCCATGGCGGCCGCGGAATTCGATTCAATCACAAAGATATCGGCACCCCTGTATT
TAATCTTTGGTGCTTGAGCAGGAATAGTTGGTACTGGCTGAGCTTACTTATTCGAACCTG
AACTCAGCCCAACCAGGCACACTTCTTGGGGATGACCAAATCTATAATGTAGTTGTTACAG
CCCATGCCCTTTGTAATAATCTTCTTTATAGTTATACCAATCATGATTGGAGGCTTCGGAA
ATTGACTTGTACCCCTAATAATTGGTGCCCGACAGATAGCATTCCACGCATAAATAACA
TGAGCTTCTGATTGTTACACCCCTCCTTCTTCTTCTACTGGCTTCGCCGGAGTTGAGG
CCGGGCTGGAACAGGTTGAACCGTATACCCCCCACTTGTGTTAACCTTGCCCATGCTG
GGGCTCTGTGGACTTAGCTATTTTTTCATTACATCTGGCAGGGATCTCCTCTATTTTAG
CATCTATTAACTTCATTACAACATTATTAAACATAAAACCCCAAGCAATTTCCAGTATC
AAACGCCCTTATTCTGTTTGTATCTATTCTTGTGACGACAGTCTCCTCTACTTTTCATTAC
CAGTCTTAGCCGCTGGAATCACTATGCTTTTAAACAGACCGTAATTTAAACACAACCTTTT
TTGACCCAGCGGGAGGAGGAGACCGATTCTCTATCAACACTTATTCTGATTCTTTGGCC
ATCCAGAAGTATATCTTAATCTACCAGGCTTTGGAATAATTTCCCATGTGGTGCCTCT
ATTATTGAGTAAAAAGAACCTTTTGGTTATATAGGAATAGTATGAGCAATAATAGCAA
TTGGATTGCTTGGTTTCATTGTATGAGCCACCATATATTACGGTTGGAATAGATGTGG
ACACTCGAGCTTATTACCTCAGCAACCATAATTATTGCCATCCCAACCGGAGTTAAGG
TTTTTAGCTGACTGGCAACCTTCA
```

Αλληλουχία δείγματος 20A2 – DNA Barcoding.

```
>20A3b- 20..289 of sequence
CCGGCCGCCATGGCGGCCGCGGAATTCGATTAGAAAATGTTGTGGGAAAAAGTGCGGGA
AATAGGACAGATGCAGTCAAGGGCCCTGTCAACTACAGTGGAGGGGAAAAAGGTTGACAT
ATTGGAAGCACTGGTGTGGAAGGTGGTATCATTAGAACAGATGCGACGGAGATGGAGAAA
CTGGGGAAGGGAATAGGGTCTTTGTAGGAATGGGTGGGAGGACGTGTAATCAAGATA
GCTGTGGAAGTGGGTGGGCTTATAATAGAT
```

Αλληλουχία δείγματος 20A3 – DNA Barcoding.

```
>20A4- 16..933 of sequence
TGMTGAGCAGGAATGGTAGGGACAGCCCTAAGCCTTTTAAATTCGWGCGGAAGTGGGTGAG
CCTGGTTCCCTCCTAGGGGATGATCAGATTTATAATGTTATTGTAACCGCCATGCATTT
GTAATAATTTTCTTTATGGTCATGCCGTAWKAATTGGAGGCTTTGGAAATTGACTAGYA
CCTTKAATGATCGGAGCACCAGACATAGCCTTCCCGCAATAAAATACATAAGTTTCTGG
CTCCTACCCCTTCTTTCTTCTACTCTTGGCCTCAGCCGGAGTTGAGTCAGGAGCCGGC
ACTGGCTGAACAGTCTACCCCTCCCTAGCTGGCAACTAGCACACGCCGGAGCATCTGTT
GATCTAGCCATTTTCTCCTCCACCTGGCTGGTATCTCGTCCATCTAGCTTCCATTAACT
TTATTACAACCATCATCAACATAAAACCCCGCAATCTCCCAATACCAACACCCCTG
TTTGTSTGGTCCRTTCTAGTGACAACCTCCTCTCTTTTAGCACTCCAGTGCTCGCC
GCTGGCATTACAATATTACTTACGGACCGAAACCTAAACACAACATTCTTTGATCCGGCC
GGAGGAGGTGATCCTATCTCTACCGCATCTGTTCTGATTTTTTGGCCATCCAGAGGTC
TACATTCTTATCCTTCTGGCTTTGGGATAATCTCCCATGTTGTAGCCTACTACTCTGGC
AAAAAAGAACCTTTGGCTACATGGGAATAGTTTGAGCAATAATAGCAATTGGCTGTCTA
GGCTTCATCTGCTGGGCCCATCATATGTTTACCGTAGGAATGGATGTTGACACGCGAGCC
TACTTCACCTCAGCAACGATAATTATGCCATCCCTACAGGTGTAAGTCTTCAGTTGA
CTAGCGACCTTCATGGA
```

Αλληλουχία δείγματος 20A4– DNA Barcoding.

```
>20A5- 10..989 of sequence
ACGCGTTGGGAGCTCTCCCATATGGTGCACCTGCAGCGGCCGCGAATTCAGTAGTGATT
ACAATCACAAAGATATTGGCACCTTTATTTAATCTTCGGTGATGAGCAGGAATAGTGG
GAATAGCTTTAAGCCTTCTAATTCGAGCGAATTAGGCCAACCCTGGGTCACTTCTAGGAG
ATGATCAGATTTATAATGTTATTGTAACCGCCATGCATTCGTAATAATCTTCTTCATGG
TTATGCCCGTAATAATTGGTGGGTTTGGAACTGATTAGTACCATTAATAATTGGTGCAC
CAGATATAGCCTTCCACGAATAAAATACATAAGCTTTTGACTTCTACCTCCTCTTTTC
TTTTACTTCTGGCTTCAGCTGGAGTTGAAGCCGGAGCCGGTACTGGTTGAACAGTTTATC
CCCTTTAGCTGGTAACCTAGCACATGCTGGAGCATCCGTTGACTTAGCCATCTTCTCTC
TCCATTTAGCAGGCATCTCATCAATTTTAGCTTCAATTAACCTTTATTACAACCATTAATA
ATATAAAACACCAGCCATCTCTCAATATCAAAACACCATTTATTGTGTGATCAATCTAG
TAACAACATATCTCTCTATTATCCCTCCAGTACTCGCAGCAGGTTATACAATATTAC
TTACTGATCGCAATCTAAATACAACATTCTTTGATCCAGCAGGAGGAGGAGATCCAATTC
TTTATCAACATCTATTTTGATTTTTTGGCCACCAGAAAGTTTATATTTTAATCTTCTCTG
GCTTTGGAATAATTTCTCATGTAGTAGCTTACTATTCTGGTAAAAAAGAACCATTTGGCT
ATATAGGTATAGTTTGAGCAATAACAGCAATTGGATTACTAGGTTTATTGTTGTAGGCC
ACCATATATTTACAGTAGGTATAGACGTTGATACMCGACCTATTTTACCTCAGCAACAA
TAATTATTGCCATTTCCAMA
```

Αλληλουχία δείγματος 20A5– DNA Barcoding.

```
>20A6-17..832 of sequence
TGCTCCCGGCCCATGGCGGCCGCGGAATTCGATTAGAAAATGTTGTGGGAAGAATGT
TASKTTAACTCCGATGAATATAACCGCGAATTGGATTTTTGTTTCATGTTGAATGAAGGT
GTAGCCAGATATTAAGGGGAATCAGTGGATAAAACCTGCTATAATAGCGAATACTGCTCC
TATTGAAAGGACATAGTGAAGTGGGCTACTACATAAAGTATCTGGGAGAACGATATC
TAAGGAGGAATTAGCTAGGACAATTCGGTTAGTCTCTACCGTAATAAGGAAGATGAA
CCCAAGAGCTCATAGTAGGGGGTTTCTCATTTAACTGAGCCTCCATGAAGGGTTGCTAA
TCAGCTAAAGACTTTTACACCCGTGGGATGGCAATAATTATTGTTGCTGAAGTAAAGTA
GGCTCGTGATCAACATCCATTCTACTGTAAATATATGGTGGCTCAGACATAAAGCC
TAATAGACCGGATTGCTATTATTGCTCAAACATTCTATGTAGCCGAATGGTTCTTTTTT
CCCGAATAATAGGCTACTACATGGGAAATTATTCAAAACCGGGAAGGATTAAATGTA
AACTTCTGGGTGACCGAAGAATCAGAACAGGTGTTGGTAGAGAAATAGGGTCCCTCCCCC
TGCTGGGTCAAAGAATGTTGTGTTTAGGTTCCGATCGGTAAGCAATATTGTATGCCGCG
TGCAAGTACTGGGAGGGCTAAAAGAAGAGGATGGTTGTAGTAGAATTGATCACACGA
ATAATGGGTGTTGATACTGGGAGATGGCTGGGG
```

Αλληλουχία δείγματος 20A6 – DNA Barcoding.


```
>20A7-10..771 of sequence
RTCRMTGCTCCGGCCGCCATGGCGGCCGCGGAATTCGATTAGAAAATGTTGTGGGAAGA
ATGTTAAATTAACCTCAATAAATATTACTGCAAAATGGATTTTTGTTTCATGTTGAATGGA
GAGTATAACCAAGAGATGAGAGGGAATCAGTGGATGAAGCCTGCTATAATAGCGAACACTG
CTCCTATTGAAGGACATAATGGAAATGGGCTACTACATAGTAGGTATCATGAAGGACGA
TATCTAAGGAGGAGTTGGCCAGGACGATACCTGTTAGTCTCTACTGTGAATAAGAAGA
TAAATCCAAGGGCTCATAGTAATGGGGTATCTCATTTAACAGAGCCCCGTGAAGAGTTG
CTAATCAGCTAAATACTTTTACACCTGTGGGGATAGCAATAATTATTGTTGCTGAGGTGA
AATAGGCTCGTGATCAACGCTTATTCTACTGTAAACATATGGTGGGCTCAGACAATAA
AACCTAGTAATCCAATCGCTATTATTGCTCAAACATAGCTATGTAGCCGAATGGTCTCT
TTTTACCAGAATAATAAGCTACTACATGGGAGATTATCCAAAGCCGGGGAGAATCAAAA
TGAGACTTCTGGGTGACCAAAAAATCAAAATAGATGTTGGTAAAGAATTGGATCTCCTC
CTCCTGCTGGGTCAAGAATGTTGTGTTTAGGTTTCGATCAGTTAATAATTATTATGATGC
CGGCTCGAGTACTGGGAGGATAAGAGGAGGAGGATGGCTC
```

Αλληλουχία δείγματος 20A7 – DNA Barcoding.

```
>20A8_17..1000 of sequence
AGCAGGTATAGTTGGGACAGCCCTAAGCCTCCTAATTCGAGCTGAACCTGGGCAACCTGG
ATCTCTTTTAGGAGATGATCAGATTTATAATGTAATTGTAACCGCCACGCTTTTGTAAAT
AATCTTTTATGGTTATACCAATCATAATTGGTGGTTTCGAAATTTGACTAGTTCCTTT
AATAATTGGAGCACCAGATATAGCCTTCCACGAATAAATAACATAAGCTTCTGACTTCT
TCCACCATCATTCTCTCTCCTCGCCTCTGCTGGAGTTGAAGCCGGAGCAGGCACTGG
TTGAACAGTTTATCTCCATTAGCTAGTAACCTAGCACATGCTGGACCATTCTGTTGATTT
AGCTATTTTCTCTCTTCACTTAGCCGGTATTTTCACTAATTTTAGCTTCAATTAACCTTAT
TACAACCATTTATTAATAAAACCAACGAGCATTCCCAATATCAAAACCATTTATTTGT
TTGATCTATTCTTGAACCACTATTCTTCTCTAGCACTTCCAGTTCTTGACGAGG
TATTACAATATTACTACAGATCGTAACCTTAATCTACATCTTTTGACCTGCAAGGTGG
AGGAGATCCAATCCTTTATCAGCACTTATTTGATTTTTTGGTCATCTGAAGTTTATAT
CTTAATTTTACCTGGTTTCGGAATAATCTCACATGTAGTAGCCTATTATTAGGTAAGAA
AGAACCCTTCGGATATATGGGTATAGTTTGAGCAATAATAGCAATTGGTCTACTTGGCTT
TATTGATAGGCCCATCATATATTTACAGTAGGTATAGACGTAGATACTCGAGCCTATTT
CACCTCCGCAACAATAATTATCGCTATTCCTACAGGTGTTAAAGTCTTTAGCTGATTAGC
AACCTTTCATGGAGGACTATAAATGAGATACTCCTCTCTGAGCTTTAGGTTTATCT
TCCTTTTACAGTAGGTGTTTAACT
```

Αλληλουχία δείγματος 20A8 – DNA Barcoding.

```
>20A9_18..1026 of sequence
GCAGGTATAGTTGGGACAGCCCTAAGCCTCCTAATTCGAGCTGAACCTGGGCAACCTGGA
TCTCTTTTAGGAGATGATCAGATTTATAATGTAATTGTAACCGCCACGCTTTTGTAAATA
ATCTTTTATGGTTATACCAATCATAATTGGTGGTTTCGAAATTTGACTAGTTCCTTTA
ATAATTGGAGCACCAGATATAGCCTTCCACGAATAAATAACATAAGCTTCTGACTTCTT
CCACCATCATTCTCTCTCCTCGCCTCTGCTGGAGTTGAAGCCGGAGCAGGTACTGGT
TGAACAGTTTATCCTCCATTAGCTAGTAACCTAGCACATGCTGGACCATTCTGTTGATTTA
GCTATTTTCTCTCTTCACTTAGCCGGTATTTTCACTAATTTTAGCTTCAATTAACCTTTAT
ACAACCATTTAATAATAAAACCAACGAGCATTTCCTCAATATCAAAACCATTTATTTGT
TGATCTATTCTGTAAACCACTATTCTTCTCTCCTAGCACTTCCAGTTCTTGACGAGGT
ATTACAATATTACTTACAGATCGTAACCTTAATACTACATTTTGGCCCTGCAAGGTGGA
GGAGATCCAATCCTTTATCAGCACTTATTTTGTATTTTGGTCATCTGAAGTTTATATC
TTAATTTTACCTGGTTTCGGAATAATCTCACATGTAGTAGCCTATTATTAGGTAAGAAA
GAACCCTTCGGATATATGGGTATAGTTTGAGCAATAATAGCAATTGGTCTACTTGGCTTT
ATTGTATGAGCCCATCATATATTTACAGTAGGTATAGACGTAGATACTCGAGCCTATTTT
ACCTCCGCAACAATAATTATCGCTATTCCTACAGGTGTTAAAGTCTTTAGCTGATTAGCA
ACCCTTTCATGGAGGACTATTAATGAGATACTCCTCTCTGAGCTTTAGGTTTATCT
TCCTTTTACAGTAGGTGTTTAAACAGGATTGCTCTAGCTAATCCTCAT
```

Αλληλουχία δείγματος 20A9 – DNA Barcoding.

```
>20B1-12..714 of sequence
TTCGMTGCTCCGGCCGCCATGGCGGCCGCGGAATTCGATTAGAAAATGTTGTGGGAAGA
AGGTTAAATTAACCTCAATAAATATTAGTATAAATGAATTTTAGTTAGGTTAGGTTAGT
GGGTGAAGCCTGAAATTAATGGGAATCAATGAACAAAGCCTGCTATAATGGCAAACTCTG
CTCCTATTGATAATACATAGTGAAGTGGGCTACTACATAATAGGTATCGTGAAGAACA
TATCTAAAGATGAATTAGCTAAAAACAACCTCTGTTAAGCCACCTACTGTAATAAAAAA
TGAAACCTAGGGCTCAGAGAAGTGGGTTTCTCATTTAATGGAACTCCGTGAAGGGTTG
CTAGTCAACTAAAGACTTTAACACCTGTTGGGATGGCAATGATTATTGTTGCTGAGGTAA
AGTAGGCACGGGTATCAACATCTATACCACTGTAATATATGGTGGGCTCAGACAATAA
AGCCTAATAAACCAATAGCTATTATTGCTCAAACCTATTCTATATAACCGAATGGTCTT
TTTTCTGAAATAGTAAGCTACTACATGGGAAATTTTCCGAAGCCAGGAAGAATTAAAA
TATAAATCTCTGGGTGACCAAAAAATCAAAATAGATGTTGATAGAGAATAGGATCTCCTC
CCCCGAAAGGTCAAAGAATGTTGATTAAATACGATCAGT
```

Αλληλουχία δείγματος 20B1 – DNA Barcoding.

```
>20B2-8..762 of sequence
ASTCRTSCTCCGGCCGCCATGGCGGCCGCGGAATTCGATTAGAAAAATGTTGTGGGAAGA
AAGTTAAATTTGACTCCAATAAATATTAAATGTAATTTAGTTTCAGGTAGAATGTA
GGGTAAAGCCTGAAATTAATGGGAATCAGTGAACGAAGCCTGCTATAATGGCAAACTCG
CTCCTATTGACAGGACATAGTGGAAATGGGCTACTACATAATAGGTATCGTGAAGAACAA
TATCTAAAGATGAATTAGCTAAAACAACTCCTGTTAAGCCACCTACTGTGAATAAAAAAA
TAAACCTAGGGCTCATAGAAGTGGAGTCTCTCATTTAATTGAGCCTCCGTGAAGAGTTG
CTAATCAACTAAAACTTTAACGCCTGTTGGAATGGCAATAATTATTGTTGCTGAGGTAA
AGTAAGCACGGGTATCAACATCTATCCCACTGTAATATATGGTGGGCTCAAAACAATAA
AGCCTAATAAACCAATAGCTATTATTGCTCAAACTATTCTATGTAACCGAATGGTCTTT
TTTTCTGAATAGTAAGCTACTACATGGGAAATTTATCCGAAGCCAGGAAGAATTAGAA
TATAAACTTCTGGGTGACCAAAAAATCAAAAGAGATGTTGGTAGAGAATGGGATCTCCCC
CTCCCGAGGGGTCAAAGAATGTTGATTTAGATTACGATCAGTTAATAATATAGTAATTC
CAGCTGAAGGACTGGGAAAGAAAGGARAATTA
```

Αλληλουχία δείγματος 20B2 – DNA Barcoding.

```
>20B3a_T7 -- 9..848 of sequence
STCGMTGCTCCGGCCGCCATGGCGGCCGCGGAATTCGATTAGAAAAATGTTGTGGGAAGA
AAGTTAAATTTGACTCCAATAAATATTAAATGTAATTTAGTTTCAGGTAGAATGTA
GGGTAAAGCCTGAAATTAATGGGAATCAGTGAACGAAGCCTGCTATAATGGCAAACTCG
CTCCTATTGACAGGACATAGTGGAAATGGGCTACTACATAATAGGTATCGTGAAGAACAA
TATCTAAAGATGAATTAGCTAAAACAACTCCTGTTAAGCCACCTACTGTGAATAAAAAAA
TAAACCTAGGGCTCATAGAAGTGGAGTCTCTCATTTAATTGAGCCTCCGTGAAGAGTTG
CTAATCAACTAAAACTTTAACGCCTGTTGGAATGGCAATAAATATTGTTGCTGAGGTAA
AGTAAGCACGGGTATCAACATCTATCCCACTGTAATATATGGTGGGCTCAAAACAATAA
AGCCTAATAAACCAATAGCTATTATTGCTCAAACTATTCTATGTAACCGAATGGTCTTT
TTTTCTGAATAGTAAGCTACTACATGGGAAATTTATCCGAAGCCAGGAAGAATTAGAA
TATAAACTTCTGGGTGACCAAAAAATCAAAAGAGACGTTGGTAGAGAATGGGATCTCCCC
CTCCCGAGGGGTCAAAGAATGTTGATTTAGATTACGATCAGTTAATAATATAGTAATTC
CAGCTGAAGGACTGGGAGAGAAAGGAGAAGTAAAAATAGTAGTGACGAAAATAGATCAAA
CAAAAGAGGGGTCTGGTATTGGGAGATAGCTGGGGTTTTATATTAATGATAGTGGTGA
```

Αλληλουχία δείγματος 20B3 – DNA Barcoding.

```
>20C1
GTGHTGAGCAGGATAGTAGGTACAGCCCTTAGTTTACTTATTGGAACAGAATTAAGCCAA
CCTGGTACACTTTTAGGAGATGACCAAATCTACAATGTTATTGTAACGCTCACGCTTTC
GTGATAATCTTCTTTTAGTAATGCCTGTAATAATTGGTGGGTTTGGGAATGGCTAGTG
CCTTTAATAATTGGCGCACCGGATATAGCTTTCCACGAATAAATAATATAAGCTTCTGA
TTATTACCCCCCTCTCCTTTTACTTCTAGCCTCCGCTGGKGTAGAAGSG
```

Αλληλουχία δείγματος 20C1 – DNA Barcoding.

```
↳20C2
GCAGGGATAGTGGGTACTGGTCTTAGCCTGCTAATTCGAACAGAATTAAGCCAGCCAGGA
GCCTTACTAGGTGACGACCAATCTATAATGTGATCGTTACTGCCCATGCTTTTGTAAATA
ATTTTCTTTATAGTGATACCAATTATAATTGGTGGGTTTGGTAATTGACTAGTCCCTTA
ATAATCGGTGCTCCAGATATAGCCTTTCCACGAATAAAACAATAAGCTTTTGACTTCTT
CCTCCATCTTCTTTTATTATTAGCTTCAGCAGGAGTAGAAGCTGGAGCTGGAACCGGA
TGAACCGTCTATCCTCCCTGGCTGGTAATCTAGCGCATGCTGGAGCTCTGTAGATCTT
ACTATCTTTTCCCTACACTTAKCTGGGTTTCTCTCCTTTT
```

Αλληλουχία δείγματος 20C2 – DNA Barcoding.

```
> 20C3
TAAAAACACCTCCCGTCTCTTGCTAYTTTGTCTCCAACCCCTAYWTATTCTGGATATC
ATCTACACTCCCYCACCTCTCYGTCTTTATCTTTSTTAATATYCGCGRCATTCTCCCATAT
CTTTCCCTCARTATCACTTTCTCCCYACSCCKGTTSTTTCTGTATGAGGSCATATA
TCTATTACTCTCTGCTCAAA
```

Αλληλουχία δείγματος 20C3 – DNA Barcoding.

```
↳20C4
RAGGATAGTAGGTACAGCCCTTAGTTTACTTATTGGAACAGAATTAAGCCAACTGGTAC
ACTTTTAGGAGATGACCAAATCTACAATGTTATTGTAACGCTCACGCTTTCGTGATAAT
CTTCTTTTATAGTAATGCTGTAAATAATTGGTGGGTTTGGGAATTTGGCTAGTGCTTTAAT
AATTGGCGCACCGGATATAGCTTTTCCACGAATAAATAAATAAGCTTCTGATTATTACC
CCCCCTCTCTCTTTTACTTCTAGCCTCCGCTGGTGTAGAAGCGGGAGCCGGAACCGGATG
AACAGTATATCCCTCTTGGGAGCAATATAGCTCACGACGAGCATCTGTAGATTTAGC
CATCTTTTCCCTTCATTTGGCGGTAATTTCTCGATTCTAGCCTCTATTAAATTTATCAC
AACTATTATTAAATAAAACCAACCCGCAATTTCCCAATATCAAAACCACTTTTGTGTTG
ATCTATCTTTGTAACACTGCTCCTCCTCCTAGCCCTTCCGCTCCTTGCAGCCGCAAT
TACAATATTATTAACTGACCGTAATTTAAACACAACGTTTTTGTATCCCGCAGGAGGAGG
AGACCCCATCTCTATCAACACTTATTTTGAATTTTGGTCACCCCTGAAGTTTATATTTT
AATTTTACCAAGTTTTCGGAATAATTTACATGTAGTAGCTTATTACTCAGGAAAAAAGA
ACCTTTTGGCTATATAGGCATAGTCTGAGCAATAATAGCAATTGGCTACTAGGCTTTAT
TGATGAGCCACCATATTTTACAGTAGGAATAGACGTTGACACCCGAGCCTATTTTAC
CTCAGCAACAATAATCATTGCCATCCCAACCGGGTAAAGTTTTTGTGTTAGTAGCAAC
CCTTCAGGAGGCTCTATTAAATGAGAAACCA
```

Αλληλουχία δείγματος 20C4 – DNA Barcoding.

```
>20C5
CCGGCCGCCATGGCGGCCGCGGGAATTCGATTAGAAAATGTTGTGGGAAGAATGTTAAAT
TAACTCCAATAAATATTACTGCAAAATGGATTTTGTTCATGTTGAATGGAGAGTATAAC
CAGAGATGAGAGGGAATCAGTGGATGAAGCCTGCTATAATAGCGAACACTGCTCCTATTG
AAAGGACATAATGGAATGGGCTACTACATAGTAGGTATCATGAAGGACGATATCTAAGG
AGGAGTTGGCCAGGACGATACCTGTTAGTCTCTACTGTGAATAGGAAGATAAATCCAA
GGGCTCATAGTAATGGGGATCTCATTTAAACAGAGCCCCCGTGAAGAGTTGCTAATCAGC
TAAATACTTTTACACCTGTGGGAGAGCAATAATTATTGTTGCTGAGGTGAATAGGCTC
GTGTATCAACGCTATTCTACTGTAAACATATGGTGGGCTCAGACAATAAAACCTAGTA
ATCCAATCGCTATTATTGCTCAAACTATGCCTATGTAGCCGAATGGTTCTTTTTTACCAG
AATAATAAGCTACTACATGGGAGATTATTCAAAGCCGGGAGAGTCAAAATGTAGACTT
CTGGGTGACCAAAAATCAAAATAGATGTTGGTAAAGAATTGGATCTCCTCCTCCTGCTG
GGTCAAAGAATGTTGTGTTTAGGTTTCGATCAGTTAATAATTTGTGATGCCGGCTGCGA
GTACTGGGAGGATAAGAGGAGGAGGATGTTGTTWCTAG
```

Αλληλουχία δείγματος 20C5 – DNA Barcoding.

```
└20C6
GWGMTGAGCAGGATAGTGGGAACAGCCCTCAGCCTTCTAATTCGAGCCGAGTTAGGCCAG
CCCGGATCACTCCTAGGGGATGATCAGGTCTATAATGTTATCGTAACCGCCATGCATTT
GTAATAATCTTCTTTCATGGTTATACCCGTAATAATTGGGGGATTTGAAACTGATTAGTA
CCCTTAATAATTGGTGACACGACATGGCCTTCCCGCAATAAATAACATAAGCTTTTGA
CTCCTTCCCTTCTTTTCTCTTACTCCTAGCTTCAGCTGGGGTTGAAGCTGGAGCTGGC
ACTGGTTGAACAGTTTATCCCCCTTAGCTGGCAACTAGCACATGCTGGGGCATCTGTT
GACTTGGCCATTTTCTCGCTTCATTTAGCAGGTATCTCATCAATTTAGCTTCAATTAAAC
TTTATTACAACATCATTAAATATAAAACCACAGCCATCTCTCAATATCAAAACACCATTA
TTTGATGATCAATCCTAGTAACAACCATCCTCCTCCTTATCCTCCTCCAGTACTCGCA
GCCGGCATCACAATATTATTAACGTATCGAAACCTAAACACAACATTCTTGACCCAGCA
GGAGGAGGAGATCCAATCTTTACCAACATCTATTTGATTTTTTGGTCACCCAGAAAGTC
TACATTTTGAATCTCCCGGCTTTGGAATAATCTCCCATGTAGTAGCTTATTATTCTGGT
AAAAAAGAACCATTCGGCTACATAGGCATAGTTTGAAGCAATAATAGCGATTGGATTACTA
GGTTTTATTGTCTGAGCCACCATATGTTTACAGTAGGAATAGACGTTGATACACGAGCC
TATTTACCTCAGCAACAATAATTATTGCTATCCCCACAGGTGTAAGTATTAGCTGA
TTAGCAACTCTTCACGGGGCTCTGTTAAATGAGATACCCCATTAATAAGAGCCCTTGA
TTTATCTTCTTATTACAGTAGGAGGACTAACAGGTATCGTCTGGCCAACCTCCTCTTA
GATWTC
```

Αλληλουχία δείγματος 20C6 – DNA Barcoding.

```
>20C7
MTGACAGGATAGTGGGAATAGCTTTAAGCCTTCTAATTCGAGCCGAATTAGGCCAACCT
GGGTCACTTCTAGGAGATGATCAGATTATAATGTTATTGTAACCGCCATGCATTCTGTA
ATAATCTTCTCATGGTTATACCCGTAATAATTGGTGGGTTGGAACTGATTAGTACCA
TTAATAATTGGTGACACGATATAGCCTTCCACGAATAAATAACATAAGCTTTTGACTT
CTACCTCCTTCTTTTCTTCTTACTTCTGGCTTCAGCTGGAGTTGAAGCCGGAGCCGGTACT
GGTTGAACAGTTTATCCCCCTTTAGCTGGTAACCTAGCACATGCTGGAGCATCCGTTGAC
TTAGCCATCTTCTCTCCTCATTTAGCAGGCATCTCATCAATTTAGCTTCAATTAACTTT
ATTACAACCATTTAATAATAAAACCACAGCCATCTCTCAATATCAAAACACCATATTAT
GTGTGATCAATTCTAGTAACAACATATCCTCCTCTATTATCCCTTCCAGTACTCGCAGCA
GGTATTACAATATTACTTACTGATCGCAATCTAAATACAACATTCTTTGATCCAGCAGGA
GGAGGAGATCCAATCTTTATCAACATCTATTTGATTTTTTGGCCACCCAGAAAGTTTAT
ATTTTAATTCTTCTGGCTTTGGAATAATTTCTCATGTAGTAGCTTACTATTCTGGTAAA
AAAGAACCATTTGGCTATATAGGTATAGTTTGAAGCAATAATAGCAATTGGATTACTAGGT
TTTATTGTTTGAAGCCACCATATATTACAGTAGGTATAGACGTTGATACACGAGCCTAT
TTTACCTCAGCAACAATAATTATTGCCATTCCACAGGTGTAAGTATTAGCTGGTTA
GCAACTCTTACGGAGGCTCTATTAATGAGAAACCCATTACTATGAGCCCTTGGATT
ATCTTCTTATTACAGTAGGAGGACTAACAGGCATCGTCTTAGCCATT
```

Αλληλουχία δείγματος 20C7 – DNA Barcoding.

```
└20C8
GGCCGCCATGGCGGCCGCGGGAATTCGATTACAAAGACATCGGTACCCTATATTAAAT
TTTGGTGCCCTGAGCAGGAATAGTGGGTACAGCCCTGAGTCTACTTATTGAAACAGAATTA
AGTCAACCCGGAACACTTTTAGGAGATGACCAGATTACAATGTAATTGTTACTGCCAC
GCCTTCGTAATAATCTTCTCATAGTAATACCCGTAATAATTGGTGGGTTGCGAAATTGA
CTAGTACCCTTAATGATCGGTGCTCCAGATATAGCTTTCCACGAATAAATAATATAAGC
TTCTGATTATTACCCCTTCTTTTACTCCTTTAGCCTCAGCTGGGTGAGAGGCAGGT
GCCGGCACCAGGTTGAACAGTCTATCCACCATTCGAGGTAATCTAGCTCACGAGGGGCA
TCCGTAGACCTAACTATTTTTTCAATACATCTAGCTGGTATTCTCTCAATTCTAGCATCA
ATTAATTTCAATACCACTATTATTAATATGAAACCCCAAGCTATTTCCCAATACCAACC
CCTCTTTTGTGTTGATCAATTTTGTCACTACTATTCTTCTCCTCCTTTCCCTCCTGTC
CTTGACGCTGGAATTACTATACTAATTAACGTATCGTAATTAATAACAACATTCTTTGAC
CCTTCAGGGGGAGGAGATCCTATTCTCTATCAACATCTATTTGATTTTTTGGTCACCCA
GAAGTTTATATTTTAATTTCTTCTGGCTTCGGAATAATTTCCCATGTAGTAGCTTACTAT
TCAGGAAAAAAGAACCATTCGGTTATATAGGAATAGTTTGAAGCAATAATAGCTATTGGT
TTATTAGGCTTTATTGTCTGAGCCACCATATTTACAGTTGGTATAGATGTTGATACC
CGTGCCTACTTTACCTCAGCAACAATAATCATTGCCATCCCAACAGGTGTTAAAGTCTTT
AGTTGACTAGCAACCTTTCACGGAGGTTCCATTAAATGARAACCCC
```

Αλληλουχία δείγματος 20C8 – DNA Barcoding.

```
>A2_Galeus_melastomus_2
TGGAAATAGCTTTAAGTCTACTAATTCGCGC
TGAACATAGGTCAACCTGGATCTCTTTAGGAGATGATMAGATTTATAATGTGATCGTAAC
CGCCCATGCATTTGTAATAATCTTTTTATGGTTATACCAAGTAATGATTGGTGGCTTTGG
AAATTGACTTGTTCCTTAATAAATGGTGCACCAAGATATAGCATTTCCTCGAATAAATAA
CATGAGTTTCTGGCTTCTCCCTCCTTCGTTCTTACTTCTGCTGGCTCCGAGGAGTARA
AGCTGGGGCAGGAACCGGATGAACGTATTATCCACCTTTAGCAGGTAATTTAGCACATGC
TGGTCCCTCTGTTGATTTAGCCATCTTCCCTTCATTTGGCCGGTATCTCATCAATTTT
AGCCTCAATTAATTTTATTACAACATATTATTAATAAAAAACCCAGCTATTTCTCAATA
TCAAAACACCATTTATTTGTTGATCTATTCTTATTACCACCGTTCTTCTACTCCTTGCTCT
CCCTGTTCTTGACGCCGAATTACAATATTATTAACAGACCGCAACCTCAACACTACATT
```

Αλληλουχία δείγματος A2 – Φυλογενετική Ανάλυση.

```
>A3_Galeus_melastomus_3
AGATGATCAGATTTATAATGTGATCGTAAC
CGCCCATGCATTTGTAATAATCTTTTTATGGTTATACCAAGTAATGATTGGTGGCTTTGG
AAATTGACTTGTTCCTTAATAAATGGTGCACCAAGATATAGCATTTCCTCGAATAAATAA
CATGAGTTTCTGGCTTCTCCCTCCTTCGTTCTTACTTCTGCTGGCTCCGAGGAGTARA
AGCTGGGGCAGGAACCGGATGAACGTATTATCCACCTTTAGCAGGTAATTTAGCACATGC
TGGTCCCTCTGTTGATTTAGCCATCTTCCCTTCATTTGGCCGGTATCTCATCAATTTT
AGCCTCAATTAATTTTATTACAACATATTATTAATAAAAAACCCAGCTATTTCTCAATA
TCAAAACACCATTTATTTGTTGATCTATTCTTATTACCACCGTTCTTCTACTCCTTGCTCT
CCCTGTTCTTGACGCCGAATTACAATATTATTAACAGACCGCAACCTCAACACTACATT
CTTGATCCCGCAGGTGGAGGGGACCCCAATTCTCTATCAGCACTTATTTGATTTTGG
```

Αλληλουχία δείγματος A3 – Φυλογενετική Ανάλυση.

```
>20A6_Cetorhinus_maximus
TCTCCCATATGGTCGACCTGCAGGCGGCCG
CGAATTCACTAGTGATTACAMTCAAAAGATATCGGCACCCTGTATTTAATCTTTGGTGC
ATGAGCAGGAATAGTAGGACAGCCCTAAGCCTCCTAATTCGAGCCGAATTAGGCCAACC
CGGATCACTTCTTGGTGATGATCAAAATTTAATGTTATTGTGACAGCTCATGCATTTGT
AATAATCTTCTCATGGTTATATCCGTAATAATTGGGGGTTTTGGGAACGATTAGTACC
ATTAATAATTGGTGGCCAGACATAGCCTTCCACGAATAAATAATAAGCTTTTGACT
CCTCCCTCCTTCTTCTTACTCTGCGCTCAGCCGGAGTTGAAGCTGGAGCCGGAAC
TGGCTGAACAGTATACCCTCCCTAGCTGGCAATCTAGCACAGCTGGAGCATCCGTTGA
TTTAGCCATCTTTCTCTCCATTTAGCAGGATCTCATCAATTCTAGCTTCAATTAACCT
TATTACAACCATTTAATATGAGGCCACCGCATCTCCAGTATCAAAACACCATTTAT
```

Αλληλουχία δείγματος 20A6 – Φυλογενετική Ανάλυση.

```
>20A8_Prionace_glauca_1
GGACAGCCCTAAGCCTCCTAATTCGAGCTG
AACTTGGGCAACCTGGATCTCTTTAGGAGATGATCAGATTTATAATGTAATTGTAACCG
CCCACGCTTTTGTAAATCTTTTTATGGTTATACCAATCATAATTGGTGGTTTCGGAA
ATTGACTAGTTCCTTAATAAATGGAGCACCAGATATAGCCTTCCACGAATAAATAACA
TAAGCTTCTGACTTCTCCACCATCATTTCTCTCCTCCTCGCTCTGCTGGAGTTGAAG
CCGGAGCAGGCACTGGTTGAACAGTTTATCCTCCATTAGCTAGTAACCTAGCACATGCTG
GACCATCTGTTGATTTAGCTATTTCTCTTCACTTAGCCGGTATTTCAATCAATTTAG
CTTCAATTAACCTTTATTACAACCATTTAATATATAAAACCCAGCCATTTCCCAATATC
AAACACCATTTATTTGTTGATCTATTCTTGAACCACTATTCTCTCTCCTAGCACTTC
CAGTTCTTGACGAGGTATTACAATATTACTTACAGATCGTAACCTTAATACTACATTCT
```

Αλληλουχία δείγματος 20A8 – Φυλογενετική Ανάλυση.

```
>20A9_Prionace_glauca_2
GGACAGCCCTAAGCCTCCTAATTCGAGCTG
AACTTGGGCAACCTGGATCTCTTTAGGAGATGATCAGATTTATAATGTAATTGTAACCG
CCCACGCTTTTGTAAATCTTTTTATGGTTATACCAATCATAATTGGTGGTTTCGGAA
ATTGACTAGTTCCTTAATAAATGGAGCACCAGATATAGCCTTCCACGAATAAATAACA
TAAGCTTCTGACTTCTCCACCATCATTTCTCTCCTCCTCGCTCTGCTGGAGTTGAAG
CCGGAGCAGGTAAGTGGTTGAACAGTTTATCCTCCATTAGCTAGTAACCTAGCACATGCTG
GACCATCTGTTGATTTAGCTATTTCTCTTCACTTAGCCGGTATTTCAATCAATTTAG
CTTCAATTAACCTTTATTACAACCATTTAATATATAAAACCCAGCCATTTCCCAATATC
AAACACCATTTATTTGTTGATCTATTCTTGAACCACTATTCTCTCTCCTAGCACTTC
CAGTTCTTGACGAGGTATTACAATATTACTTACAGATCGTAACCTTAATACTACATTCT
```

Αλληλουχία δείγματος 20A9 – Φυλογενετική Ανάλυση.


```
>20B2_Heptranchias_perlo_1
TCTTCCTGGCTTCGGAATAATTTCCCATGTAGTAGCTTACTATTACAGGAAAAAAGAACC
ATTTCGGTTACATAGGAATAGTTTGAGCAATAATAGCTATTGGTTTATTAGGCTTTATTGT
TTGAGCCCAACCATATATTTACAGTTGGGATAGATGTTGATACCCGTGCTTACTTTACCTC
AGCAACAATAATTTATGTCATTCCAACAGGCGTTAAAGTTTTAGTTGATTAGCAACTCT
TCACGGAGGCTCAATTAATGAGAGACTCCACTTCTATGAGCCCTAGGTTTATTTTTTT
ATTACAGTAGGTGGCTTAACAGGAGTTGTTTTAGCTAATTCATCTTTAGATATTGTTCT
TCACGATACCTATTATGTAGTAGCCATTCCACTATGTCCTGTCAATAGGAGCAGTATT
TGCCATTATAGCAGGCTTCGTTCACTGATTCCCATTAATTTACAGGCTTTACCTACATTTC
TACCTGAACTAAATTCATTTACATTAATTTATTGGAGTCAATTTAATCTTCTCC
ACAACATTTCTAATCGAATTCGCGGCGC
```

Αλληλουχία δείγματος 20B2 – Φυλογενετική Ανάλυση.

```
>20C2_Mobular_mobular
GTGGGTACTGGTCTTAGCTGCTAATTCGA
ACAGAAATTAAGCCAGCCAGGAGCCTTACTAGGTGACGACCAAATCTATAATGTGATCGTT
ACTGCCCATGCTTTTGTAATAATTTCTTTATAGTGATACCAATTATAATTTGGTGGGTTT
GGTAATTGACTAGTCCCTTAATAATCGGTGCTCCAGATATAGCCTTTCCACGAATAAAC
AACATAAGCTTTTGACTTCTTCTCCATCCTTCTTTTATTATTAGCTTCAGCAGGAGTA
GAAGCTGGAGCTGGAACCGGATGAACCGTCTATCCTCCCTGGCTGGTAATCTAGCGCAT
GCTGGAGCCTCTGTAGATCTTACTATCTTTTCCCTACACTTAKCTGGGGTTTCTCCWTT
TTAGCATCCATCAATTTCTTACTACTATTATTAATGAAACACCTGCAATCTCTCAA
TATCAAACACCATTTTGTCTGATCTATCTAATTACAACCTGTCCTTCTTTATTATCC
CTCCAGTCTTASWGCAGMATTACCATACTCTTACAGATCGTAATCTTAATACAAC
```

Αλληλουχία δείγματος 20C2 – Φυλογενετική Ανάλυση.

```
>20C4_Oxynotus_centrina
GTACAGCCCTTAGTTTACTTATTCCGAACAG
AATTAAGCCAACTGGTACACTTTTAGGAGATGACCAAATCTACAATGTTATTGTAACGT
CTCACGCTTTCGTGATAATCTTCTTTTAGTAATGCCTGTAATAATTTGGTGGGTTTGGGA
ATTGGCTAGTGCCCTTTAATAATTGGCGCACCGGATATAGCTTTTCCACGAATAAATAATA
TAAGCTTCTGATTATTACCCCTCTCTCTCTTCTTACTTCTAGCCTCCGCTGGTGTAAG
CGGGAGCCGGAACCGGATGAACAGTATATCCCTCTTGGGAGCAATAATAGCTCACGCGAG
GAGCATCTGTAGATTAGCCATCTTTCCCTTCAATTTGGCCGGTATTCTCTGATTCTAG
CCTCTATTAATTTTATCAACATATTATTAATATAAAACACCCGCCATTTCCCAATATC
AAACACCACTTTTGTGATCTATCCTTGTAACTACTGTCTCTCTCTCTAGCCCTTC
CGTCTTGCAGCCGCAATTACAATATTATTAACAGCCGTAATTAACACACAACGTTT
```

Αλληλουχία δείγματος 20C4 – Φυλογενετική Ανάλυση.

```
>20C6_Alopias_superciliosus_2
AACAGCCCTCAGCCTTCTAATTCGAGCCGA
GTTAGGCCAGCCGGATCACTCTAGGGGATGATCAGGTCTATAATGTTATCGTAACCGC
CCATGCAATTTGTAATAATCTTCTCATGGTTATACCCGTAATAATTTGGGGGATTTGGAAA
CTGATTAGTACCCTTAATAATTGGTGCACAGACATGGCTTCCCGCAATAAATAACAT
AAGCTTTTGACTCTTCCCTCTCTTCTTCTTACTCTAGCTTCAGCTGGGGTTGAAGC
TGGAGCTGGCACTGGTTGAACAGTTTATCCCTCTAGCTGGCAACTTAGCACATGCTGG
GGCATCTGTTGACTTGGCCATTTTCTCGCTTCAATTAGCAGGTATCTCATCAATTTTAGC
TTCAATTAACCTTTATTACAACATCAATTAATATAAAACACCGCATCTCTCAATATCA
AACACCATTAATTGTATGATCAATCTAGTAACAACCATCTCTCTCTCTATCCCTCC
AGTACTCGAGCCGGCATCACAATATTATTAACGTATCGAAACCTAAACACAACATCTT
```

Αλληλουχία δείγματος 20C6 – Φυλογενετική Ανάλυση.

```
>20C7_Odantaspis_ferox_2
AATAGCTTTAAGCCTTCTAATTCGAGCCGA
ATTAGGCCAACCTGGGTCACTTCTAGGAGATGATCAGATTTAATGTTATTGTAACCGC
CCATGCAATTCGTAATAATCTTCTCATGGTTATACCCGTAATAATTTGGTGGGTTTGGAAA
CTGATTAGTACCATTAAATAATTGGTGCACAGATATAGCCTTCCACGAATAAATAACAT
AAGCTTTTGACTTCTACCTCTTCTTCTTCTTACTTCTGGCTTCAGCTGGAGTTGAAGC
CGGAGCCGGTACTGGTTGAACAGTTTATCCCTCTTAGCTGGTAACTTAGCACATGCTGG
AGCATCCGTTGACTTAGCATCTTCTCTCTCTTATAGCAGGCATCTCATCAATTTTAGC
TTCAATTAACCTTTATTACAACATTAATTAATAAAACACCGCATCTCTCAATATCA
AACACCATTAATTGTGATCAATCTAGTAACAACATCTCTCTCTCTATATCCCTTCC
AGTACTCGCAGCAGGTATTACAATATTACTTACTGATCGCAATCTAAATACAACATCTT
```

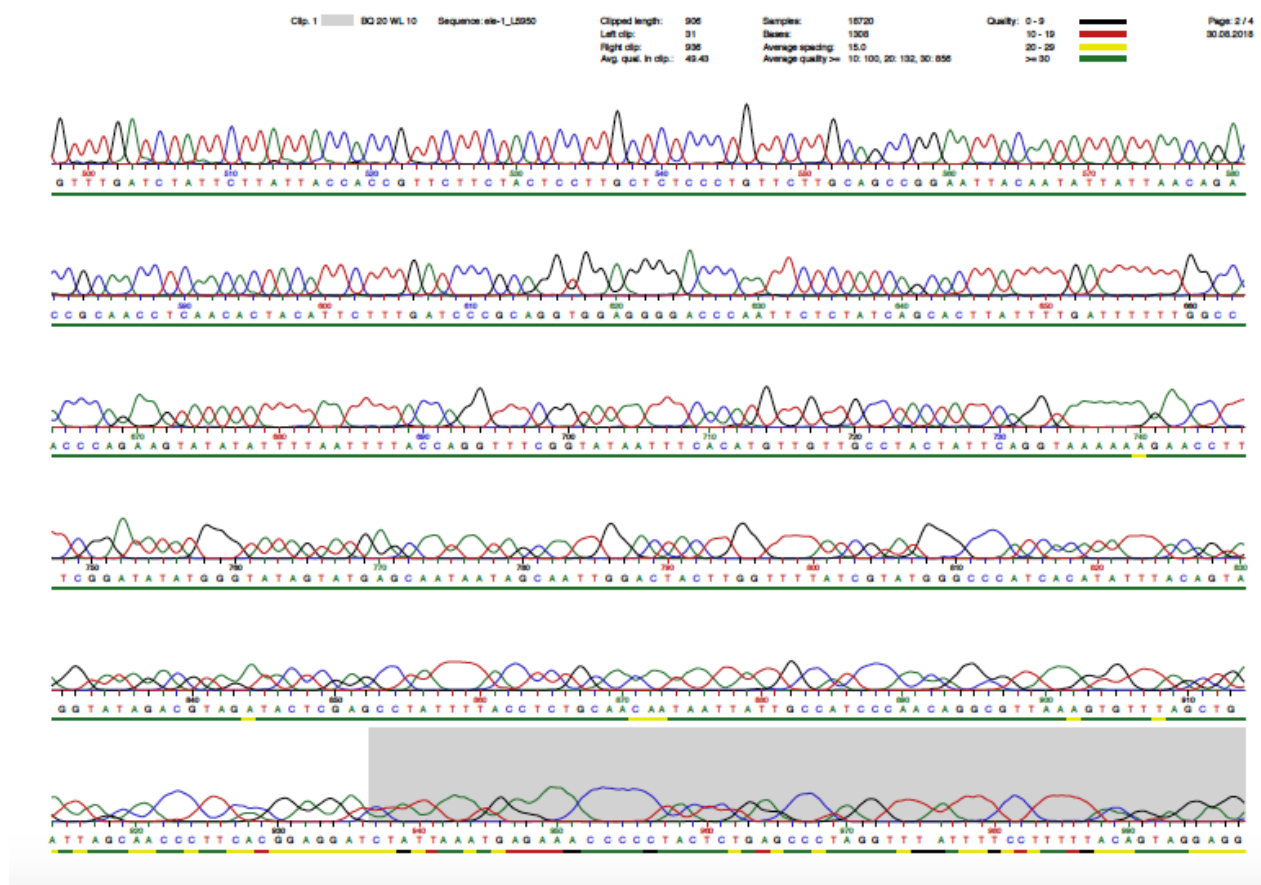
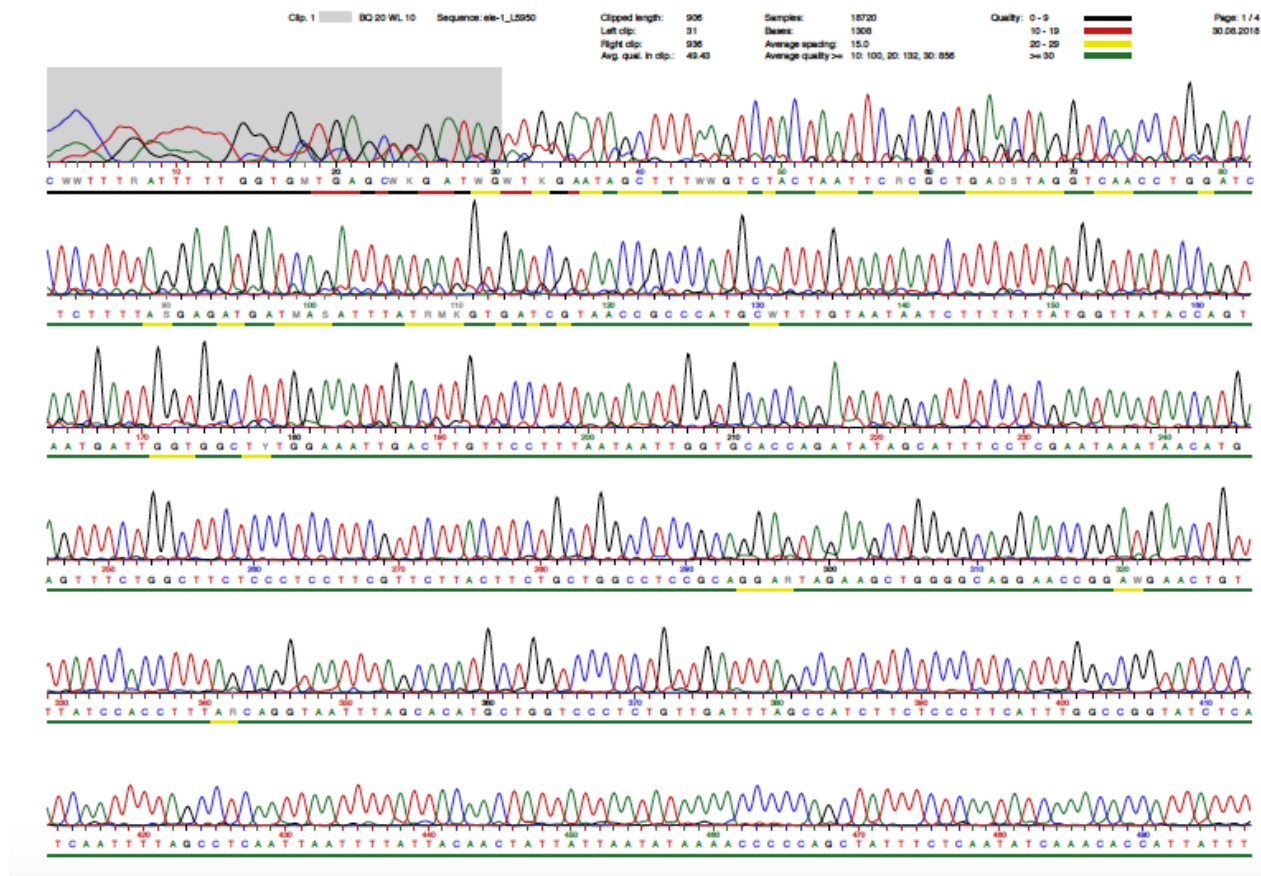
Αλληλουχία δείγματος 20C7 – Φυλογενετική Ανάλυση.

```
>20C8_Hexanchus_griseus
GAGAAAGAAATAGTAGTACAAAAATTGATCAAAACAAAAGAGGGGTTTGGTATTGGGAAAT
AGCTGGGGGTTTCATATTAATAATAGTGGTAATGAAATTAATTGATGCTAGAATTGAGGA
AATACCAGCTAGATGTAATGAAAAAATAGTTAGGTCTACGGATGCCCTGCGTGAGCTAG
ATTACCTGCAAGTGGTGGATAGACTGTTCAACCGGTGCCGGCACCTGCCCTCTACACCAGC
TGAGGCTAAAAGGAGTAAGAAAGAAGGGGTAATAATCAGAAGCTTATATTATTTCG
TGGGAAAGCTATATCTGGAGCACCGATCATTAAAGGGTACTAGTCAATTTCCGAACCCACC
AATTATTACGGGTATTACTATGAAGAAGATTATTACGAAAGCGTGGGCAGTAACAATTAC
ATTGAAATCTGGTCATCTCTAAAGTGTTCGGGTTGACTTAATTCTGTTCTGAATAAG
TAGACTCAGGGCTGTACCCACTATTCTGCTCAGGCACCAAAAATTAAATATAGGGTACC
GATGTCTTTGTGAATCGAATTCCTCCGCGGCC
```

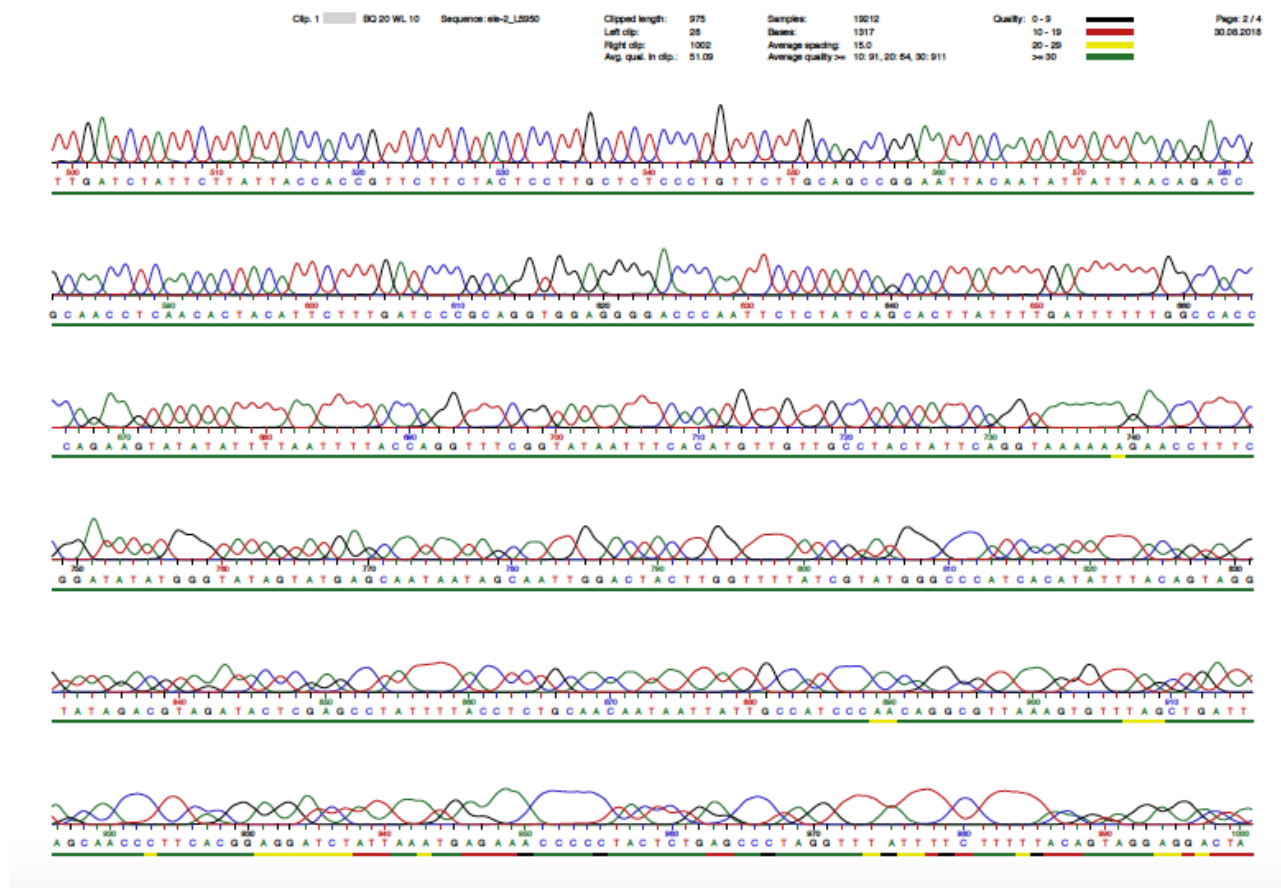
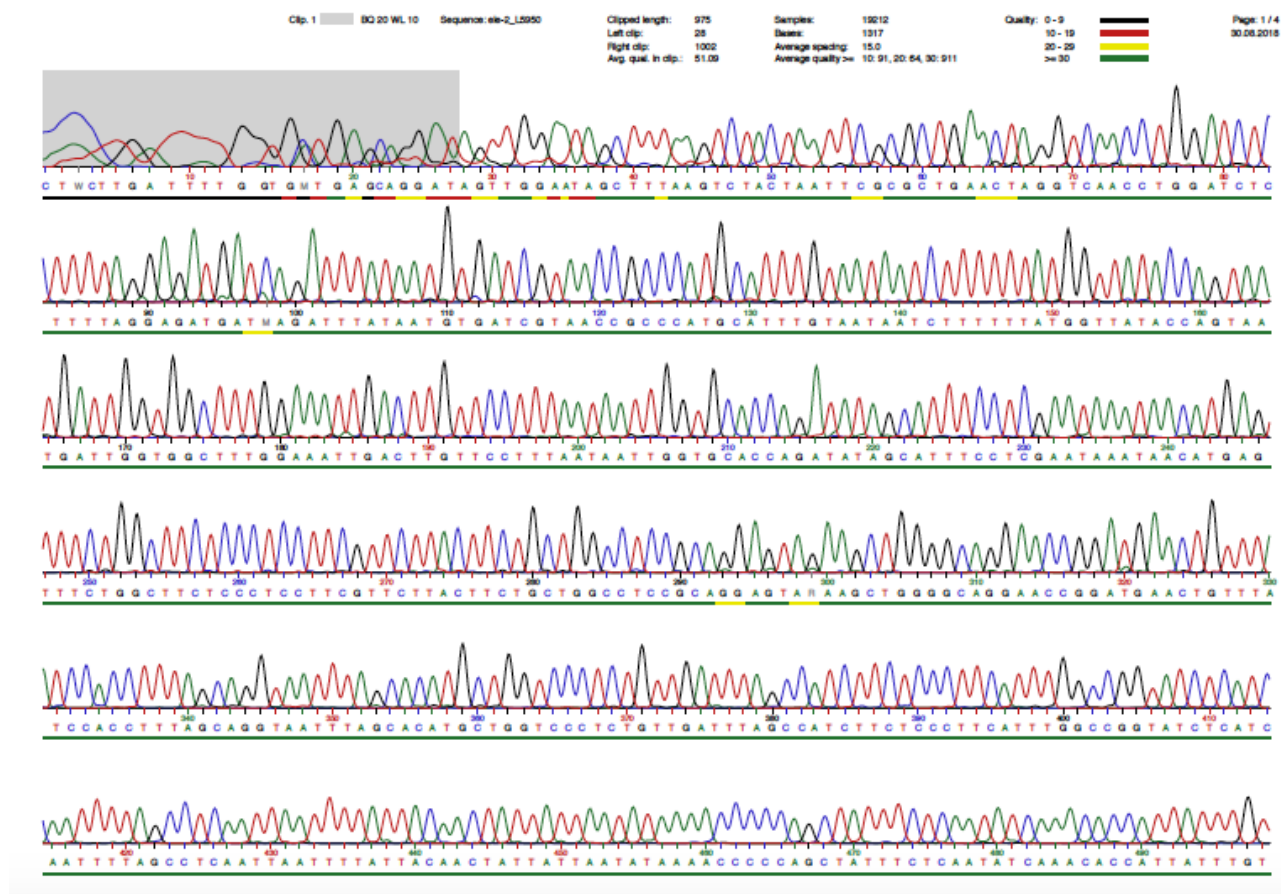
Αλληλουχία δείγματος 20C8 – Φυλογενετική Ανάλυση

```
>Chimaera_monstrosa
CCTTAGCCTGTTAATCCGAGCTGAGCTGAA
CCAACCCGGCGCCCTAATGGGGGATGATCAAAATTTATAATGTTGTTGTTACTGCCACGC
TTTTGTAATAATTTTCTTCATAGTAATACCAATTATGATCGGAGGTTTTGGAACTGACT
CGTGCCCTTAATAATTGGAGCACCCGACATAGCCTTCCCTCGAATAAATAATAAGCTT
CTGACTTCTTCCCCCTCTTCTTTTACTGCTAGCATCTGCAGGGGTAGAAGCAGGGGC
CGGCACCGGGTGAACGTGTTATCTCTCTAGCGGGTAACCTAGCACATGCTGGAGCATC
CGTAGATCTAACCATTTTCTCCCTTCATTTGGCCGGGATTCTTCAATCCTAGCCTCCAT
CAACTTCATTACCACTATTATTAACATAAAACCCCATCAATTACCCAATATCAAAACCC
CTTATTGATGATCTATTTAATTACTACAGTCCTTCTCTGTTATCTTTGCCTGTTTT
AGCAGCCGGCATTACAATATTACTACAGACCGTAACCTAAATACTACTTTCTTTACATT
```

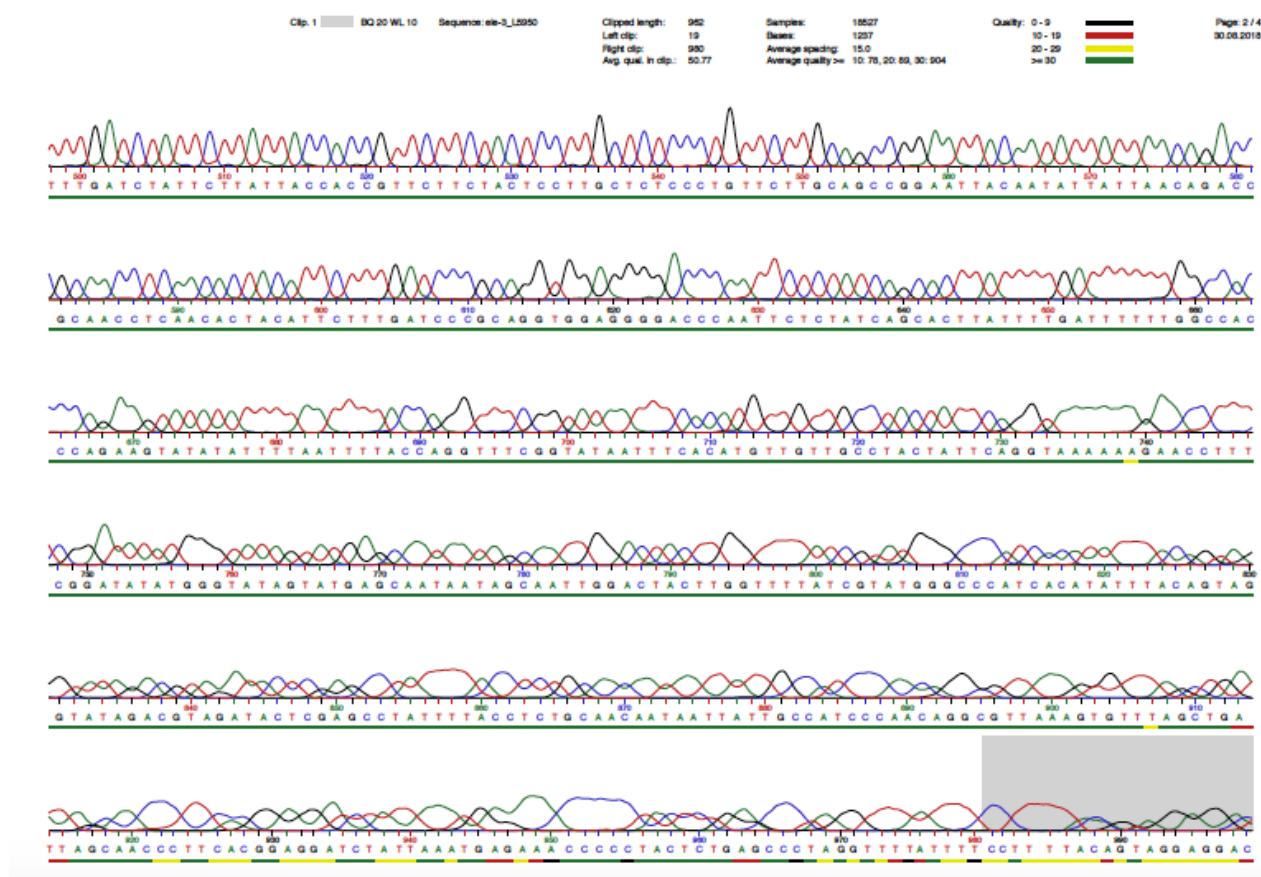
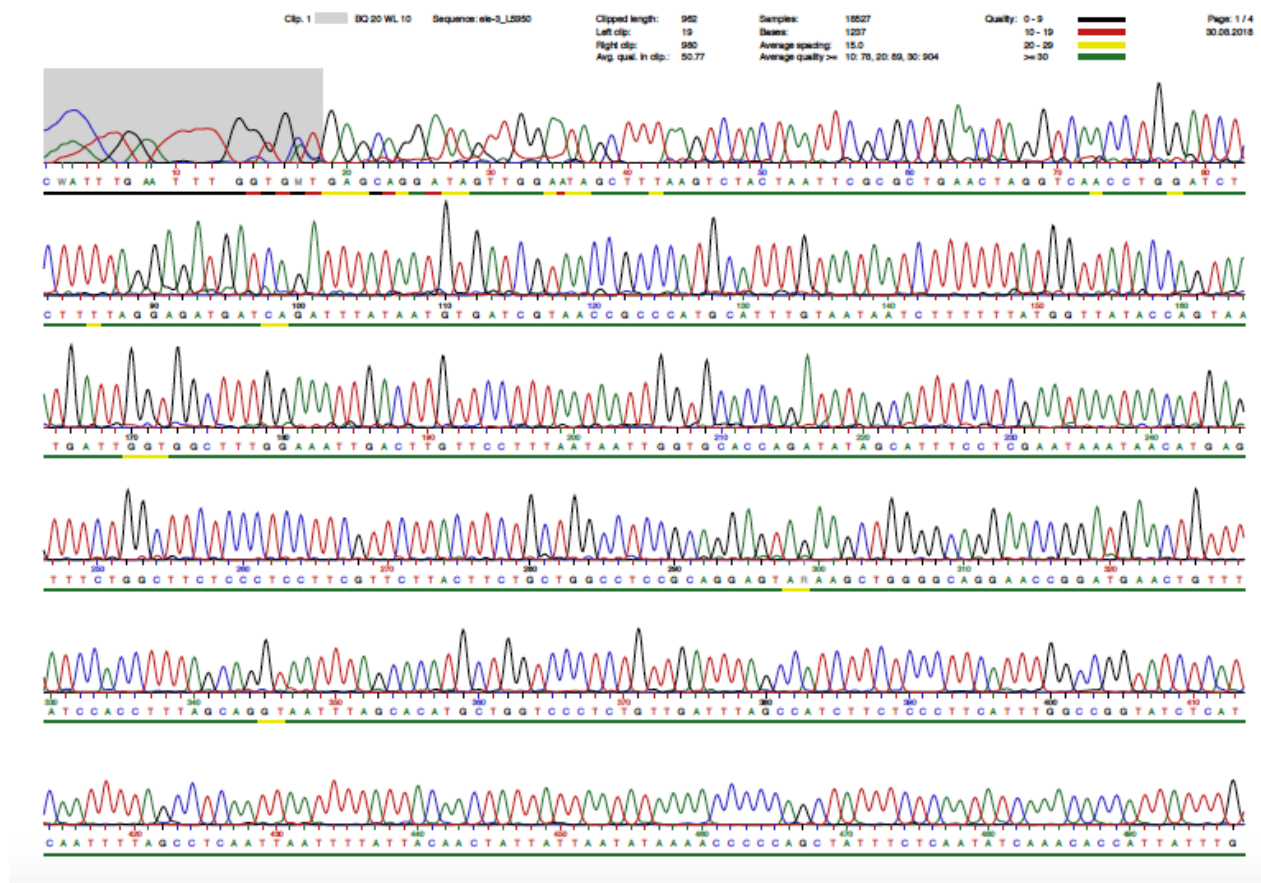
Αλληλουχία Outgroup – Φυλογενετική Ανάλυση.



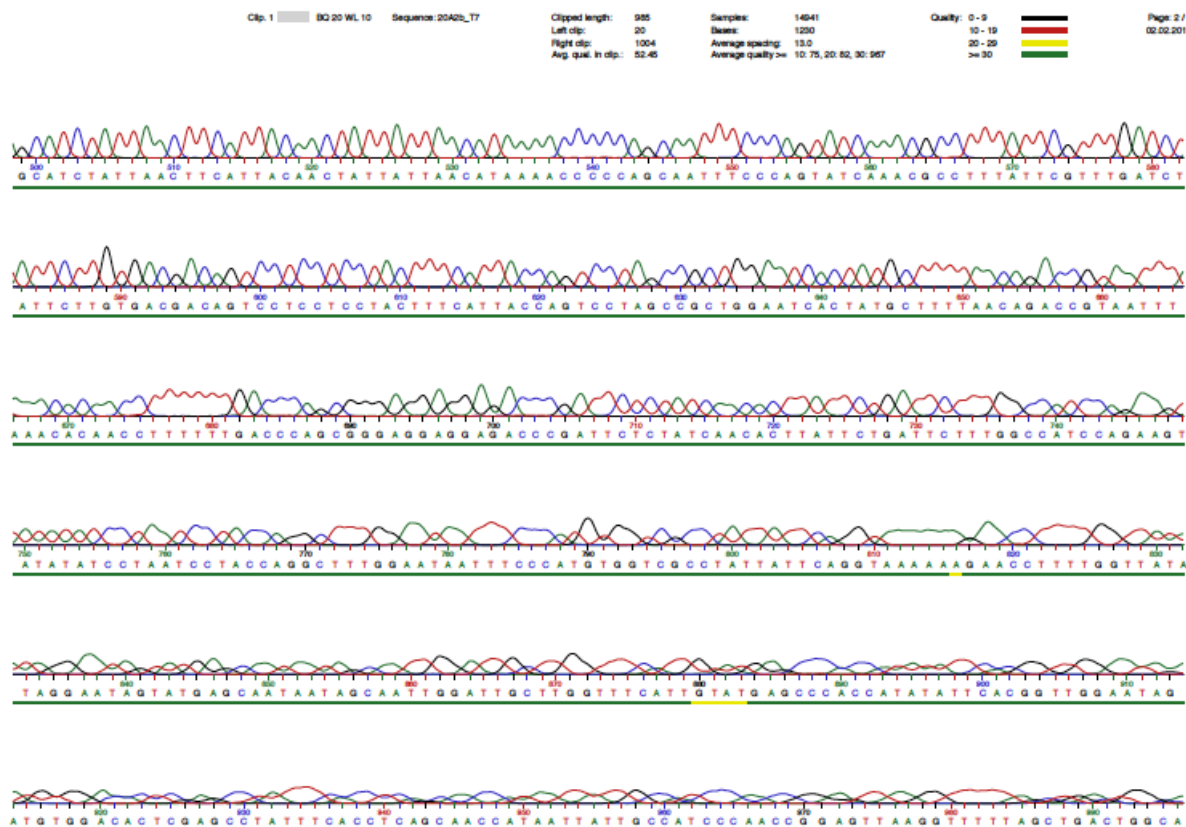
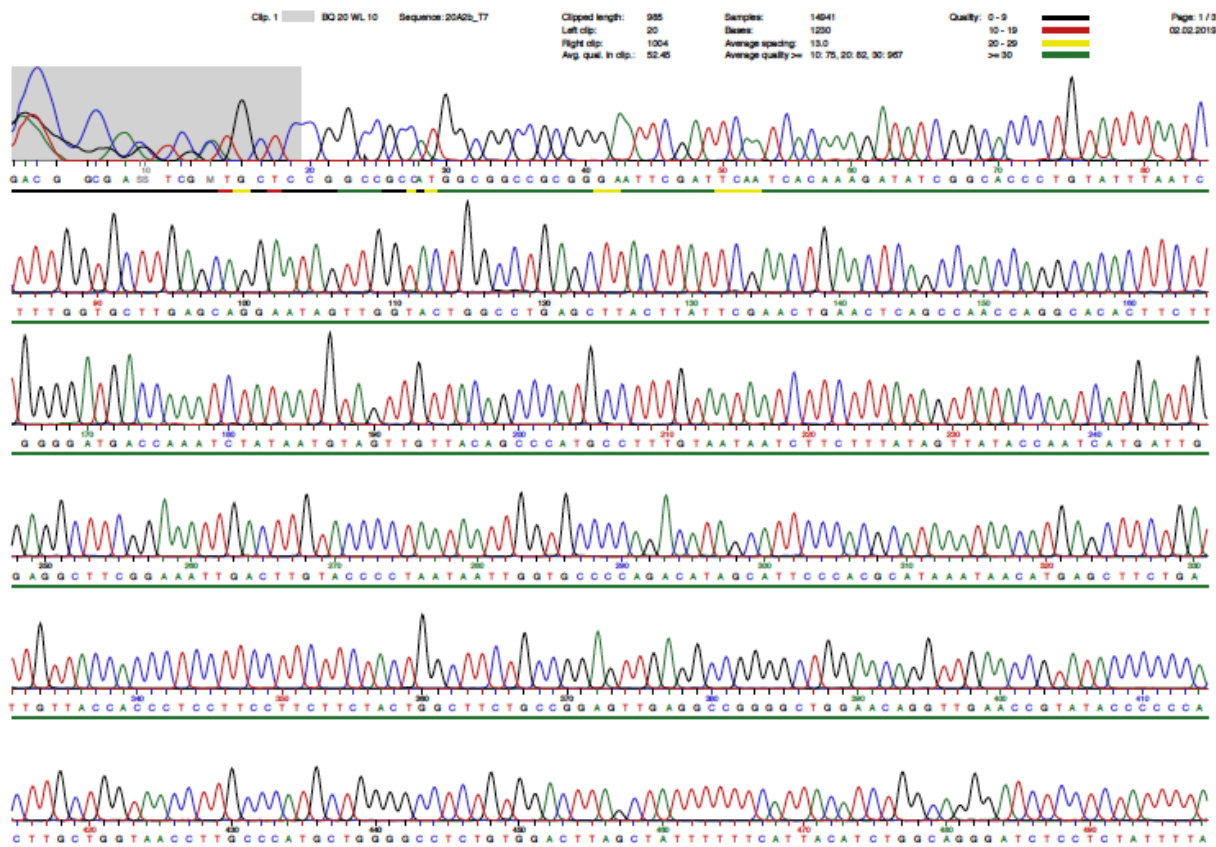
Χρωματόγραμμα δείγματος A1.



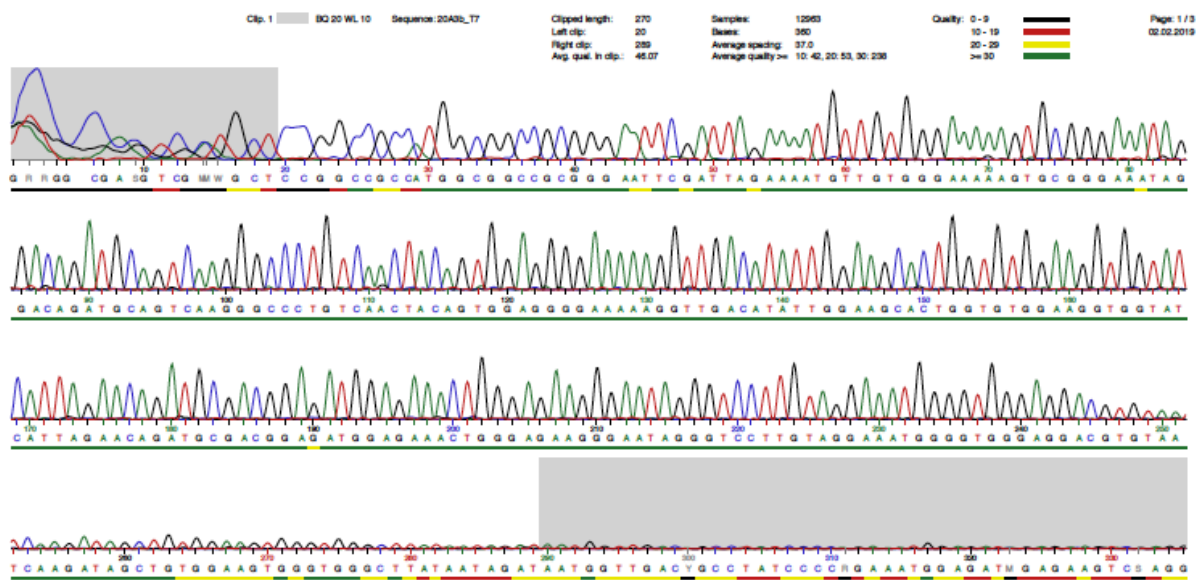
Χρωματόγραμμα δείγματος A2.



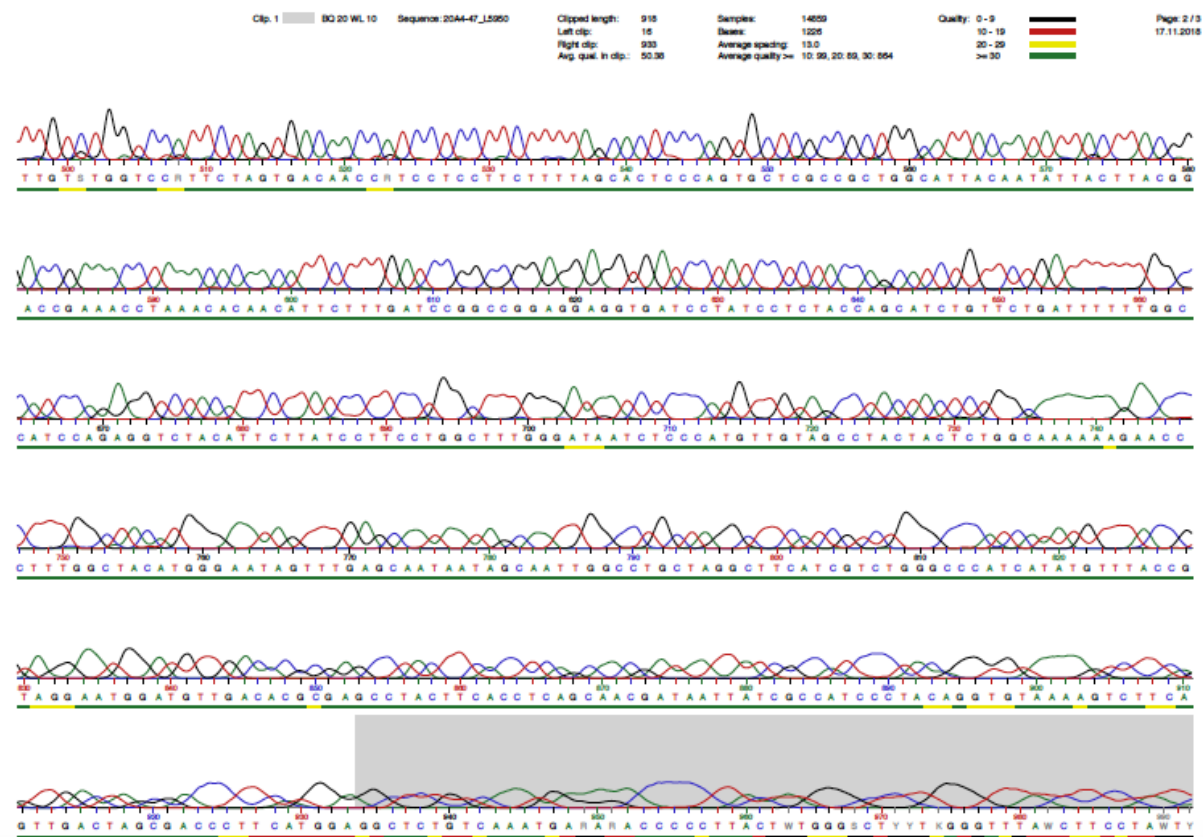
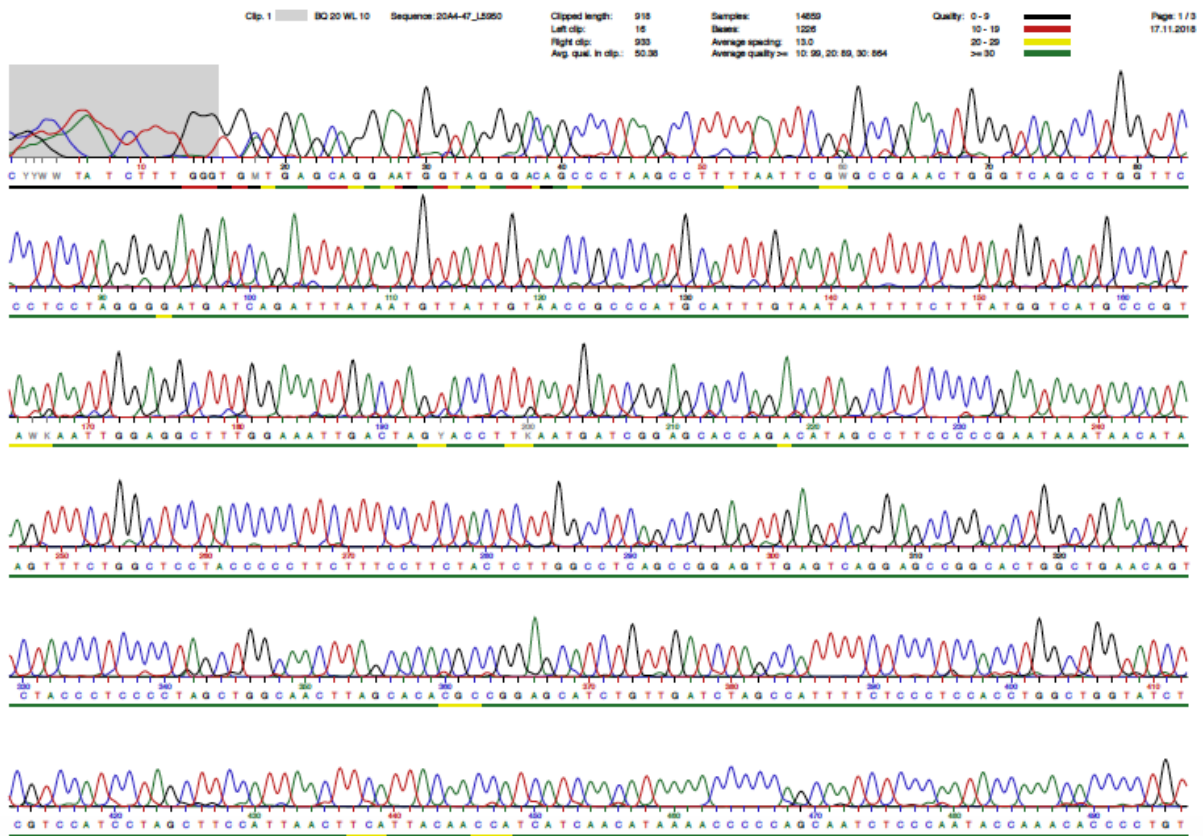
Χρωματόγραμμα δείγματος A3.



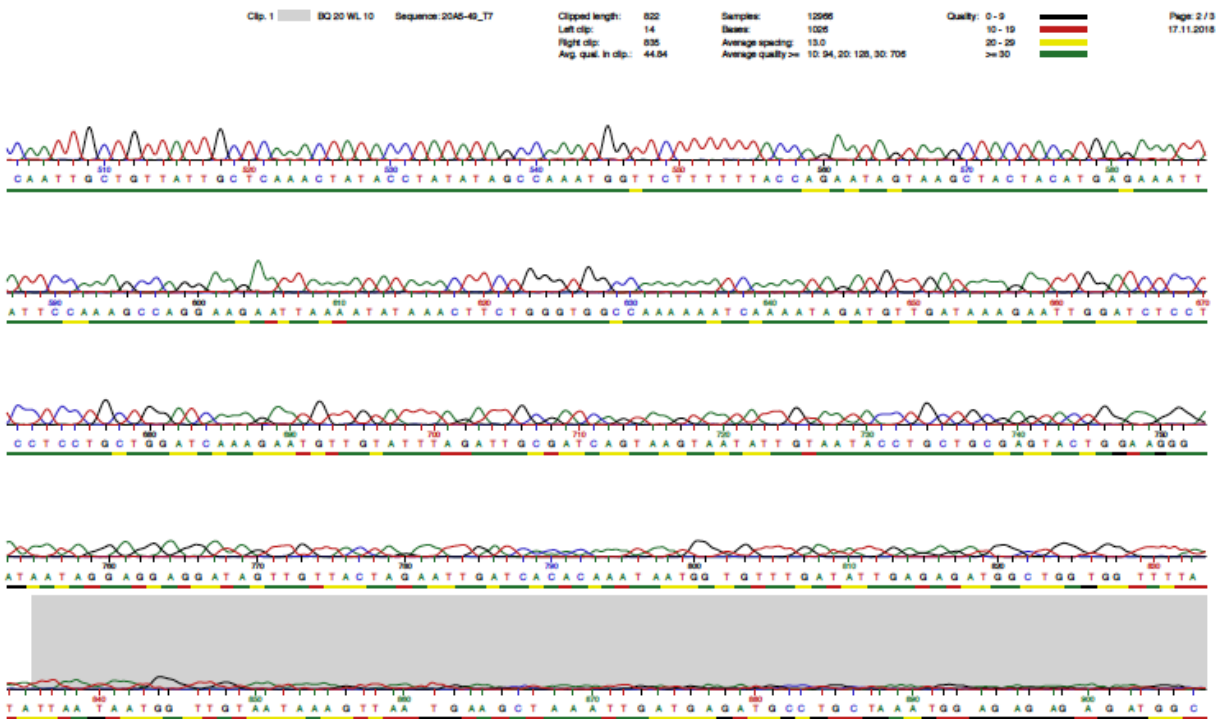
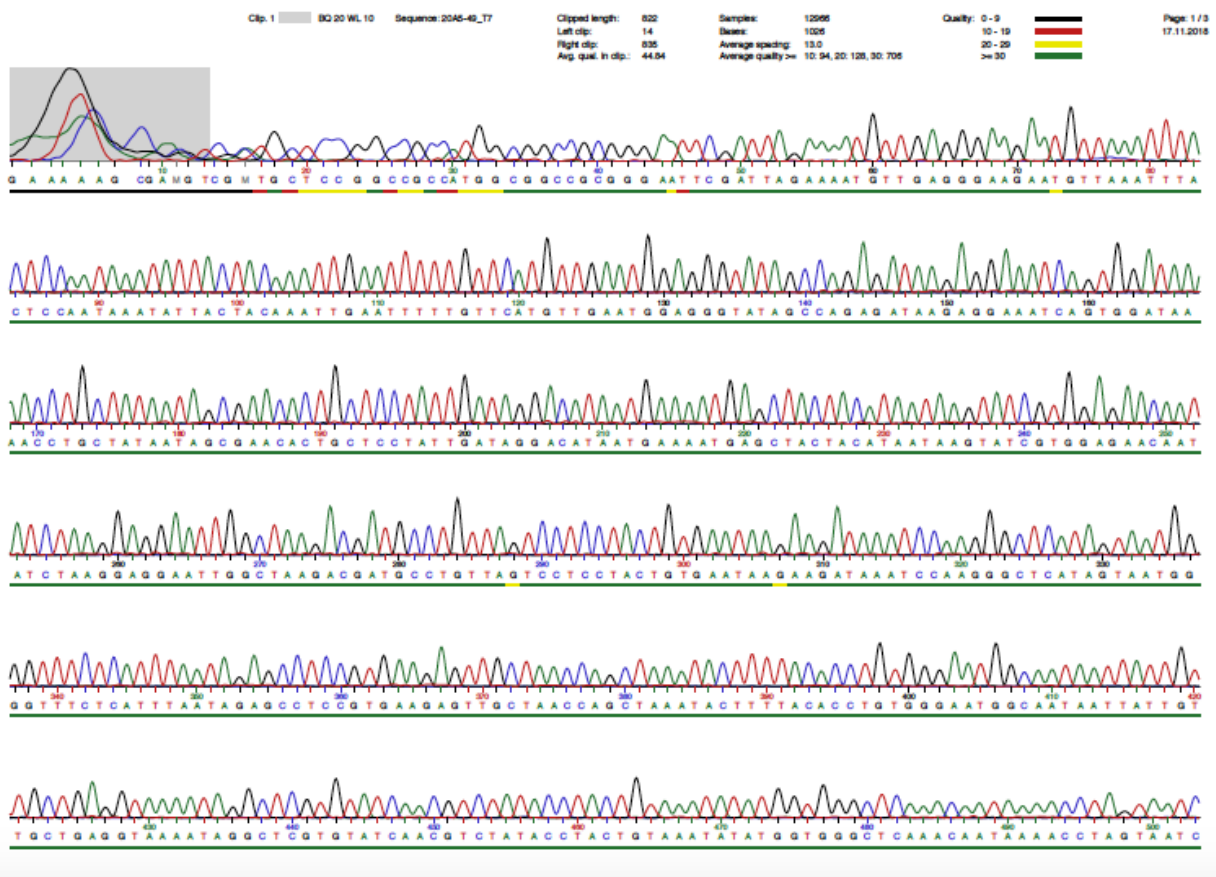
Χρωματόγραμμα δείγματος 20A2



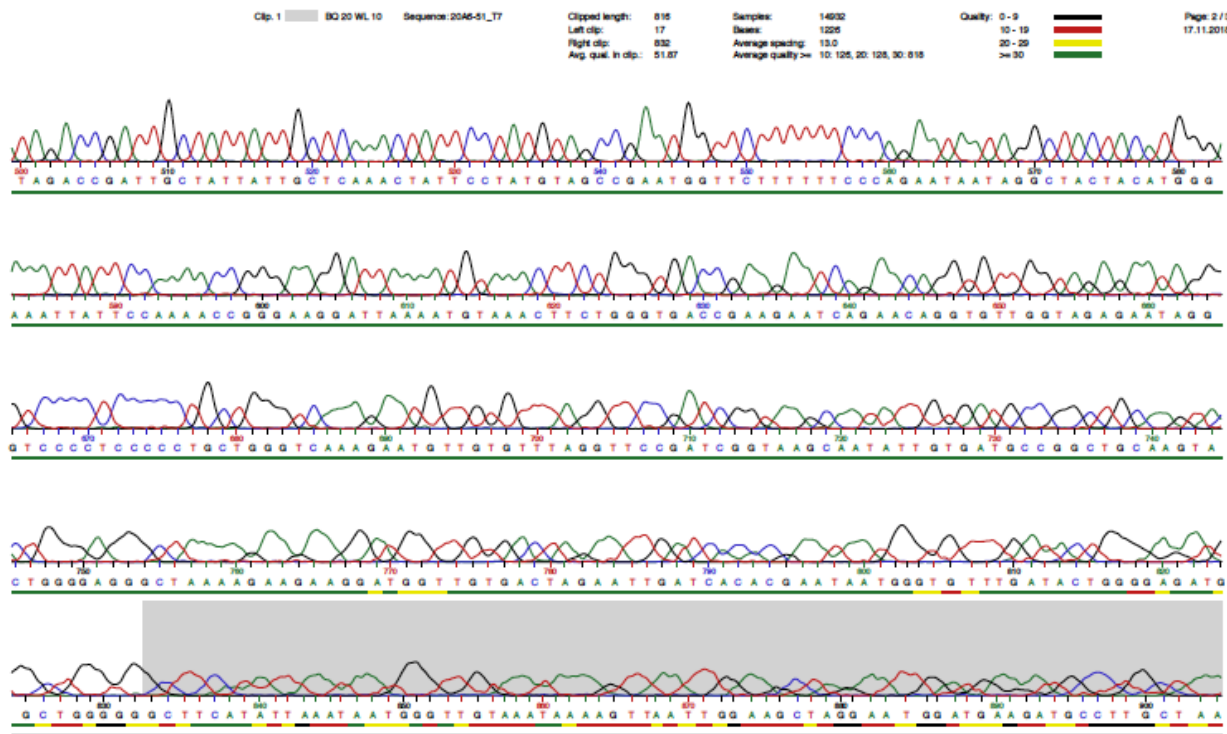
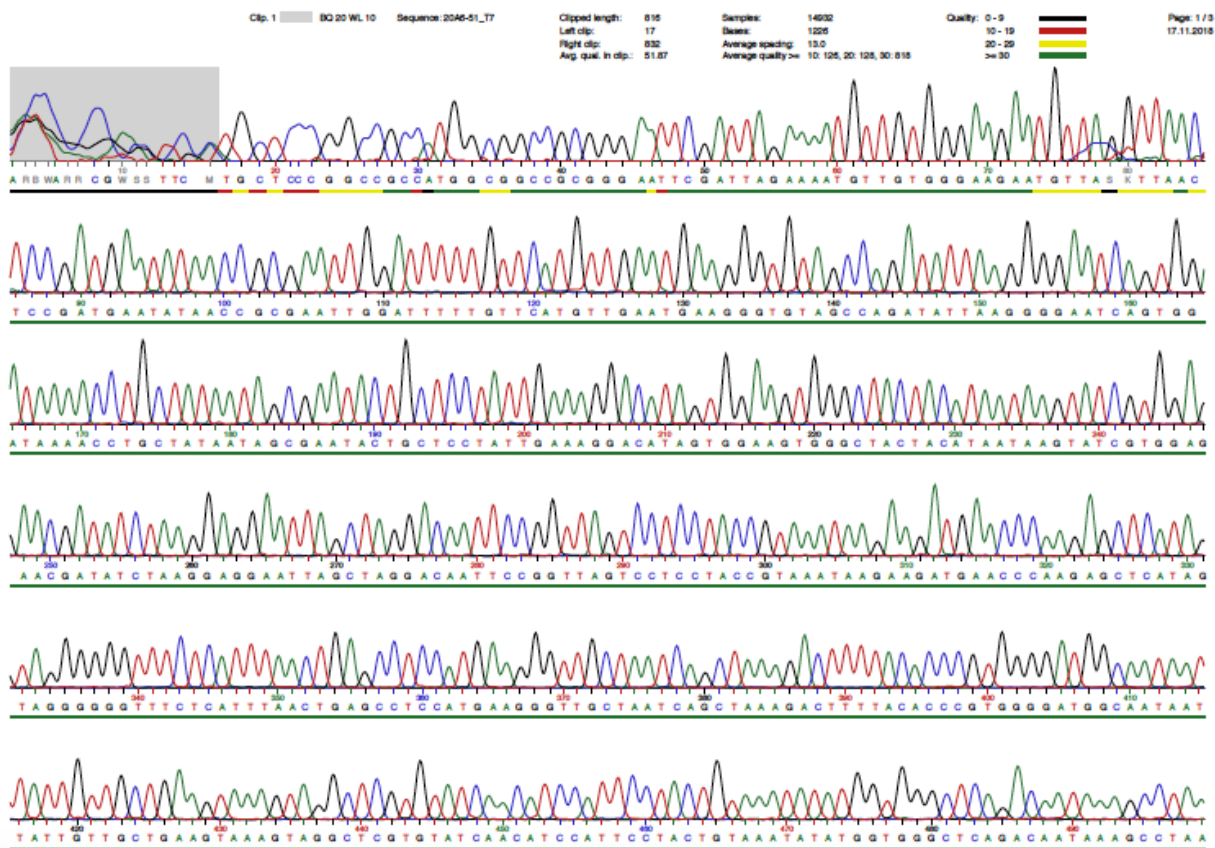
Χρωματόγραμμα δείγματος 20A3.



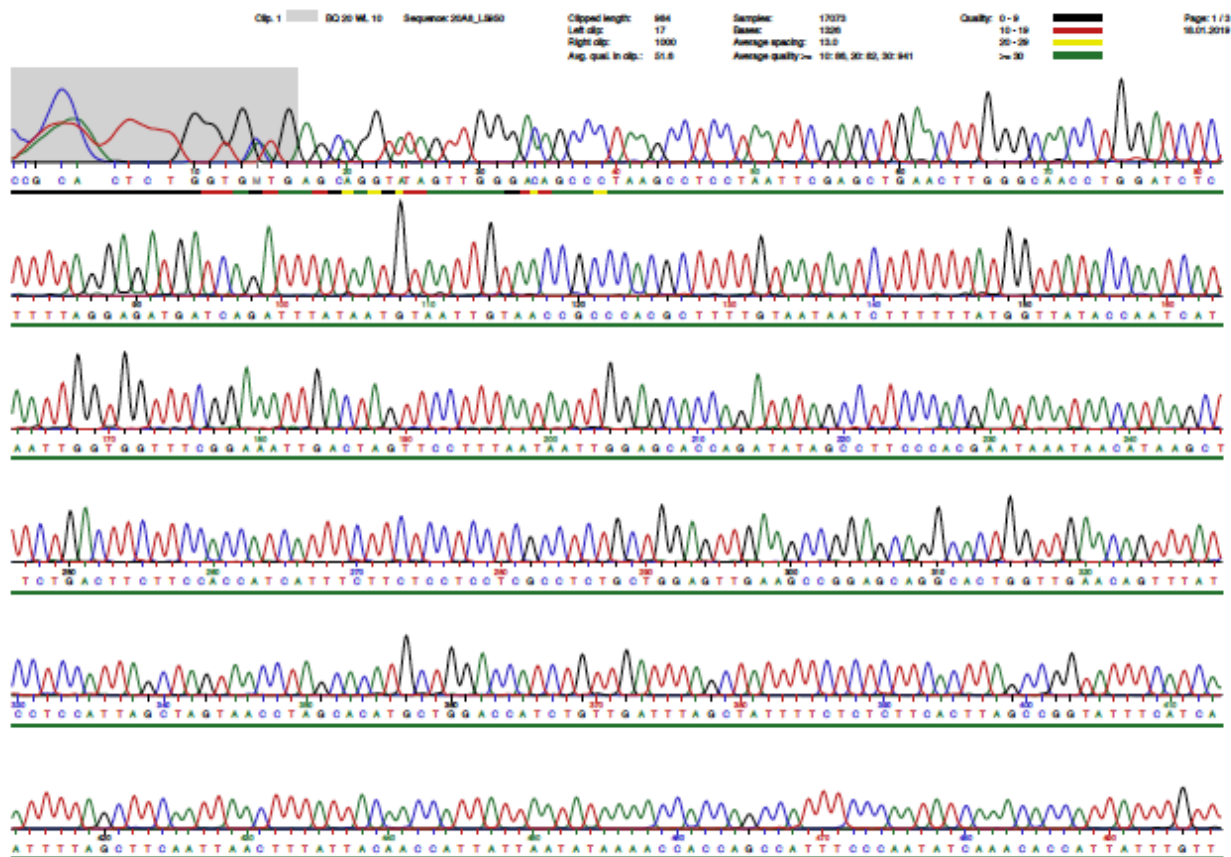
Χρωματόγραμμα δείγματος 20A4.

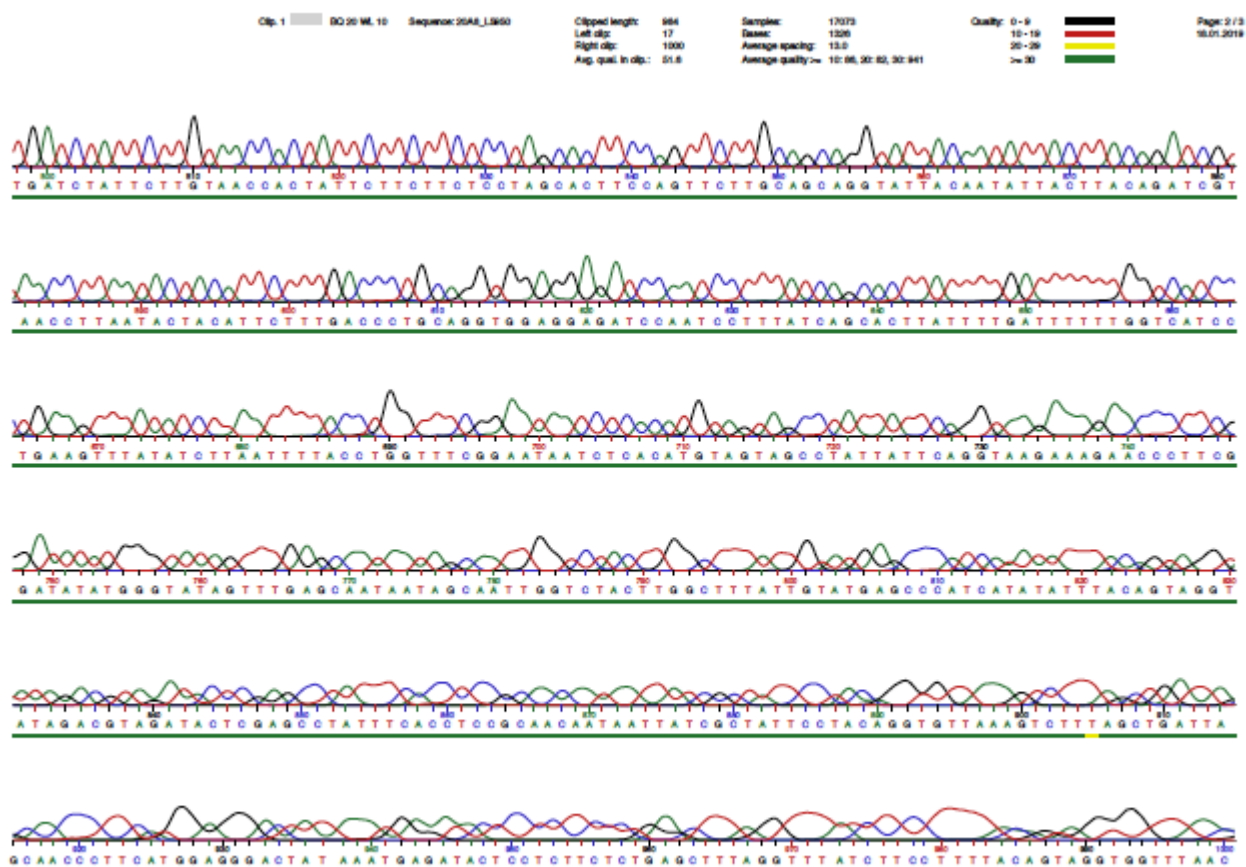


Χρωματόγραμμα δείγματος 20A5.

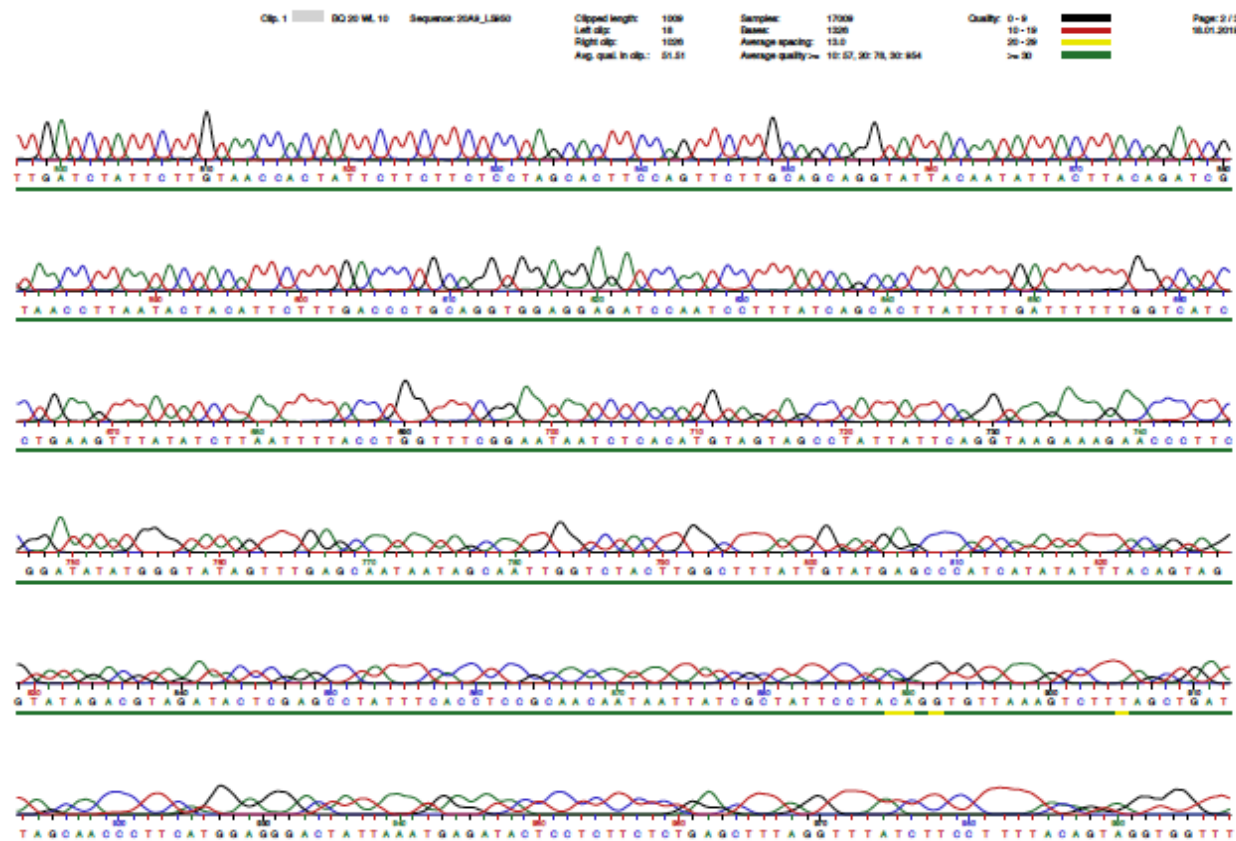
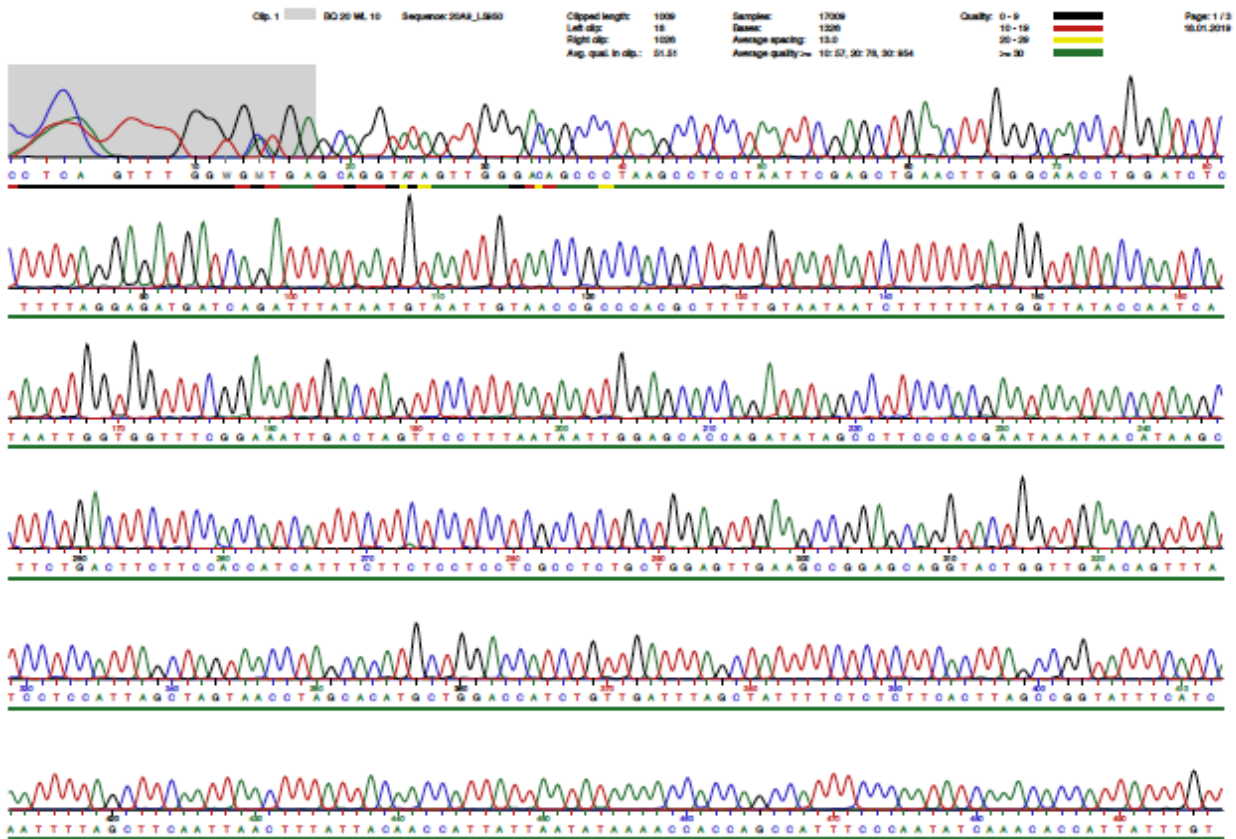


Χρωματόγραμμα δείγματος 20A6.

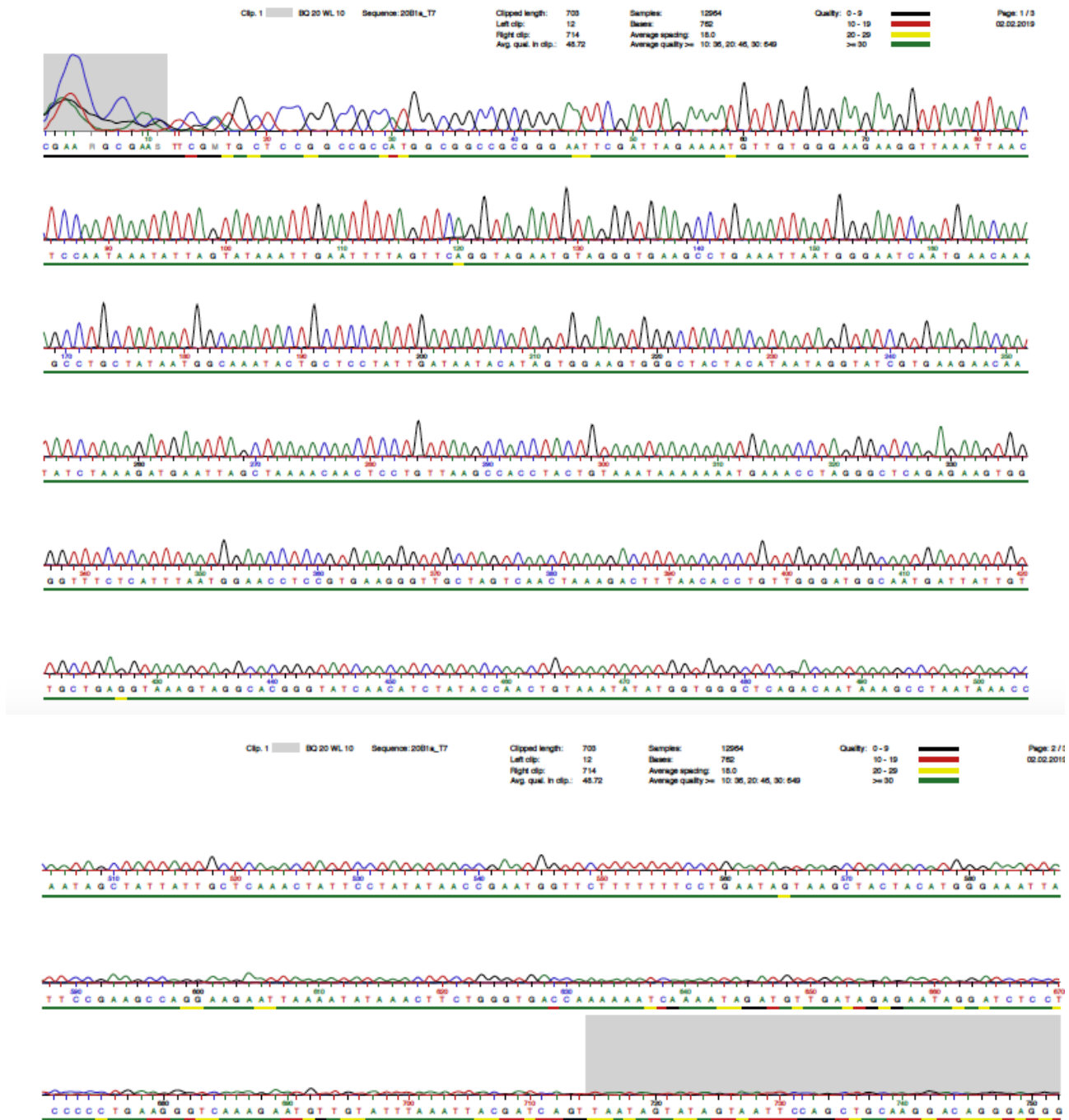




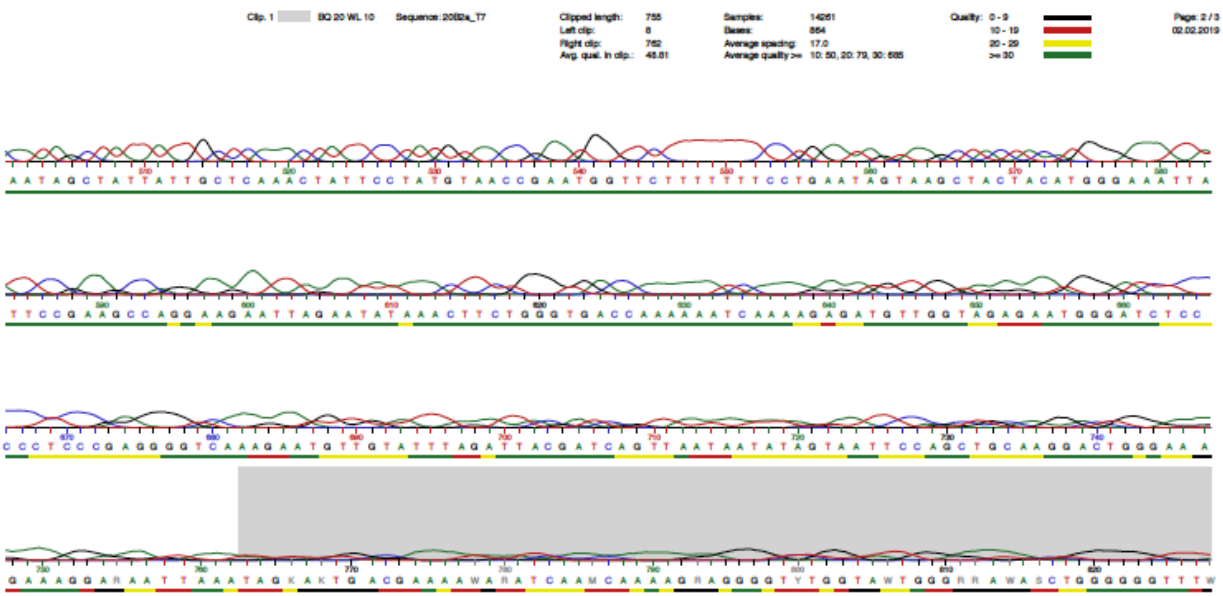
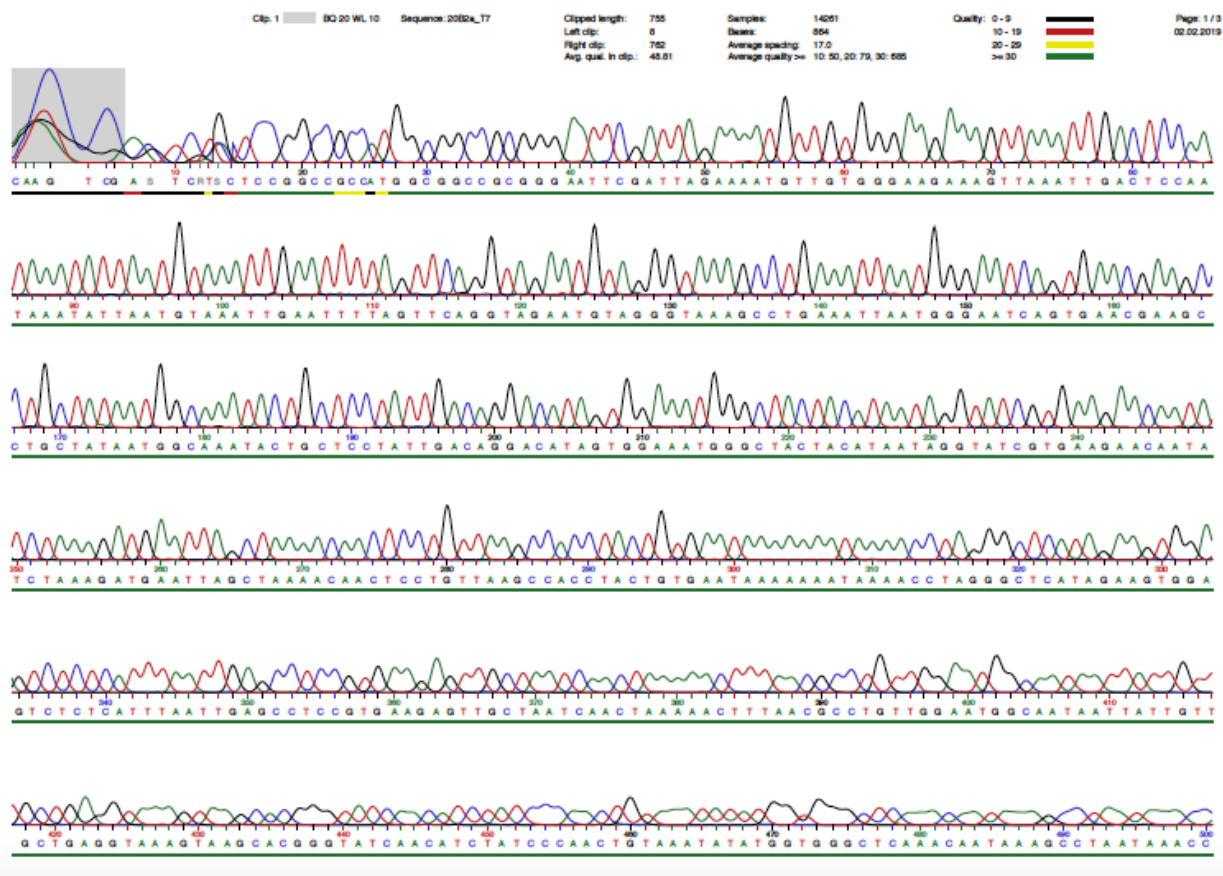
Χρωματόγραμμα δείγματος 20A8.



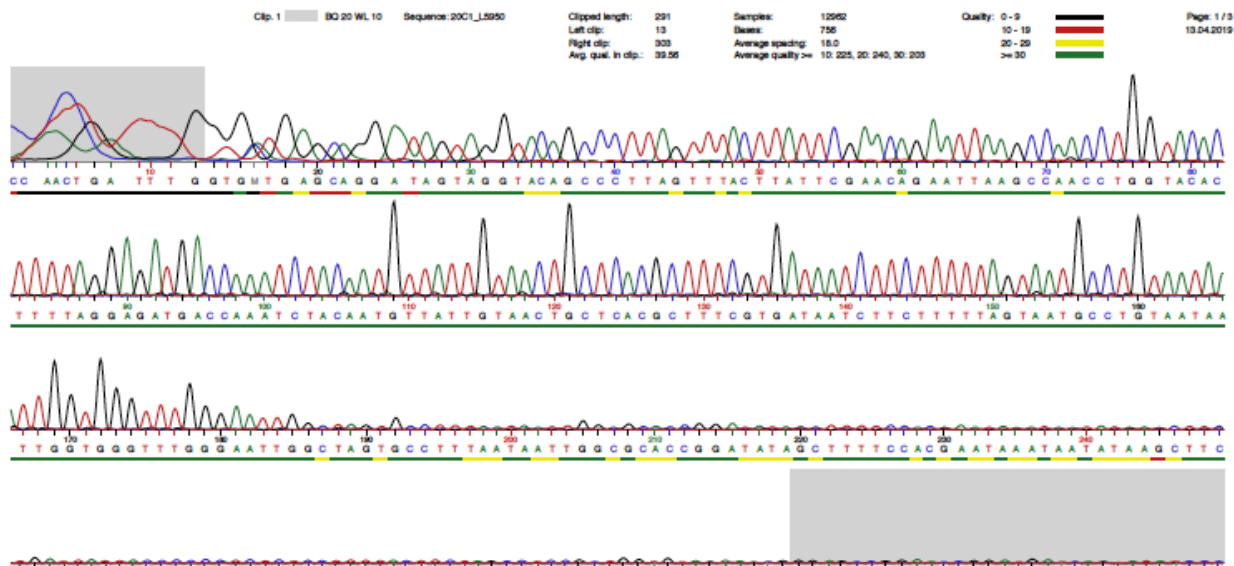
Χρωματόγραμμα δείγματος 20A9.



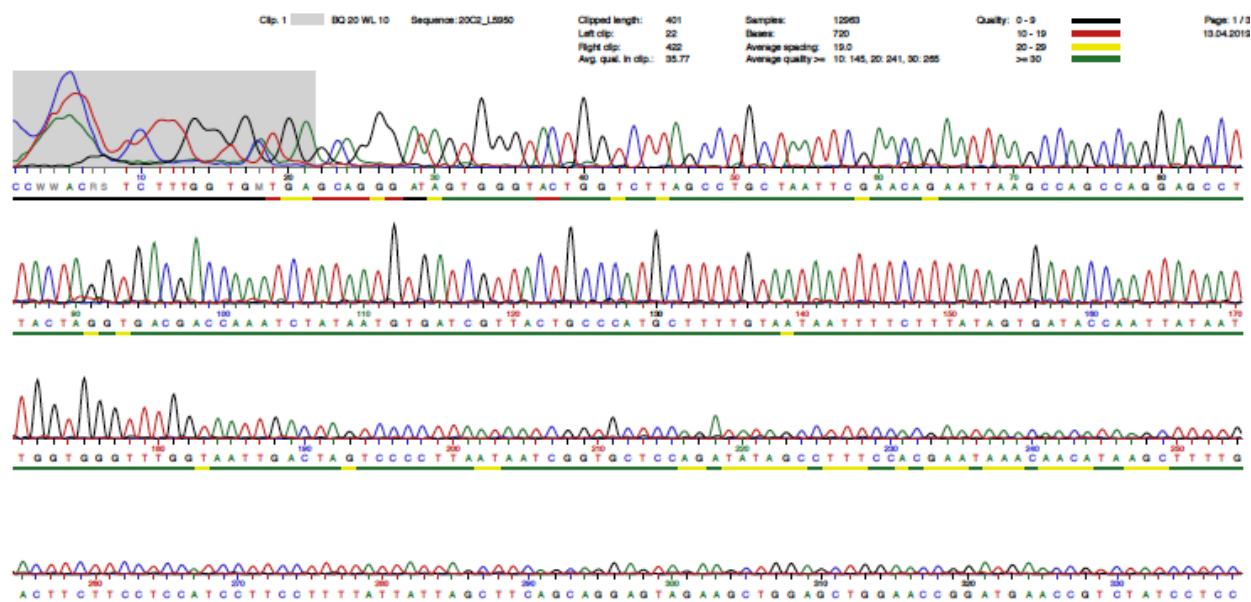
Χρωματόγραμμα δείγματος 20B1.



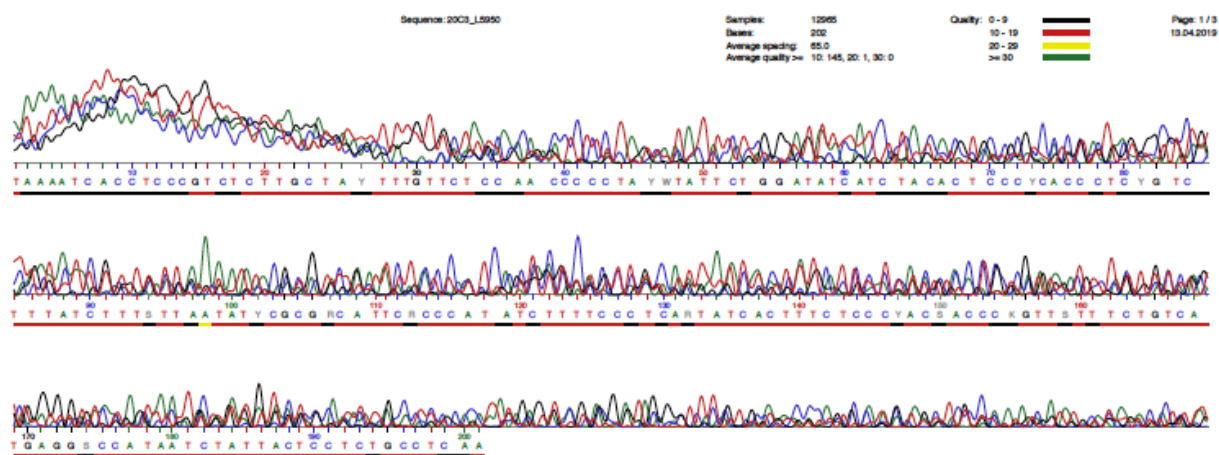
Χρωματόγραμμα δείγματος 20B2.



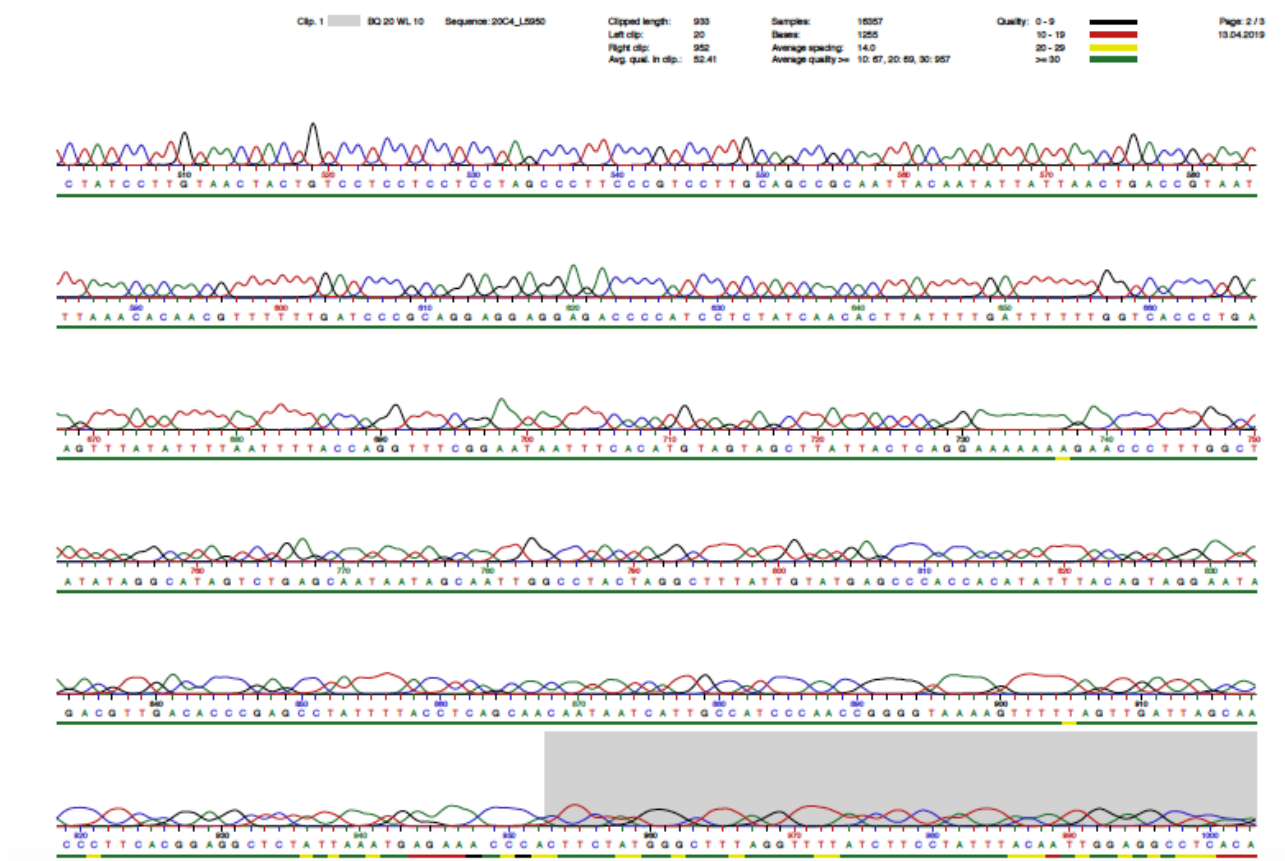
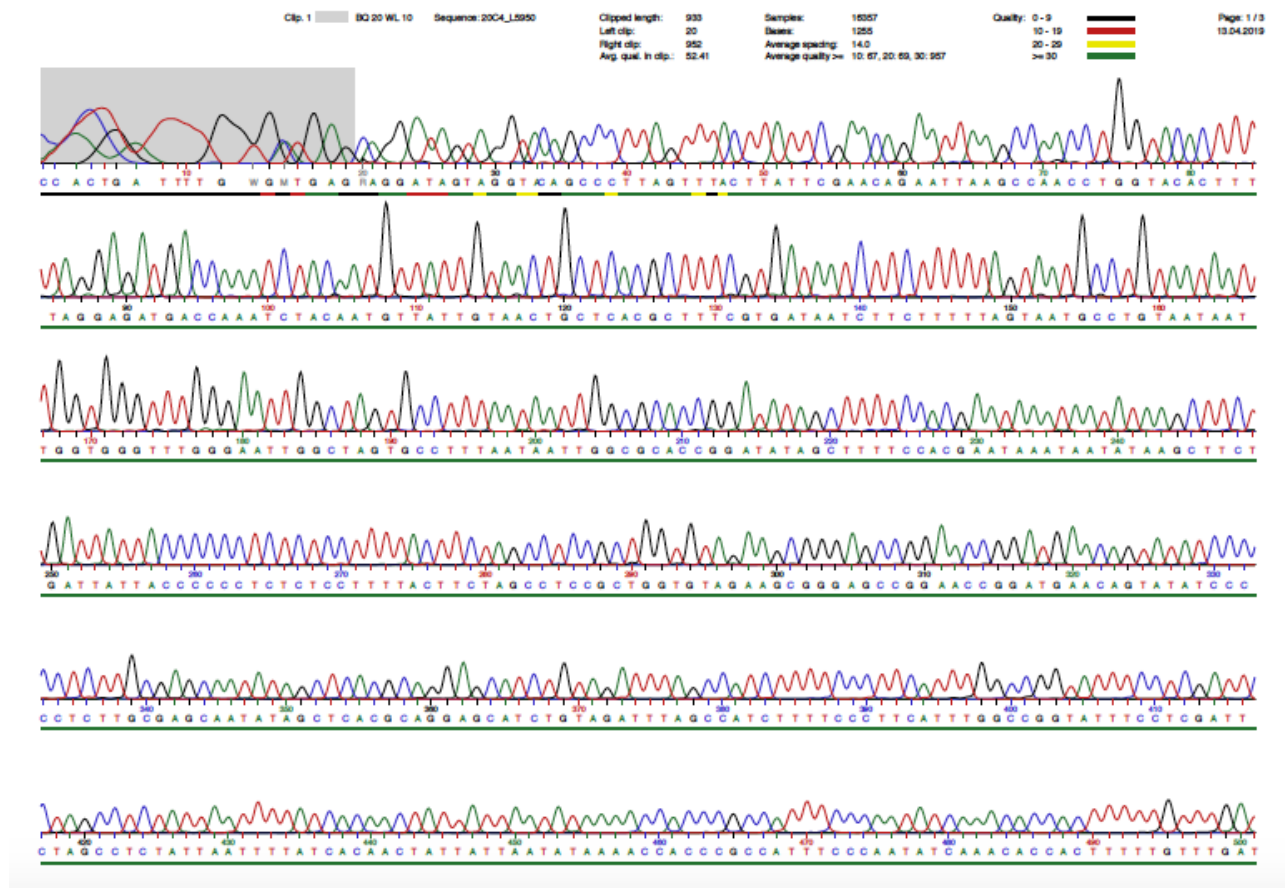
Χρωματόγραμμα δείγματος 20C1.



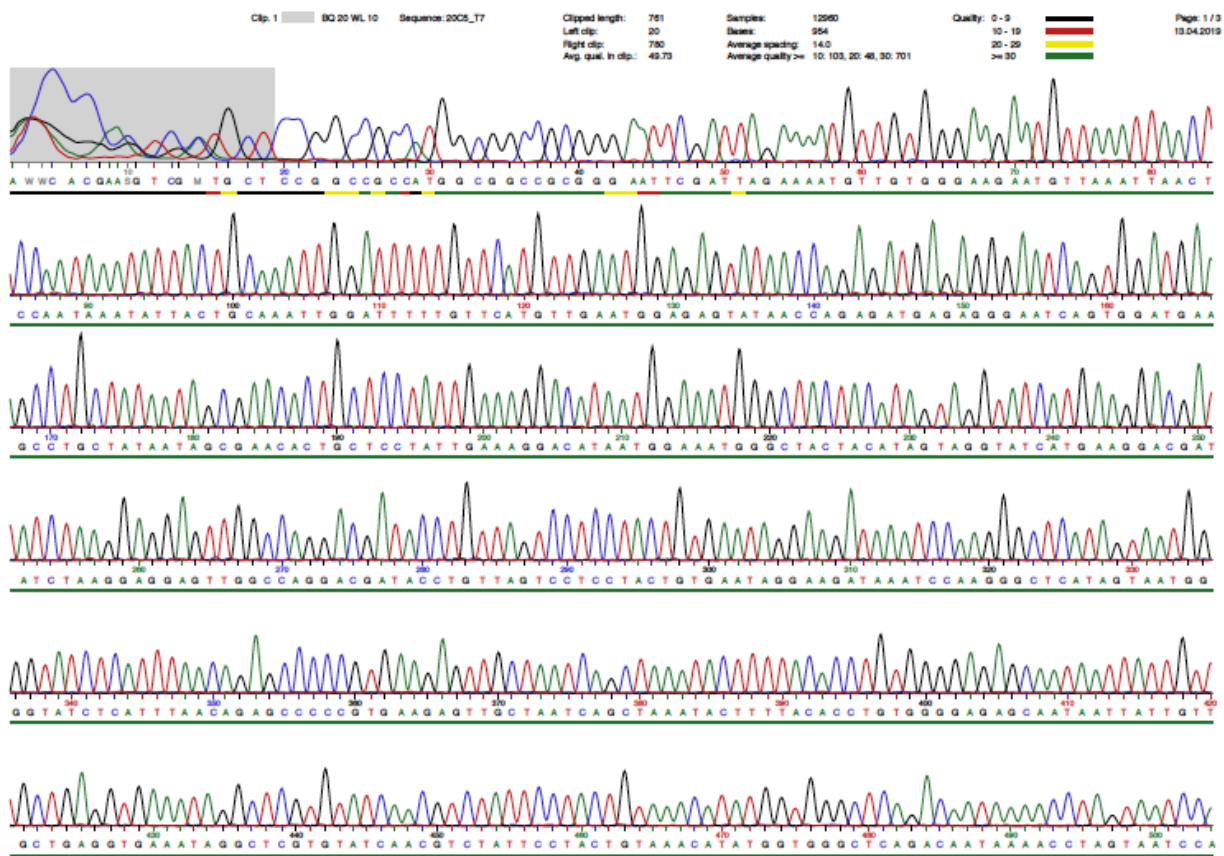
Χρωματόγραμμα δείγματος 20C2.



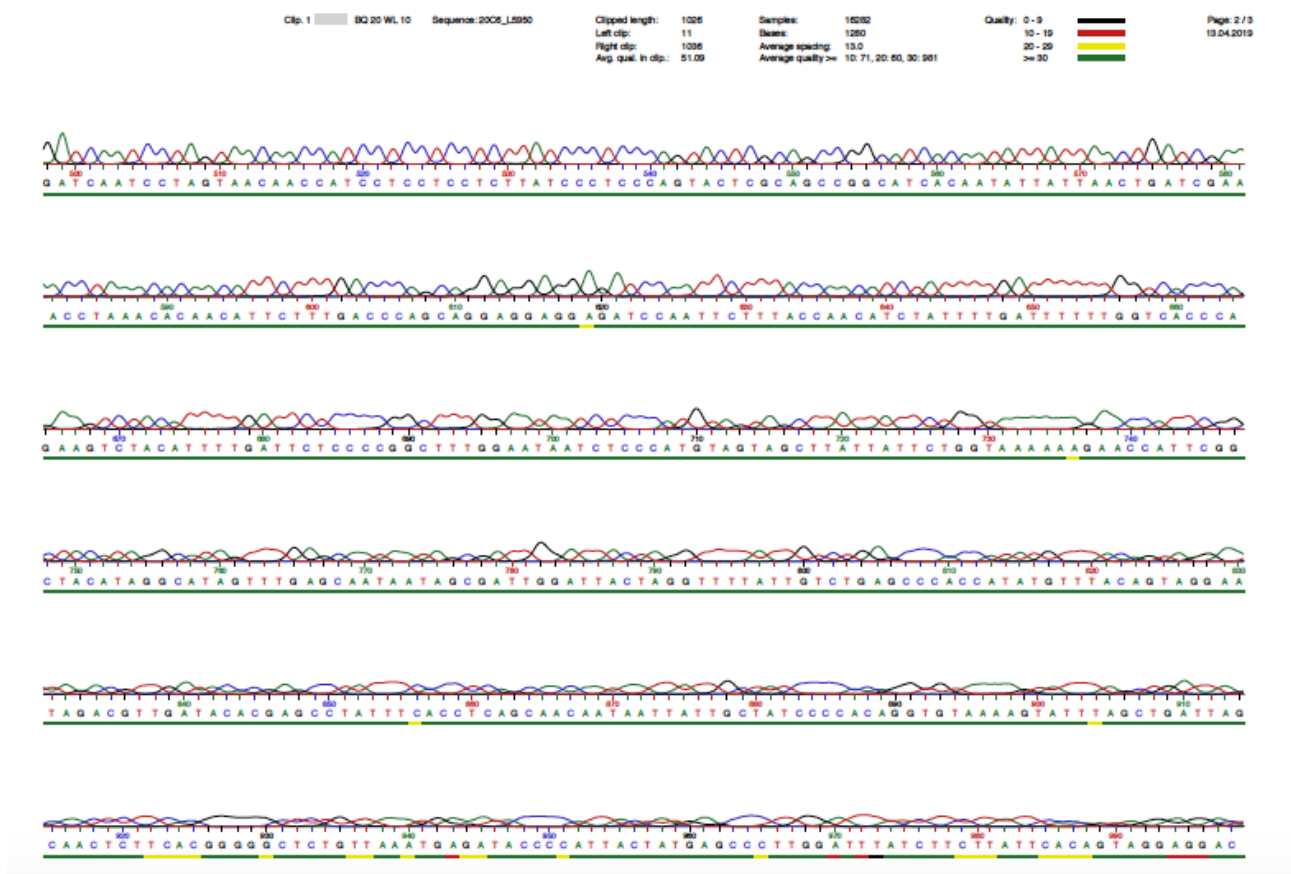
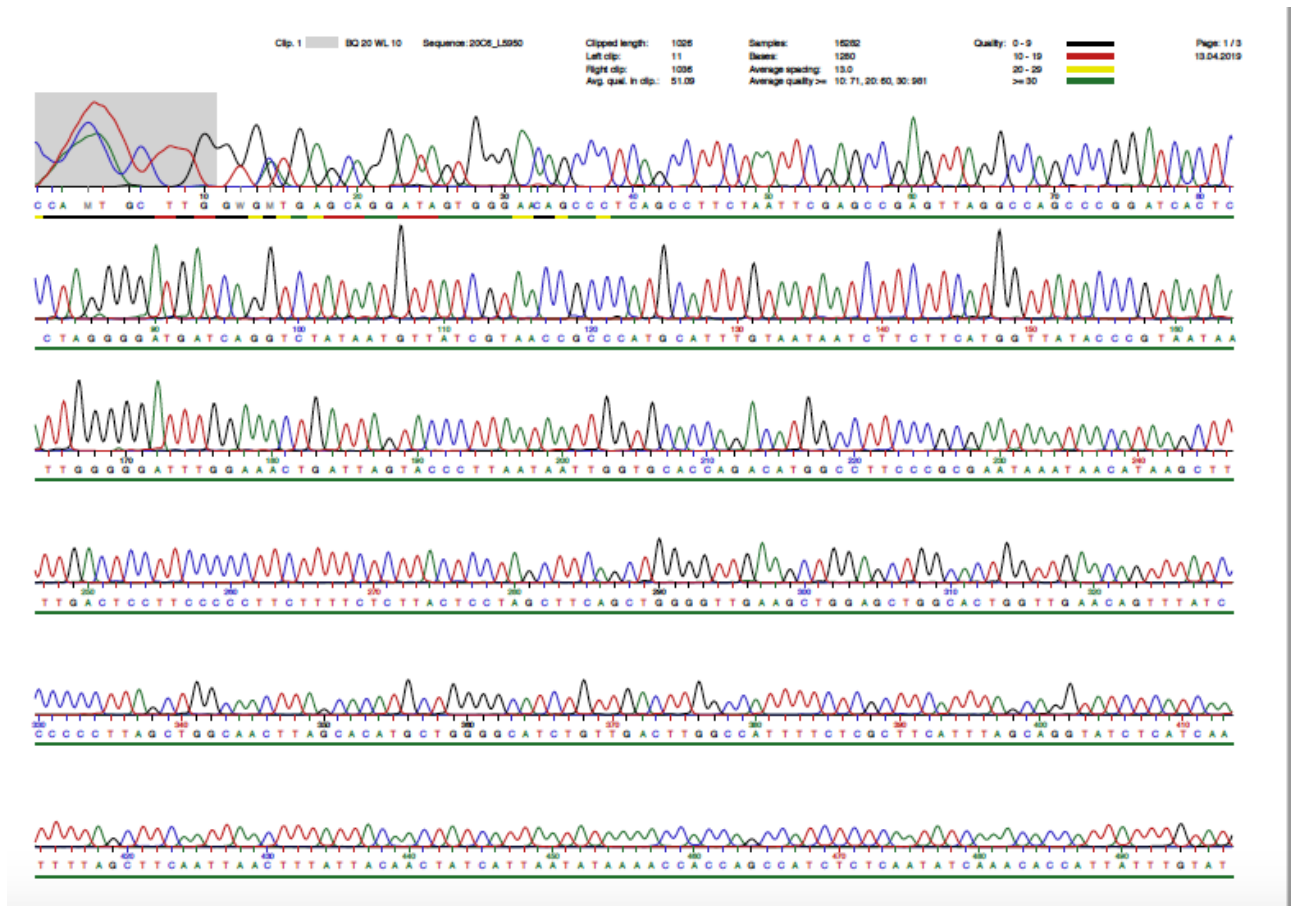
Χρωματόγραμμα δείγματος 20C3.



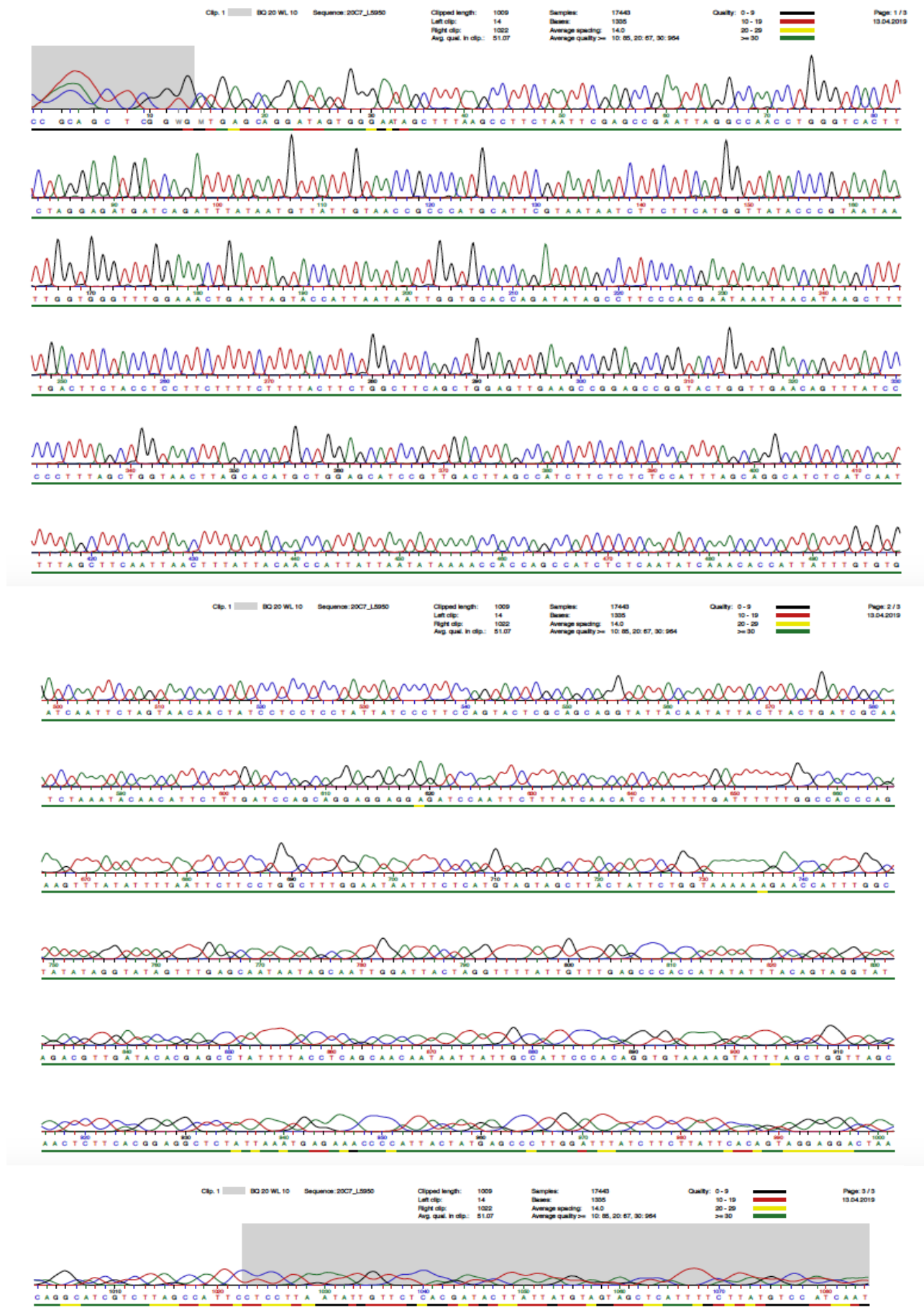
Χρωματόγραμμα δείγματος 20C4.



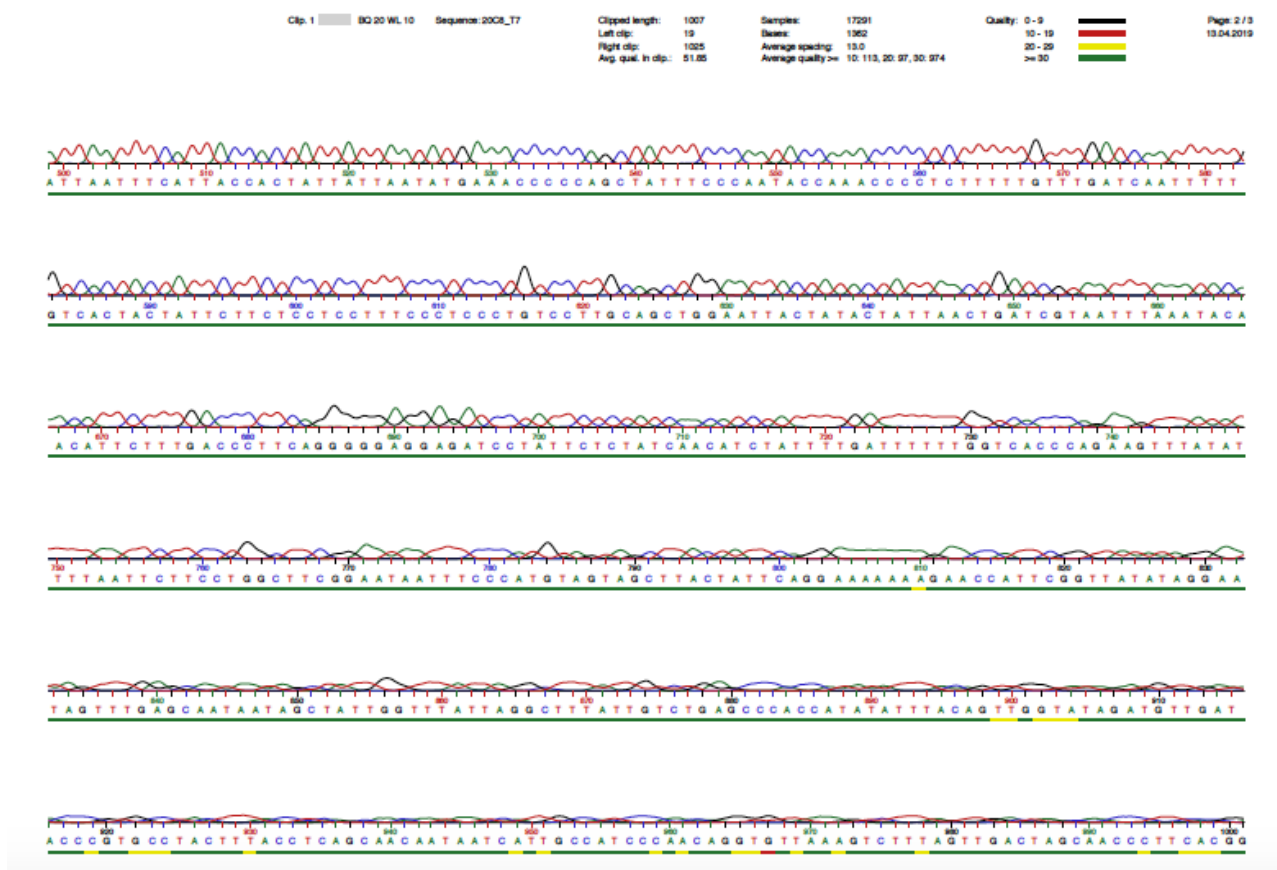
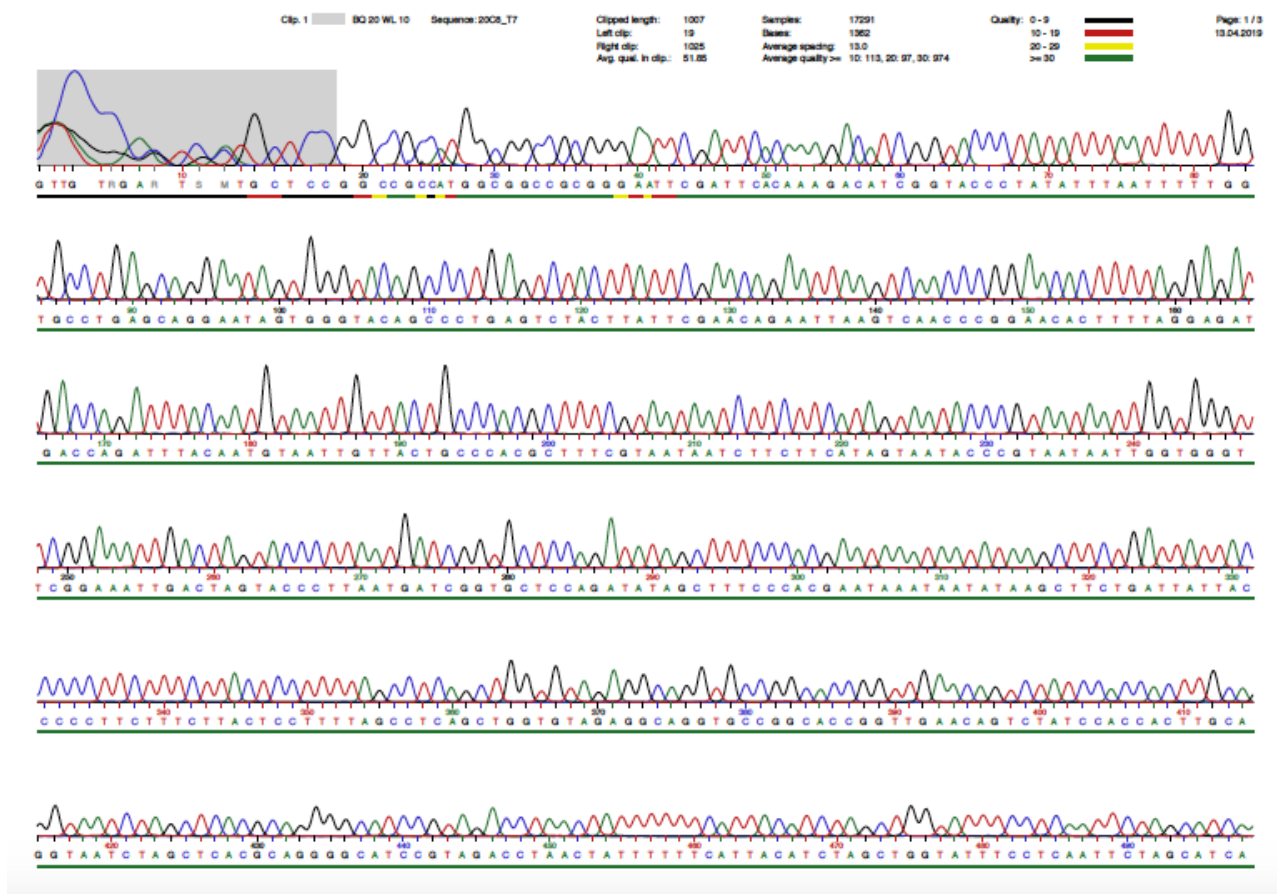
Χρωματόγραμμα δείγματος 20C5.



Χρωματόγραμμα δείγματος 20C6.



Χρωματόγραμμα δείγματος 20C7.



Χρωματόγραμμα δείγματος 20C8.