



Οδηγός Εφαρμογής
για τη

Γενετική Παρακολούθηση Δασών



LIFE13 ENV/SI/000148



LIFE13 ENV/SI/000148

Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών

Συντάκτες

Marko Bajc

Φίλιππος Α. Αραβανόπουλος

Marjana Westergren

Barbara Fussi

Darius Kavaliauskas

Παρασκευή Αλιζώτη

Φώτιος Κιουρτσής

Hojka Kraigher



Studia Forestalia Slovenica, 177

ISSN 0353-6025

ISBN 978-961-6993-66-1

Εκδότης: Slovenian Forestry Institute, Silva Slovenica publishing centre, Ljubljana 2020

Τίτλος: Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών

Συντάκτες: Marko Bajc, Φίλιππος Α. Αραβανόπουλος, Marjana Westergren, Barbara Fussi, Darius Kavaliauskas, Παρασκευή Αλιζώτη, Φώτιος Κιουρτσής, Hojka Kraigher

Επιστημονική επιμέλεια: Φίλιππος Α. Αραβανόπουλος

Μετάφραση: Φίλιππος Α. Αραβανόπουλος, Νικόλαος Τουρβάς, Φανή Λύρου

Διορθωτές: Βασιλική-Μαρία Κοτινά, Μαρία-Ειρήνη Αντωνιάδου, Χρύσα Γουγουτσά, Ειρήνη Ζαχαροπούλου, Κατερίνα Καπλάνη, Μαρία Μαυρουδάκη, Ειρήνη Μυρωνίδου, Αλεξάνδρα Νάσκα, Μαρίτα Παπαγιάννη, Ιωάννα Πύρκα, Ελεάνα Χαβαλέ

Τεχνικός έλεγχος: Peter Železnik, Katja Kančič Sonnenschein

Σχεδίαση: Boris Jurca, NEBIA

Εκτύπωση: Εκδόσεις Κυριακίδη

Έκδοση: 1^η έκδοση

Τιμή: Δωρεάν

Κυκλοφορία: 200

Ηλεκτρονική έκδοση: <http://dx.doi.org/10.20315/SFS.177>

CIP - Kataložni zapis o publikaciji
Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

630*58:630*16(082)

630*1:575.22(082)

ODEGÓS efarmogís gia te genetiké parakolúthese dasón /
[syntáktes Marko Bajc ... et al.]. - 1e ékd. - Ljubljana : Slovenian
Forestry Institute, Silva Slovenica Publishing Centre, 2020. - (Studia
Forestalia Slovenica, ISSN 0353-6025 ; 177)

ISBN 978-961-6993-66-1

COBISS.SI-ID 57032963

Περιεχόμενα

- 1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ
- 2 ΕΠΙΛΟΓΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΩΝ
- 3 ΙΔΡΥΣΗ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΩΝ
- 4 ΔΕΙΚΤΕΣ, ΕΠΑΛΗΘΕΥΤΕΣ ΚΑΙ ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ
- 5 ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΠΕΔΙΟΥ
- 6 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ
- 7 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΚΟΣΤΟΥΣ
- 8 ΣΥΣΤΗΜΑ ΛΗΨΕΩΣ ΑΠΟΦΑΣΕΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΛΟΓΗ ΕΠΙΠΕΔΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ ΔΑΣΩΝ
- 9 ΚΑΤΕΥΘΥΝΤΗΡΙΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΔΑΣΩΝ
- 10 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Κατάλογος Συγγραφέων

ΣΥΝΤΑΚΤΕΣ

Marko BAJC¹, Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ², Marjana WESTERGREN¹, Barbara FUSSI³, Darius KAVALIUSKAS³, Παρασκευή ΑΛΙΖΩΤΗ², Φώτιος ΚΙΟΥΡΤΣΗΣ⁴, Hojka KRAIGHER¹

ΣΥΓΓΡΑΦΕΙΣ

Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ², Marjana WESTERGREN¹, Barbara FUSSI³, Darius KAVALIUSKAS³, Παρασκευή ΑΛΙΖΩΤΗ², Marko BAJC¹, Φώτιος ΚΙΟΥΡΤΣΗΣ⁴, Monika KONNERT³, Ευαγγελία Β. ΑΒΡΑΜΙΔΟΥ^{2,5}, Dalibor BALLIAN^{1,6}, Ευάγγελος ΜΠΑΡΜΠΑΣ², Παύλος ΜΠΕΚΙΑΡΟΓΛΟΥ⁴, Sándor BORDÁCS⁷, Gregor BOŽIČ¹, Philip BRAILEY-JONES¹, Andrej BREZNIKAR⁸, Παύλος ΧΑΣΙΛΙΔΗΣ⁴, Rok DAMJANIĆ¹, Natalija DOVČ¹, Άννα-Μαρία ΦΑΡΣΑΚΟΓΛΟΥ^{2,9}, Domen FINŽGAR^{1,10}, Νικήτας ΦΡΑΓΚΙΣΚΑΚΗΣ⁴, Ιωάννης ΓΑΝΟΠΟΥΛΟΣ^{2,11}, Berthold HEINZE¹², Ερμιόνη ΜΑΛΛΙΑΡΟΥ², Γεώργιος ΡΟΥΣΑΚΗΣ⁴, Χρυσή ΣΑΡΒΑΝΗ⁴, Kristina SEVER³, Nataša ŠIBANČIĆ¹, Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ², Živan VESELIČ⁸, Zvonimir VUJNOVIĆ¹³, Peter ŽELEZNIK¹, Hojka KRAIGHER¹

ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΣΥΝΕΡΓΑΤΕΣ

Vlatko ANDONOVSKI¹⁴, Roland BAIER¹⁵, Mladen IVANKOVIĆ¹³, Davorin KAJBA¹⁶, Heino KONRAD¹², Saša ORLOVIĆ¹⁷, Srđan STOJANIĆ¹⁷

ΣΥΝΤΑΚΤΕΣ ΒΟΤΑΝΙΚΩΝ ΕΙΚΟΝΟΓΡΑΦΗΣΕΩΝ

Rok DAMJANIĆ¹, Katja KAVČIČ SONNENSCHNEIN¹

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ricardo ALIA¹⁸, Tjaša BALOH¹, Franc BATIČ¹⁹, Maria BELOVARSKA²⁰, Michele BOZZANO⁹, Robert BRUS²¹, Bruno FADY²², Santiago C. GONZÁLES-MARTÍNEZ²², Tine GREBENC¹, Melita HRENKO¹, Jason HUBERT²³, Katja KAVČIČ-SONNENSCHNEIN¹, Alenka KORENJAK²⁴, Ινώ-Βασιλεία ΚΟΡΟΜΠΟΚΗ², Βασιλική-Μαρία ΚΟΤΙΝΑ², Tijana MARTINOVIĆ^{1,25}, Milan MATARUGA²⁶, Tanja MRAK¹, László NAGY²⁷, Δέσποινα ΠΑΪΤΑΡΙΔΟΥ²⁸, Μαρίτα ΠΑΠΑΓΙΑΝΝΗ², Andrea R. PLUESS²⁹, Boris RANTAŠA³, Mari RUSANEN³⁰, Barbara ŠTUPAR¹, Urša VILHAR¹, Ralph JENNER³, Susanne NOWAK³, Alwin JANSSEN³, Barbara BUCHWINKLER³, Mark WALTER³, Gerti HAUNEDINGER³, Karin GRUBER³

Συνεργαζόμενοι φορείς:

1. Slovenian Forestry Institute (GIS), Slovenia
2. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), Ελλάδα
3. Bavarian Office for Forest Genetics (AWG), Germany
4. Αποκεντρωμένη Διοίκηση Μακεδονίας & Θράκης, Γενική Διεύθυνση Δασών & Αγροτικών Υποθέσεων, Ελλάδα
5. Ινστιτούτο Μεσογειακών Δασικών Οικοσυστημάτων, ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ, Ελλάδα
6. Forestry Faculty, University of Sarajevo, Bosnia and Herzegovina
7. Szent István University, Budapest, Hungary
8. Slovenia Forest Service (ZGS), Slovenia
9. European Forest Genetic Resources Programme (EUFORGEN), European Forest Institute (EFI), Spain
10. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, UK
11. Ινστιτούτο Γενετικής Βελτίωσης & Φυτογενετικών Πόρων, ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ, Ελλάδα
12. Federal Research and Training Centre for Forests, Natural Hazards and Landscape (BFW), Austria
13. Croatian Forest Research Institute, Jastrebarsko, Croatia
14. Faculty of Forestry, Ss. Cyril and Methodius University in Skopje, North Macedonia
15. Berchtesgaden National Park, Doktorberg 6, Berchtesgaden, 83471, Germany
16. Faculty of Forestry, University of Zagreb, Croatia
17. Institute of Lowland Forestry and Environment (ILFE), Novi Sad, Serbia
18. Forest Research Center, INIA, Spain
19. Department of Agronomy, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, Slovenia
20. Executive Forests Agency, Ministry of Agriculture and Foods, Sofia, Bulgaria
21. Department of Forestry and Renewable Forest Resources, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, Slovenia
22. French National Research Institute for Agriculture, Food and the Environment (INRAe), France
23. Forestry Commission Scotland, UK
24. Ministry of Agriculture, Forestry and Food of the Republic of Slovenia, Slovenia
25. Institute for environmental microbiology, Czech Academy of Sciences, Czech Republic
26. Faculty of Forestry, University of Banja Luka, Rep. Srpska, BiH
27. Hungarian Forest Research Institute (ERTI), Hungary
28. Υπουργείο Περιβάλλοντος και Ενέργειας, Ελλάδα
29. Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research (WSL), Switzerland
30. Natural Resources Institute Finland (Luke), Finland

	ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΥΓΓΡΑΦΕΩΝ	4
	ΠΡΟΛΟΓΟΣ	9
1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	11
2	ΕΠΙΛΟΓΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΩΝ	17
	2.1 Αριθμός επιφανειών ανά είδος	18
	2.1.1 Περιοχές παρακολούθησης	18
	2.2 Αριθμός δέντρων ανά επιφάνεια	18
	2.3 Κριτήρια επιλογής επιφάνειας	18
3	ΙΔΡΥΣΗ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΩΝ	23
	3.1 Εισαγωγή	24
	3.2 Ίδρυση επιφανειών	24
	3.2.1 Δασοπονικά είδη τα οποία σχηματίζουν συστάδες	26
	3.2.2 Δασοπονικά είδη με διάσπαρτη χωρική κατανομή	28
	3.2.3 Επιφάνειες Φυσικής Αναγέννησης (ΦΑ)	31
	3.3 Σήμανση, γεωαναφορά, μετρήσεις πεδίου και παρατηρήσεις	31
	3.3.1 Επισήμανση δέντρων	31
	3.3.2 Γεωαναφορά	32
	3.4 Περιγραφή επιφάνειας	33
	3.5 Συντήρηση επιφάνειας	33
	3.5.1 Γενική συντήρηση	33
	3.5.2 Αντικατάσταση δέντρων	33
	3.5.3 Μακροχρόνια συντήρηση επιφάνειας	34
	3.6 Συλλογή μετεωρολογικών δεδομένων	34
4	ΔΕΙΚΤΕΣ, ΕΠΑΛΗΘΕΥΤΕΣ ΚΑΙ ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ	37
	4.1 Ορισμός δεικτών και επαληθευτών / Επιπλέον Πληροφορίες	38
	4.2 Επιλογή δεικτών και επαληθευτών / Επιπλέον Πληροφορίες	39
	4.3 Περιγραφή Δεικτών και επαληθευτών / Επιπλέον πληροφορίες	40

5

ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΠΕΔΙΟΥ

51

5.1 Εισαγωγή	52
5.2 Επαληθευτές και επιπλέον πληροφορίες που καταγράφονται / μετρούνται στο πεδίο	52
5.2.1 Επαληθευτής: Θνησιμότητα / Επιβίωση	54
5.2.2 Επαληθευτής: Αφθονία φυσικής αναγέννησης (ΦΑ)	54
5.2.3 Επιπλέον πληροφορία: Κατανομή κλάσεων στηθιαίας διαμέτρου	55
5.2.4 Επιπλέον πληροφορία: Κατανομή κλάσεων ύψους	55
5.3 Παρατηρήσεις φαινολογίας	56
5.3.1 Εισαγωγή	56
5.3.2 Φαινολογικοί επαληθευτές και επιπλέον πληροφορίες	56
5.4 Δειγματοληψία	63
5.4.1 Οδηγίες δειγματοληψίας για ανάλυση DNA	63
5.4.2 Δειγματοληψία για δοκιμή φυτρωτικότητας σπερμάτων	68

6

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

75

6.1 Εισαγωγή	76
6.2 Χειρισμός και αποθήκευση δειγμάτων	76
6.2.1 Χειρισμός δειγμάτων	76
6.2.2 Αποθήκευση δειγμάτων	77
6.3 Δοκιμή φυτρωτικότητας σπερμάτων	81
6.3.1 Εξαγωγή σπερμάτων <i>Abies alba</i> για δοκιμή φυτρωτικότητας	82
6.3.2 Προεργασία για δοκιμή φυτρωτικότητας σπερμάτων <i>Fagus sylvatica</i> και <i>Abies alba/A. borisii-regis</i>	82
6.3.3 Βιοχημική Δοκιμή Βιωσιμότητας - Τοπογραφική Δοκιμή του Τετραζολίου	87
6.4 Αναλύσεις DNA	90
6.4.1 Απομόνωση DNA	90
6.4.2 Γενετικοί δείκτες	94
6.5 Αναλύσεις δεδομένων	104
6.5.1 Θεωρητικό υπόβαθρο	104
6.5.2 Βάση δεδομένων	104
6.5.3 Ανάλυση δεδομένων πεδίου	106
6.5.4 Ανάλυση μοριακών δεδομένων	114
6.5.5 Ανάλυση δεδομένων δοκιμών φυτρωτικότητας σπερμάτων	136
6.5.6 Οι θεμελιώδεις επαληθευτές	137
6.5.7 Ερμηνεία των τιμών: σταδιακή απόκριση με βάση την αλλαγή σε 10 χρόνια	138

7

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΚΟΣΤΟΥΣ

151

7.1 Εισαγωγή	152
7.2 Εκτίμηση Κόστους	152
7.2.1 Υποθέσεις εκτίμησης κόστους	152
7.2.2 Εκτίμηση κόστους	155
7.3 Συμπεράσματα και προτάσεις	165
7.3.1 Προτάσεις για εξοικονόμηση κόστους	166

8

**ΣΥΣΤΗΜΑ ΛΗΨΕΩΣ ΑΠΟΦΑΣΕΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΛΟΓΗ
ΕΠΙΠΕΔΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ ΔΑΣΩΝ**

169

8.1 Εισαγωγή και σκοπός	170
8.2 Ερωτήσεις, στις οποίες απαντά η ΓΠΔ	170
8.3 Κόστος της Γενετικής Παρακολούθησης Δασών	171
8.4 Αξία πληροφορίας επαληθευτών ΓΠΔ	174
8.5 Διαχειριστικά μέτρα σε συνέχεια της ΓΠΔ	174

9

**ΚΑΤΕΥΘΥΝΤΗΡΙΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ
ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΔΑΣΩΝ**

177

9.1 Εισαγωγή	178
9.2 Κατευθυντήριες οδηγίες για τα επτά επιλεγμένα είδη	180
8.2.1 Κατευθυντήριες οδηγίες για τη γενετική παρακολούθηση της Λευκής ελάτης (<i>Abies alba</i> Mill.) και της Υβριδογενούς ελάτης (<i>Abies borisii-regis</i> Matff.)	181
8.2.2 Κατευθυντήριες οδηγίες για τη γενετική παρακολούθηση της Δασικής Οξιάς (<i>Fagus sylvatica</i> L.)	199
8.2.3 Κατευθυντήριες οδηγίες για τη γενετική παρακολούθηση του Φράξου του ψηλού (<i>Fraxinus excelsior</i> L.)	217
8.2.4 Κατευθυντήριες οδηγίες για τη γενετική παρακολούθηση της Μαύρης πεύκης (<i>Pinus nigra</i> J.F.Arnold)	237
8.2.5 Κατευθυντήριες οδηγίες για τη γενετική παρακολούθηση της Μαύρης λεύκης (<i>Populus nigra</i> L.)	257
8.2.6 Κατευθυντήριες οδηγίες για τη γενετική παρακολούθηση της Άγριας κερασιάς (<i>Prunus avium</i> (L.) L.)	279
8.2.7 Κατευθυντήριες οδηγίες για τη γενετική παρακολούθηση της Ποδισκοφόρου (<i>Quercus robur</i> L.) και της Απόδισκου δρυός (<i>Quercus petraea</i> (Matt.) Liebl.)	297

10

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

319

10.1 Περιγραφή ονομασίας - χαρακτηρισμού και χαρτών των περιοχών παρακολούθησης	320
10.2 Έντυπα υποδείγματα παρατηρήσεων πεδίου	330
10.2.1 Έντυπο υπόδειγμα περιγραφής επιφάνειας	331
10.2.2 Έντυπο υπόδειγμα καταγραφής επαληθευτών πεδίου	335
10.2.3 Έντυπο υπόδειγμα καταγραφής επιπλέον πληροφοριών	342
10.3 Συμπληρωματικοί πίνακες για το Κεφάλαιο 7: Εκτίμηση κόστους	347



Πρόλογος

Ο Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών (ΓΠΔ) είναι το κύριο αποτέλεσμα του έργου LIFEGENMON. Σε αυτό το έργο συνέβαλε μία κοινοπραξία επιστημόνων υπό τη διεύθυνση έξι εταίρων και περισσότερων από 50 ερευνητών από την Κεντρική και Νοτιοανατολική Ευρώπη. Ο Οδηγός υποστηρίζει τη προστασία των δασικών γενετικών πόρων, την ανθεκτικότητα των δασικών οικοσυστημάτων, τη βιώσιμη διαχείριση των δασών, την παρακολούθηση της κλιματικής αλλαγής και τις σχετικές διαδικασίες πολιτικών αποφάσεων. Ο Οδηγός Εφαρμογής βασίστηκε στις ήδη υπάρχουσες επιστημονικές γνώσεις, αλλά και στα επιστημονικά ευρήματα που παρήχθησαν και ελέγχθηκαν στο πλαίσιο του έργου LIFEGENMON. Περιλαμβάνει συγκεκριμένα επιστημονικά πρωτόκολλα για την εφαρμογή της ΓΠΔ στην Ευρώπη και συστάσεις πολιτικής προσανατολισμένες στη δασική πράξη. Το ενσωματωμένο Σύστημα Λήψης Αποφάσεων μπορεί να εφαρμοστεί για την επιλογή του κατάλληλου επιπέδου ΓΠΔ βάσει των εθνικών αναγκών και μέσων για τη στήριξη των διεθνών προσπαθειών εφαρμογής της ΓΠΔ.

Η κοινοπραξία του LIFEGENMON εξέτασε τα παραπάνω ζητήματα και φιλοδοξεί να επηρεάσει τις μελλοντικές τακτικές προστασίας των δασών σε διαφορετικές κλίμακες, από το επίπεδο των γονιδίων έως το επίπεδο των οικοσυστημάτων και από το χωρικά τοπικό έως το παγκόσμιο επίπεδο. Ο στόχος του παρόντος Οδηγού Εφαρμογής είναι να υποστηρίξει την εφαρμογή της ΓΠΔ στη δασική πράξη και να συνδράμει στην κατανόηση της σημασίας της ΓΠΔ στην πολυλειτουργική διαχείριση των δασών.





Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών

Κεφάλαιο 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ¹, Marko BAJC², Barbara FUSSI³, Hojka KRAIGHER²

Απόδοση στα ελληνικά

Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ, Μαρία ΜΑΥΡΟΥΔΑΚΗ, Βασιλική-Μαρία ΚΟΤΙΝΑ,
Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ

Βιβλιογραφική αναφορά: Αραβανόπουλος κ. ά. (2020) Εισαγωγή. Στο: Βαϊς κ. ά. (Επιμ.) Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών. Ινστιτούτο Δασών Σλοβενίας; Silva Slovenica Publishing Centre, Λιουμπλιάνα, σσ. 11-14. <http://dx.doi.org/10.20315/SFS.167>

Εταίροι και συνεργαζόμενοι Φορείς:

- ¹ Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), Ελλάδα
- ² Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας (GIS), Σλοβενίας
- ³ Βαυαρικό Γραφείο Δασικής Γενετικής (AWG), Γερμανία

Η ταχεία κλιματική αλλαγή έχει αναγνωριστεί ως μια αυξανόμενη απειλή ιδιαίτερα για τα πολυετή δασικά είδη, τα δασικά οικοσυστήματα και για όλα τα επίπεδα βιοποικιλότητας που αυτά φιλοξενούν και προστατεύουν, καθώς και για τις οικοσυστημικές υπηρεσίες που παρέχουν. Η γενετική ποικιλότητα είναι η απόλυτη πηγή βιολογικής ποικιλομορφίας και είναι καίριας σημασίας για τη ζωτικότητα των δασών και την προσαρμογή τους στην κλιματική αλλαγή. Επιπλέον, η γενετική ποικιλότητα παρέχει αυξημένη ανάπαυση σε σχέση με παράγοντες καταπόνησης, όπως τα έντομα και οι ασθένειες.

Η Συνθήκη για τη Βιοποικιλότητα αποτελεί από το 1992 την πιο ολοκληρωμένη διεθνή συμφωνία και προσπάθεια για τη διατήρηση της βιοποικιλότητας παγκοσμίως, περιλαμβανομένης της γενετικής ποικιλότητας. Το Άρθρο 7 καλεί σε δράση για «παρακολούθηση μέσω δειγματοληψίας και άλλων τεχνικών των στοιχείων της βιοποικιλότητας» (CBD 1993). Η ανάγκη παρακολούθησης της βιοποικιλότητας οδήγησε στην ανάπτυξη παγκόσμιων δεικτών βιοποικιλότητας (Graudal κ.ά. 2014), κάτι που επίσης αναφέρεται στους Στόχους Βιοποικιλότητας Aichi που ακολούθησαν (Convention on Biological Diversity, 2010). Άλλες διεθνείς και περιφερειακές διαδικασίες επεσήμαναν την ανάγκη καθορισμού κριτηρίων και δεικτών όσον αφορά την αξιολόγηση της γενετικής ποικιλότητας ή των δασικών γενετικών πόρων (ΔΓΠ)*¹ (όπως η διαδικασία Forest Europe, η Στρατηγική της ΕΕ για τα Δάση, το Πρόγραμμα Αγροτικής Ανάπτυξης της ΕΕ, η Οδηγία της ΕΕ για το Αναπαραγωγικό Φυτευτικό Υλικό και ο Κανονισμός της ΕΕ για τα Χωροκατακτητικά Ξενικά Είδη) (βλ. Bouillon *et al.* 2014).

Η διάσταση της γενετικής ποικιλότητας θα πρέπει συνεπώς να λαμβάνεται υπόψη κατά την παρακολούθηση των επιπτώσεων της κλιματικής αλλαγής στα δασικά οικοσυστήματα. Επίσης θα πρέπει να σχετίζεται με τη διαχείριση των υπάρχοντων δασών και τη δημιουργία νέων, ιδιαίτερα στην επιλογή και παραγωγή των σπερμάτων και άλλου αναπαραγωγικού υλικού για αναδασώσεις και αποκατάσταση δασών» (ibid).

Ο στόχος της γενετικής παρακολούθησης δασών (ΓΠΔ) είναι η αξιολόγηση της τρέχουσας κατάστασης των γενετικών πόρων και ο ποσοτικός προσδιορισμός των σχετιζόμενων αλλαγών σε χρονική κλίμακα, προκειμένου να διατηρηθεί το μακροπρόθεσμο προσαρμοστικό δυναμικό εξέλιξης. Από την παρατήρηση των χρονικών αλλαγών στους πληθυσμούς, τεκμαίρονται τα υποκείμενα αίτια και η σχετική τους σημασία δύναται να αξιολογηθεί. Η ΓΠΔ είναι επομένως ένα προγνωστικό εργαλείο και αποτελεί μια μέθοδο για την εξασφάλιση της διατήρησης των διαδικασιών που διατηρούν τη γενετική ποικιλότητα στους φυσικούς πληθυσμούς (Aravanopoulos 2011). **Η ΓΠΔ επιτρέπει την έγκαιρη ανίχνευση δυνητικά επιβλαβών αλλαγών επί της προσαρμοστικότητας των δασών**, πριν αυτές εμφανιστούν σε υψηλότερα επίπεδα βιοποικιλότητας (π.χ. ποικιλότητα ειδών ή οικοσυστημάτων) και δύναται να βελτιώσει τη βιωσιμότητα των εφαρμοσμένων πρακτικών διαχείρισης των δασών και να κατευθύνει την περαιτέρω έρευνα.

Οι βασικές αρχές που πρέπει να αντιμετωπιστούν στη ΓΠΔ καθορίστηκαν από το **Ευρωπαϊκό Δίκτυο Δασικών Γενετικών Πόρων (EUFORGEN)** (Aravanopoulos *et al.* 2015), το οποίο συμβάλλει συνεχώς στην πανευρωπαϊκή στρατηγική για την προστασία των ΔΓΠ (De Vries *et al.* 2014). Το Δίκτυο επισημαίνει την υποστήριξη του στην εφαρμογή ενός πανευρωπαϊκού σχεδίου ΓΔΠ, ως έναν από τους επιχειρησιακούς στόχους της 6ης φάσης του Σχεδίου Δράσης του (2020-2024) (EUFORGEN 2019).

Μια πρωταρχική προϋπόθεση για την εφαρμογή της ΓΠΔ είναι **η οριοθέτηση των περιοχών παρακολούθησης**, δηλαδή των περιοχών όπου η γενετική παρακολούθηση πρέπει να εφαρμόζεται για να έχει το μέγιστο δυνατό αποτέλεσμα. Η οριοθέτηση αυτή έχει αναπτυχθεί μέσω μιας συνδυασμένης προσέγγισης χρήσεως βάσεων δεδομένων και εμπειρογνομόνων και εφαρμόστηκε στο έργο LIFEGENMON (LIFE ENV / SI / 000148, 2014 - 2020, <http://www.lifegenmon.si/>) σε μια ευρεία περιοχή, η οποία διατέμνει την έκταση από τις Βαυαρικές Άλπεις στη Γερμανία έως το όρος Όλυμπος στην Ελλάδα, καλύπτοντας εννέα χώρες και επτά δασικά είδη δέντρων ή συμπλέγματα ειδών, που διαφέρουν στη βιολογία και στη φυσική τους εξάπλωση.

¹ Ο Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών (FAO) περιγράφει ότι «Οι Δασικοί Γενετικοί Πόροι (ΔΓΠ) είναι τα κληρονομικά στοιχεία που διατηρούνται εντός και μεταξύ των δασικών ειδών και άλλων ξυλωδών φυτών... που έχουν πραγματική ή δυνητική οικονομική, περιβαλλοντική, επιστημονική ή κοινωνική αξία. Είναι ζωτικής σημασίας για την προσαρμογή και προστασία των οικοσυστημάτων, των τοπίων και των συστημάτων παραγωγής, αλλά υπόκεινται σε αυξανόμενες πιέσεις και μη βιώσιμη χρήση» (<http://www.fao.org/forest-genetic-resources/background/en/>).

Η γενετική παρακολούθηση όπως ορίζεται στο έργο LIFE GENMON εφαρμόζεται σε ένα σύστημα που βασίζεται σε σαφείς επιστημονικές αρχές και περιλαμβάνει **ένα ελάχιστο σύνολο εννοιολογικών προσεγγίσεων και παραμέτρων που θα εξάγουν τη μέγιστη ποσότητα γενετικών πληροφοριών** (Aravanopoulos 2016, Fussi *et al.* 2016). Αυτές επεξηγούνται μέσω της εφαρμογής δεικτών και επαληθευτών. **Ένας δείκτης** εφαρμόζεται για οποιοδήποτε στοιχείο ή διαδικασία του οικοσυστήματος που χρησιμοποιείται για να τεκμηριώσει τη βιωσιμότητα του πόρου (Aravanopoulos *et al.* 2015).

Ένας δείκτης συνήθως αξιολογείται σε χρονική βάση για να αντικατοπτρίσει μια πρόοδο ή αλλαγή, που σχετίζεται με το αντίστοιχο κριτήριο. Πρέπει να είναι άμεσα μετρήσιμος και η παράμετρος που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση ενός δείκτη αναφέρεται ως επαληθευτής. Επομένως, **ένας επαληθευτής περιλαμβάνει την εκτίμηση των δεδομένων που βελτιστοποιούν την ακρίβεια, ή τη διευκόλυνση της εκτίμησης ενός δείκτη**. Στην πράξη, ο επαληθευτής είναι η μονάδα μέτρησης του δείκτη (Aravanopoulos *et al.* 2015). Σε αυτό το Εγχειρίδιο, η ΓΠΔ προτείνεται να αξιολογηθεί χρησιμοποιώντας τρεις δείκτες, τη φυσική επιλογή, τη γενετική ποικιλότητα και τη γονιδιακή ροή / σύστημα συζεύξεων και ένα σύνολο 15 επαληθευτών. Η επιλογή δεικτών αξιολογείται από δημογραφικούς επαληθευτές που σχετίζονται με τη συλλογή δεδομένων πεδίου. Η γενετική ποικιλότητα αξιολογείται χρησιμοποιώντας γενετικούς δείκτες με δειγματοληψία τόσο της ώριμης συστάδας, όσο και της αναγέννησης. Τέλος, η ροή γονιδίων αξιολογείται επίσης χρησιμοποιώντας γενετικούς δείκτες, ενώ οικογένειες από ελεύθερη επικοινωνία αξιολογούνται με δειγματοληψία σπερμάτων.

Προτείνονται τρεις επιλογές, ή επίπεδα, γενετικής παρακολούθησης: Βασική, Τυπική και Προχωρημένη. Η πρώτη επιλογή (Βασικό Επίπεδο) χρησιμοποιεί δημογραφικά δεδομένα για την αξιολόγηση του δείκτη «φυσική επιλογή». Η δεύτερη επιλογή (Τυπικό Επίπεδο) χρησιμοποιεί δημογραφικά στοιχεία (όπως παραπάνω) και γενετικά δεδομένα για την αξιολόγηση, εκτός της φυσικής επιλογής και της γενετικής ποικιλότητας. Τέλος, η τρίτη επιλογή (Προχωρημένο Επίπεδο) χρησιμοποιεί, εκτός από τα παραπάνω, δεδομένα οικογενειών από ελεύθερη επικοινωνία (σπερμάτων), προκειμένου να αξιολογήσει πέραν της φυσικής επιλογής και της γενετικής ποικιλότητας, τη ροή γονιδίων και τα συστήματα σύζευξης (Aravanopoulos *et al.* 2015).

Υπάρχει μια αυξανόμενη διεθνής προσπάθεια για **την εξασφάλιση μακροπρόθεσμων πολιτικών δεσμεύσεων για την εφαρμογή της ΓΠΔ**, που βασίζεται σε τέσσερις λόγους: (α) Η ΓΠΔ μπορεί να εφαρμοστεί επιτυχώς, όπως έχουν δείξει όλα τα εγχειρήματα «απόδειξης επί της αρχής», (β) Η ΓΠΔ μπορεί να παράσχει μια ανεκτίμητη εικόνα για τη μελλοντική κατάσταση της γενετικής ποικιλότητας και της επιβίωσης του πληθυσμού, ειδικά επειδή ένας αριθμός γενετικά σημαντικών πληθυσμών δασικών δέντρων (π.χ. οριακοί πληθυσμοί, πληθυσμοί σπάνιων ή ευάλωτων ειδών) αναμένεται να διολισθήσει κάτω από το γενετικά επαρκές αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού, (γ) Η ΓΠΔ είναι μια μακρά διαδικασία και απαιτεί τακτική παρακολούθηση των αξιολογήσεων προκειμένου να εντοπίζεται και να ερμηνεύεται αξιόπιστα το αποτύπωμα της και (δ) το κόστος της ΓΠΔ εμφανίζει διακύμανση (από χαμηλό για το Βασικό Επίπεδο έως σημαντικό για το Προχωρημένο Επίπεδο).

Στο πλαίσιο του έργου LIFE GENMON, έχει αναπτυχθεί το **Εγχειρίδιο ΓΠΔ και οι Οδηγίες για τη ΓΠΔ Ειδών**, που περιλαμβάνουν διαφορετικά επίπεδα ΓΠΔ και κόστους. **Το Σύστημα Υποστήριξης Αποφάσεων (ΣΥΑ)** έχει αναπτυχθεί για να υποβοηθήσει τους υπεύθυνους χάραξης πολιτικής στην επιλογή του βέλτιστου επιπέδου ΓΠΔ, λαμβάνοντας υπόψη το κόστος και τα οφέλη των διαφορετικών επιπέδων ΓΠΔ. Επιπλέον, το ΣΥΑ παρέχει συστάσεις ως προς την εφαρμογή μέτρων για τη διατήρηση και τη βιώσιμη χρήση της ΓΠΔ, κάτω από μεταβαλλόμενες κλιματικές συνθήκες.

Το σύστημα ΓΠΔ όπως υλοποιήθηκε στο έργο LIFE GENMON βασίζεται σε ισχυρές θεωρητικές αρχές γενετικής παρακολούθησης, ωστόσο οι συγγραφείς αυτού του Εγχειριδίου αναγνωρίζουν αντικειμενικά ότι δεν ήταν δυνατό να δοκιμαστούν πλήρως όλες οι πτυχές της ΓΠΔ κατά τη διάρκεια του έργου LIFE GENMON και να καλυφθούν στο παρόν Εγχειρίδιο. Όντας μια μακροχρόνια προσπάθεια, η ΓΠΔ μπορεί να αξιοποιήσει πλήρως τις δυνατότητές της, μόνο μετά από επαρκή αριθμό χρονικών αξιολογήσεων. Όπως κάθε αναλυτικό σύστημα, το προτεινόμενο σύστημα ΓΠΔ θα πρέπει να αξιολογείται συνεχώς για την επίτευξη των αναμενόμενων στόχων παρακολούθησης και εάν χρειάζεται, να βελτιωθεί ή να επανασχεδιαστεί (Fussi κ.ά. 2016).

Όσον αφορά στη μελλοντική ανάπτυξη της ΓΠΔ, αυτή πιθανότατα θα προχωρήσει στη μελλοντική της τροχιά μεταβαίνοντας από τη γενετική στη γονιδιωματική παρακολούθηση. Αυτή η μετάβαση αναμένεται να αυξήσει την ακρίβεια στις εκτιμήσεις της γενετικής ποικιλότητας και του προσαρμοστικού γενετικού δυναμικού των πληθυσμών. Καθώς η επιγενετική ποικιλότητα διαφαίνεται ότι επηρεάζει πολλά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά που εμπλέκονται στην τοπική προσαρμογή, η **επιγενετική παρακολούθηση** μπορεί επίσης να αποτελέσει μια μελλοντική επιλογή. Σε ένα πιο ολοκληρωμένο επίπεδο, το μέλλον της ΓΠΔ αναμφίβολα θα περιλαμβάνει - και θα επωφεληθεί - από την συμπερίληψη των δεδομένων που αποκτούνται από τη βιοπαρακολούθηση, όχι μόνο των γενετικών παραμέτρων, αλλά και των κλιματικών και εδαφικών δεδομένων, των παραμέτρων φυσιολογίας, των παραμέτρων επιπέδου βιοκοινότητας κ.λπ. Ανερχόμενες τεχνολογίες, όπως αυτές των γεωγραφικών συστημάτων πληροφοριών, της τηλεπισκόπησης και της εξόρυξης δεδομένων, θα είναι πρωταρχικής σημασίας για την ΓΠΔ.

Ο παρόν Οδηγός Εφαρμογής παρουσιάζει λεπτομερώς τις βάσεις και την εφαρμογή της ΓΠΔ για όλα τα επίπεδα εφαρμογής. Φιλοδοξεί να γίνει ένα πρωταρχικό κατευθυντήριο μέσο για την εφαρμογή της γενετικής παρακολούθησης στα ευρωπαϊκά δάση και πέρα από αυτά **και να θέσει το πλαίσιο για την πλήρη εφαρμογή της ΓΠΔ για την προστασία των γενετικών πόρων και τη βιώσιμη διαχείριση των δασών.**

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aravanopoulos FA (2011) Genetic monitoring in natural perennial plant populations. *Botany* 89:75-81. <https://doi.org/10.1139/b10-087>
- Aravanopoulos FA (2016) Conservation and monitoring of tree genetic resources in temperate forests. *Current Forestry Reports* 2:119-129. <https://doi.org/10.1007/s40725-016-0038-8>
- Aravanopoulos FA, Tollefsrud MM, Graudal L, Koskela J, Katzel R, Soto A, Nagy L, Pilipovic A, Zhelev P, Bozic G & Bozzano M (2015) Development of genetic monitoring methods for genetic conservation units of forest trees in Europe. *European Forest Genetic Resources Programme (EUFORGEN)*, Bioversity International, Rome, Italy, 62 pp.
- Bouillon P, Hubert J, Bakkebo Fjellstad K, Rusanen M, Zavrl Bogataj A, Olrik DC, Bordács S, Longauer R, Paitaridou D, Koiv K, Koskela J, Orlovic S, Black-Samuelsson S, Wolter F (2015) The implications of global, European and national policies for the conservation and use of forest genetic resources in Europe. *European Forest Genetic Resources Programme (EUFORGEN)*, Bioversity International, Rome, Italy, 42 pp.
- Convention on Biological Diversity (2010) Strategic Plan for Biodiversity 2011–2020, including Aichi Biodiversity Targets. <https://www.cbd.int/sp/> Accessed 03 December 2020
- de Vries SMG, Alan M, Bozzano M, Buriánek V, Collin E, Cottrell J, Ivankovic M, Kelleher C, Koskela J, Rotach P, Vietto L, Yrjänä L (2015) Pan-European strategy for genetic conservation of forest trees and establishment of a core network of dynamic conservation units. *European Forest Genetic Resources Programme (EUFORGEN)*, Bioversity International, Rome, Italy, 40 pp.
- EUFORGEN (2019) Strategic objectives and implementation plan for Phase VI (2020-2024). http://www.euforgen.org/fileadmin/templates/euforgen.org/upload/Documents/EUFORGEN_PhaseVI_Objectives_and_Plan.pdf Accessed 08 December 2020
- Food and Agriculture Organisation of the United Nations. Forest Genetic Resources. <http://www.fao.org/forest-genetic-resources/background/en/> Accessed 03 December 2020
- Fussi B, Westergren M, Aravanopoulos F, Baier R, Kavaliuskas D, Finzgar D, Alizoti P, Bozic, G, Avramidou E, Konnert M, Kraigher H (2016) Forest genetic monitoring: an overview of concepts and definitions. *Environmental Monitoring and Assessment* 188(8):493. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5489-7>
- Graudal L, Aravanopoulos FA, Bennadji Z, Changtragoon S, Fady B, Kjaer ED, Loo J, Ramamonjisoa L, Vendramin GG (2014) Global to local genetic diversity indicators of evolutionary potential in tree species within and outside forests. *For Ecol Manag* 333:35-51. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2014.05.002>





Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών

Κεφάλαιο 2

ΕΠΙΛΟΓΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΩΝ

Hojka KRAIGHER¹, Marjana WESTERGRE¹, Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ², Barbara FUSSI³, Marko BAJC¹, Dalibor BALLIAN^{1,4}, Gregor BOŽIČ¹, Domen FINŽGAR^{1,5}, Darius KAVALIAUSKAS³, Φώτιος ΚΙΟΥΡΤΣΗΣ⁶, Monika KONNERT³, Živan VESELIČ⁷

Απόδοση στα ελληνικά:

Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ, Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ, Φανή ΛΥΡΟΥ

Βιβλιογραφική αναφορά: Kraigher κ. ά. (2020) Επιλογή επιφανειών. Στο: Bajc κ. ά. Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας; Silva Slovenica Publishing Centre, Λιουμπλιάνα, σσ. 17-20. <http://dx.doi.org/10.20315/SFS.167>

Εταίροι και συνεργαζόμενοι Φορείς:

1. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας (GIS), Σλοβενίας
2. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), Ελλάδα
3. Βαυαρικό Γραφείο Δασικής Γενετικής (AWG), Γερμανία
4. Σχολή Δασολογίας, Πανεπιστήμιο του Σαράγιεβο, Βοσνία και Ερζεγοβίνη
5. Ινστιτούτο Εξελικτικής Βιολογίας, Πανεπιστήμιο του Εδιμβούργου, Ηνωμένο Βασίλειο
6. Αποκεντρωμένη Διοίκηση Μακεδονίας Θράκης, Γενική Διεύθυνση Δασών & Αγροτικών Υποθέσεων, Ελλάδα
7. Δασική Υπηρεσία Σλοβενίας (SFS), Σλοβενία

2.1 Αριθμός επιφανειών ανά είδος

Συνίσταται ο καθορισμός τουλάχιστον μίας (1) επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης δασών (ΓΠΔ) ανά περιοχή παρακολούθησης, η οποία να οριοθετείται ανά είδος ή σύμπλεγμα ειδών (βλ. Παράρτημα 10.4 Περιγραφή ορισμού και χαρτών περιοχών ΓΠΔ). Εάν γειτονικά κράτη μοιράζονται περιοχές παρακολούθησης, η διεθνής συνεργασία μπορεί να μειώσει τον συνολικό αριθμό επιφανειών ΓΠΔ, έτσι ώστε η κάθε μία να εκπροσωπείται από μία επιφάνεια ΓΠΔ.

2.1.1 Περιοχές παρακολούθησης

Οι περιοχές παρακολούθησης θα πρέπει να οριοθετούνται με βάση τα ακόλουθα κριτήρια:

1. Αντιπροσωπευτική κάλυψη περιβαλλοντικών ζωνών (βλ. Παράρτημα).
2. Κάλυψη των χαρακτηρισμένων τοπικών ποικιλιών ή οικοτύπων, συμπερίληψη οριακών και περιφερειακών πληθυσμών λαμβάνοντας υπόψη τα όρια που προσδιορίζονται από τα γεωγραφικά πλάτη, το υψόμετρο και τα οικολογικά όρια, καθώς και τους πληθυσμούς του πρόσθιου και ύστερου άκρου εξάπλωσης των ειδών.
3. Εξέταση της κατανομής των Μονάδων Προστασίας Γενετικών Πόρων (GCU) του Ευρωπαϊκού Δικτύου Δασικών Γενετικών Πόρων EUFORGEN (EUFORGEN, <http://portal.eufgis.org/>), έτσι ώστε κάθε περιοχή γενετικής παρακολούθησης να περιλαμβάνει κατά προτίμηση τουλάχιστον μία Μονάδα Προστασίας Γενετικών Πόρων, εφόσον πληρούνται οι σχετικές προαπαιτούμενες συνθήκες (βλ. 2.3 Κριτήρια επιλογής επιφάνειας).
4. Γνώσεις όσον αφορά τα επίπεδα γενετικής ποικιλότητας και γενετικής δομής ιστάμενων συστάδων, βάσει δεδομένων από γενετικούς μοριακούς δείκτες.
5. Σχετικά αποτελέσματα δοκιμών προελεύσεων (όπου είναι διαθέσιμα).
6. Εμπειρογνωμοσύνη ειδικών επιστημόνων σε κάθε χώρα για τη βελτιστοποίηση της θέσης των οριοθετημένων περιοχών παρακολούθησης σχετικά με τους τύπους δασών, τη ζωτικότητα, τη βιοποικιλότητα και την οικονομική αξία των πληθυσμών.
7. Σε περίπτωση ασαφών ή αποσπασματικών δεδομένων, η γνώμη των ειδικών εμπειρογνομόνων θεωρείται ως ο καθοριστικός παράγοντας για τη λήψη αποφάσεων κατά το τελικό στάδιο σχεδιασμού (βλ. Παράρτημα 10.4 για τη γενετική παρακολούθηση στις περιοχές που διατέμνουν την έκταση από τη Βαυαρία έως την Ελλάδα για τα είδη *Fagus sylvatica*, *Abies alba*/ *A. borisii regis*, *Fraxinus excelsior*, *Populus nigra*, *Pinus nigra*, *Prunus avium* and *Quercus robur*/*Q. petraea*).

2.2 Αριθμός δέντρων ανά επιφάνεια

Επιβάλλεται η επιλογή τουλάχιστον πενήντα (50) δέντρων ανά επιφάνεια που παρουσιάζουν καρποφορία, για την εφαρμογή της γενετικής παρακολούθησης. Σε σπάνιες περιπτώσεις και μόνο για είδη που παρουσιάζουν διάσπαρτη χωρική κατανομή, ο αριθμός μπορεί να μειωθεί σε 30 ενήλικα δέντρα (βλ. Κεφάλαιο 3, Ίδρυση και διαχείριση επιφάνειας).

2.3 Κριτήρια επιλογής επιφάνειας

Τα κριτήρια 1 έως 4 βασίζονται στις ελάχιστες απαιτήσεις του Ευρωπαϊκού Γεωγραφικού Συστήματος Πληροφοριών Δασικών Γενετικών Πόρων (EUFGIS) για μονάδες προστασίας δασικών ειδών (βλ. http://portal.eufgis.org/fileadmin/templates/eufgis.org/documents/EUFGIS_Minimum_requirements.pdf).

1. Οι μονάδες θα πρέπει να βρίσκονται υπό καθορισμένο καθεστώς προστασίας (π.χ. περιοχή προστασίας γενετικών πόρων, σποροπαραγωγός συστάδα, προστατευόμενη περιοχή κ.λ.π.)

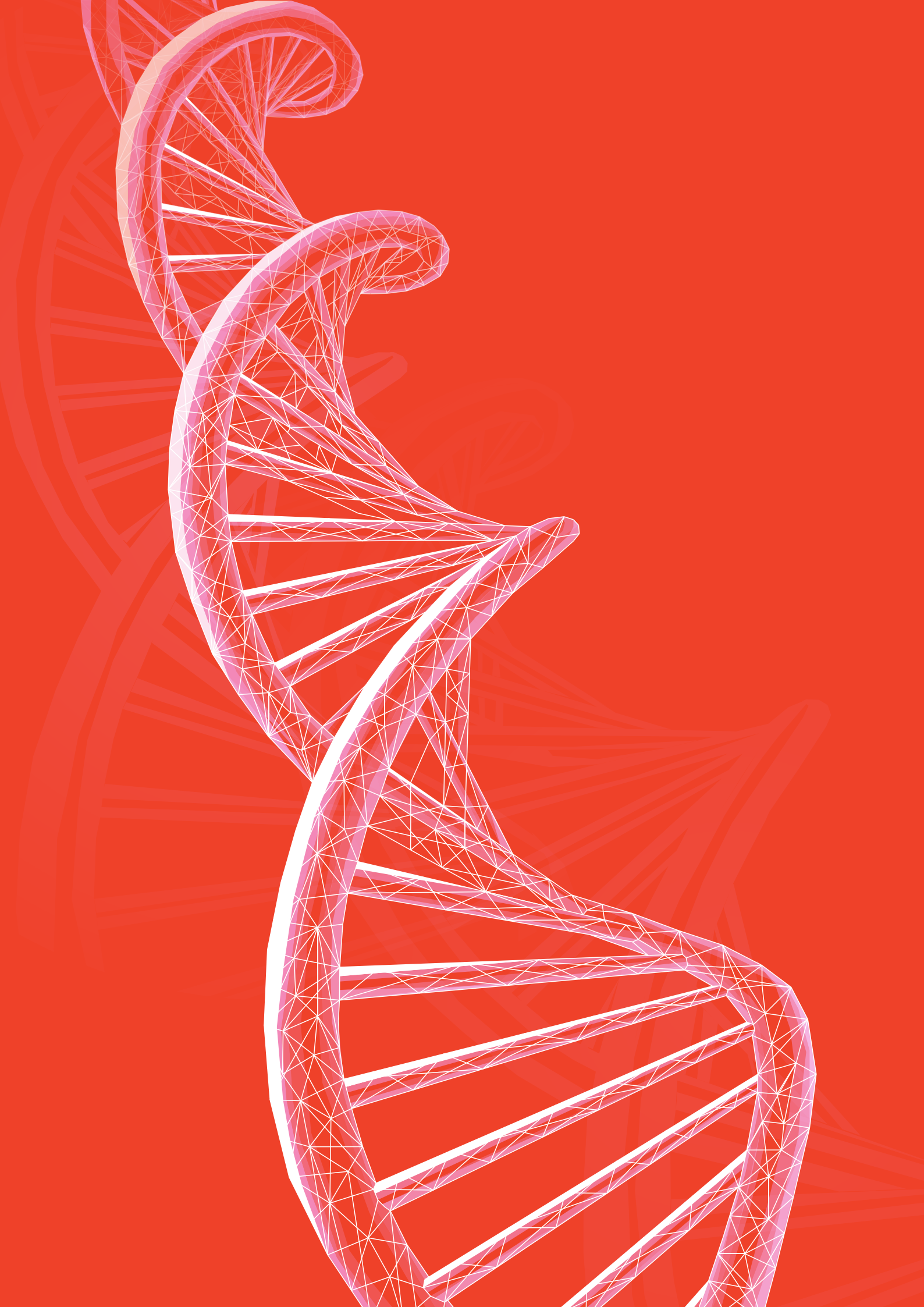
2. Ο διαχειριστικός σκοπός της επιφάνειας μπορεί να περιλαμβάνει την προστασία της βιοποικιλότητας, τη δασοπονία πολλαπλών σκοπών, ή άλλους τύπους διαχείρισης, οι οποίοι υποστηρίζουν τη διαίωνηση των πληθυσμών των επιλεγμένων δασοπονικών ειδών στο διηλεκές. Η απαγόρευση αποψιλωτικών υλοτομιών υπό τα τρέχοντα και μελλοντικά διαχειριστικά σχέδια αποτελεί θεμελιώδη προϋπόθεση για την αποφυγή παρεμβολής στο σήμα της περιβαλλοντικής μεταβολής που εντοπίζεται μέσω των μεταβολών των μικρο-εξελικτικών διαδικασιών.
3. Το ελάχιστο μέγεθος και σχήμα της επιφάνειας ΓΠΔ εξαρτάται από τη βιολογία του επιλεγμένου δασοπονικού είδους (βλέπε Κεφάλαιο 3: Ίδρυση και διαχείριση επιφάνειας). Ωστόσο εντός των ορίων της θα πρέπει να περιλαμβάνει ένα βιώσιμο πληθυσμό (δηλ. 50 αναπαραγωγικά δέντρα κατ' ελάχιστον, ή σε ειδικές περιπτώσεις όπως η παρακολούθηση της ανάκαμψης ενός πληθυσμού σε κίνδυνο, ένας μικρότερος αριθμός αναπαραγωγικών δέντρων μπορεί να είναι αποδεκτός).
4. Τουλάχιστον ένα δασοπονικό είδος εντός της επιφάνειας θα πρέπει να αναγνωρίζεται ως το στοχευμένο είδος για ΓΠΔ. Εάν ο στόχος της ΓΠΔ είναι η παρακολούθηση του διειδικού υβριδισμού, η περιοχή επιλογής για την ίδρυση επιφάνειας ΓΠΔ θα πρέπει να φέρει έναν επαρκή αριθμό πιθανών υβριδίων. Επιπλέον στην περίπτωση αυτή, προτείνεται η ίδρυση «αδερφών» επιφανειών για αμιγείς πληθυσμούς των δύο ειδών, εντός της ευρύτερης περιοχής γενετικής παρακολούθησης.
5. Η συστάδα θα πρέπει να πληροί τις θεμελιώδεις προϋποθέσεις για τη γενετική παρακολούθηση και να αντιπροσωπεύει την οικολογική προσαρμογή του πληθυσμού: ενήλικα δέντρα με καρποφορία, παρουσία και επιβίωση φυσικής αναγέννησης (σε περίπτωση που είναι αναμενόμενη βάσει της ηλικίας της συστάδας), εγγενής και /ή αγενής αναπαραγωγή.
6. Θα πρέπει να υπάρχει διαθεσιμότητα γενετικών δεδομένων για την επιφάνεια, ή για πληθυσμό πλησίον της επιφάνειας. Μία επιφάνεια μπορεί να γίνει αποδεκτή ή να απορριφθεί για γενετική παρακολούθηση βάσει της έκτασης της υφιστάμενης γενετικής ποικιλότητας.
7. Επιβάλλεται η απουσία έντονων κλίσεων ή άλλων τοπογραφικών χαρακτηριστικών, τα οποία ενδέχεται να επηρεάσουν τη ροή γονιδίων εντός της συστάδας. Αυτό το κριτήριο δεν χρήζει εφαρμογής σε πληθυσμούς δασοορίων ή σε άλλες ειδικές περιπτώσεις όπου οι έντονες κλιτύες είναι αναπόφευκτες.
8. Όλες οι νομικές, διοικητικές και δασοκομικές μεταβολές που σχετίζονται με την επιφάνεια, θα πρέπει να είναι καταγεγραμμένες.

Πρόσθετα στοιχεία και συστάσεις (δεν αποτελούν κριτήριο απόκλισης)

9. Θα πρέπει να δοθεί προτεραιότητα σε συστάδες με ήδη γνωστό ιστορικό και ακριβή καταγραφή δεδομένων (δηλ. προέλευση γενετικών πόρων, έτος τελευταίας υλοτομίας, χρονοσειρά αραιώσεων, κ.λπ.) και με υψηλή πυκνότητα δεδομένων, ιδίως σε χρονοσειρές. Παραδείγματα τέτοιων συστάδων αποτελούν οι μονάδες Προστασίας Γενετικών Πόρων (GCU), πειραματικές επιφάνειες, μόνιμες επιφάνειες καταγραφής αύξησης και παραγωγής, σποροπαραγωγές συστάδες, μόνιμες επιφάνειες της εθνικής απογραφής δασών, επιφάνειες ICP κ.λπ. Υποκείμενες πληροφορίες είναι επίσης σημαντικό να ληφθούν υπόψη κατά την επιλογή των επιφανειών παρακολούθησης για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της παρακολούθησης. Αυτές οι πληροφορίες περιλαμβάνουν:
 - Κλιματικά / περιβαλλοντικά δεδομένα
 - Εδαφικά δεδομένα
 - Δεδομένα βλάστησης
 - Ιστορικά δεδομένα για καρποφορία και παρουσία φυσικής αναγέννησης
10. Απόσταση του ιδρύματος που πραγματοποιεί την παρακολούθηση από την επιφάνεια. Όταν περισσότερες από μία επιφάνειες πληρούν όλες τις προϋποθέσεις, προτεραιότητα θα πρέπει να δοθεί στην εγγύτερη

επιφάνεια, καθώς το κόστος μετακινήσεων σε πιο απομακρυσμένες περιοχές δύναται να αυξήσει σημαντικά το συνολικό κόστος της γενετικής παρακολούθησης (βλ. Κεφάλαιο 7: Αξιολόγηση κόστους).

11. Εύκολη πρόσβαση στην επιφάνεια (δηλ. ύπαρξη δρόμων, μονοπατιών, απουσία εμποδίων κ.τ.λ.). Όποτε αυτό είναι εφικτό, προτείνεται η επιλογή επιφανειών ΓΠΔ με εύκολη πρόσβαση, καθώς αυτό μειώνει τον φόρτο εργασίας στο πεδίο και επομένως το συνολικό κόστος της ΓΠΔ.
12. Οι επιφάνειες ΓΠΔ μπορούν να προωθηθούν ως «επίκεντρα εστιασμένης επιστημονικής έρευνας» και να συμπεριληφθούν σε άλλα προγράμματα παρακολούθησης ή επιστημονικά ερευνητικά έργα, όπως: εθνική απογραφή δασών, δασικές επιφάνειες ICP, επιφάνειες παρακολούθησης εκπομπής, δέσμευσης αερίων του θερμοκηπίου, επιφάνειες μελέτης/ παρακολούθησης βιοποικιλότητας δασικών εδαφών κλπ. Αυτή η προσέγγιση ευνοεί τη μακροπρόθεσμη συνέχιση των εργασιών γενετικής παρακολούθησης, συνεισφέρει στην εξασφάλιση των απαιτούμενων πόρων σε βάθος χρόνου και αυξάνει το σύνολο των διαφορετικών τύπων δεδομένων που είναι διαθέσιμα στις επιφάνειες ΓΠΔ.



Κεφάλαιο 3

ΙΔΡΥΣΗ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΩΝ

Natalija DOVČ¹, Darius KAVALIAUSKAS², Rok DAMJANIĆ¹,
Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ³, Barbara FUSSI², Marko BAJC¹, Παρασκευή ΑΛΙΖΩΤΗ³,
Domen FINŽGAR^{1,11}, Ευαγγελία Β. ΑΒΡΑΜΙΔΟΥ^{3,7}, Dalibor BALLIANI^{1,5},
Ευάγγελος ΜΠΑΡΜΠΑΣ³, Παύλος ΜΠΕΚΙΑΡΟΓΛΟΥ⁶, Sándor BORDÁCS⁸, Gregor BOŽIČ¹,
Andrej BREZNIKAR⁴, Παυλος ΧΑΣΙΛΙΔΗΣ⁶, Άννα-Μαρία ΦΑΡΣΑΚΟΓΛΟΥ^{3,10},
Νικήτας ΦΡΑΓΚΙΣΚΑΚΗΣ⁶, Ιωάννης ΓΑΝΟΠΟΥΛΟΣ^{3,9}, Φώτιος ΚΙΟΥΡΤΣΗΣ⁶,
Monika KONNERT², Ερμιόνη ΜΑΛΛΙΑΡΟΥ³, Γεώργιος ΡΟΥΣΑΚΗΣ⁶, Χρυσή ΣΑΡΒΑΝΗ⁶,
Kristina SEVER⁴, Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ³, Marjana WESTERGRENN¹, Hojka KRAIGHER¹

Απόδοση στα ελληνικά:

Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ, Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ, Φανή ΛΥΡΟΥ

Βιβλιογραφική αναφορά: Donč κ. ά. (2020) Ίδρυση και συντήρηση επιφανειών. Στο: Bajc κ. ά. (Επιμ.) Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας: Silva Slovenica Publishing Centre, Λιουμπλιάνα, σσ. 23-35. <http://dx.doi.org/10.20315/SFS.167>

Εταίροι και συνεργαζόμενοι Φορείς:

1. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας (GIS), Σλοβενίας
2. Βαυαρικό Γραφείο Δασικής Γενετικής (AWG), Γερμανία
3. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), Ελλάδα
4. Δασική Υπηρεσία Σλοβενίας (SFS), Σλοβενία
5. Σχολή Δασολογίας, Πανεπιστήμιο Σαράγιεβο, Βοσνία και Ερζεγοβίνη
6. Αποκεντρωμένη Διοίκηση Μακεδονίας Θράκης, Γενική Διεύθυνση Δασών & Αγροτικών Υποθέσεων, Ελλάδα
7. Τρέχουσα διεύθυνση: Ινστιτούτο Μεσογειακών Δασικών Οικοσυστημάτων, ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ, Ελλάδα
8. Πανεπιστήμιο Szent István, Βουδαπέστη, Ουγγαρία
9. Τρέχουσα διεύθυνση: Ινστιτούτο Γενετικής Βελτίωσης και Φυτογενετικών Πόρων, ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ, Ελλάδα
10. Ευρωπαϊκό Δίκτυο Δασικών Γενετικών Πόρων (EUFORGEN), Ευρωπαϊκό Ινστιτούτο Δασικών Ερευνών (EFI), Ισπανία
11. Ινστιτούτο Εξελικτικής Βιολογίας, Πανεπιστήμιο του Εδιμβούργου, Ηνωμένο Βασίλειο

3.1 Εισαγωγή

Μία επιφάνεια γενετικής παρακολούθησης δασών (ΓΠΔ) είναι η βασική μονάδα όπου διεξάγεται η γενετική παρακολούθηση και η βάση για όλες τις ακόλουθες εργασίες. Ως εκ τούτου, είναι μεγάλης σημασίας η συμμόρφωση με τις κατευθυντήριες οδηγίες για την ίδρυση επιφάνειας και την τακτική συντήρησή της.

3.2 Ίδρυση επιφανειών

Μετά την επιλογή μίας τοποθεσίας για ΓΠΔ (δηλ. μίας δασικής συστάδας), θα πρέπει να επιλεγεί μια μικρότερη έκταση για την εγκατάσταση της επιφάνειας ΓΠΔ (Σχήμα 3.2.1). Για δασοπονικά είδη που σχηματίζουν συστάδες, η θέση της επιφάνειας ΓΠΔ επιλέγεται τυχαία, ενώ για είδη με διάσπαρτη χωρική κατανομή μία προκαταρκτική επιτόπια έρευνα στην επιλεγμένη τοποθεσία είναι αναγκαία.

Ιδανικά η επιλεγμένη συστάδα θα πρέπει να έχει χαρακτηριστικά τα οποία διευκολύνουν τη διενέργεια των εργασιών γενετικής παρακολούθησης, χωρίς όμως να υποβαθμίζεται η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων της ΓΠΔ. Περιοχές με περιορισμένο εύρος ορατότητας (π.χ. πυκνός υπόροφος, ή αναγέννηση σε σημαντικό ύψος), ή περιοχές οι οποίες προϋποθέτουν αντίξοες συνθήκες εργασίας (όπως μεγάλη απόσταση μετακίνησης ή βραχώδεις απότομο ανάγλυφο) θα πρέπει να αποφεύγονται κατά το δυνατό.

Αναγκαίος εξοπλισμός για την ίδρυση επιφανειών:

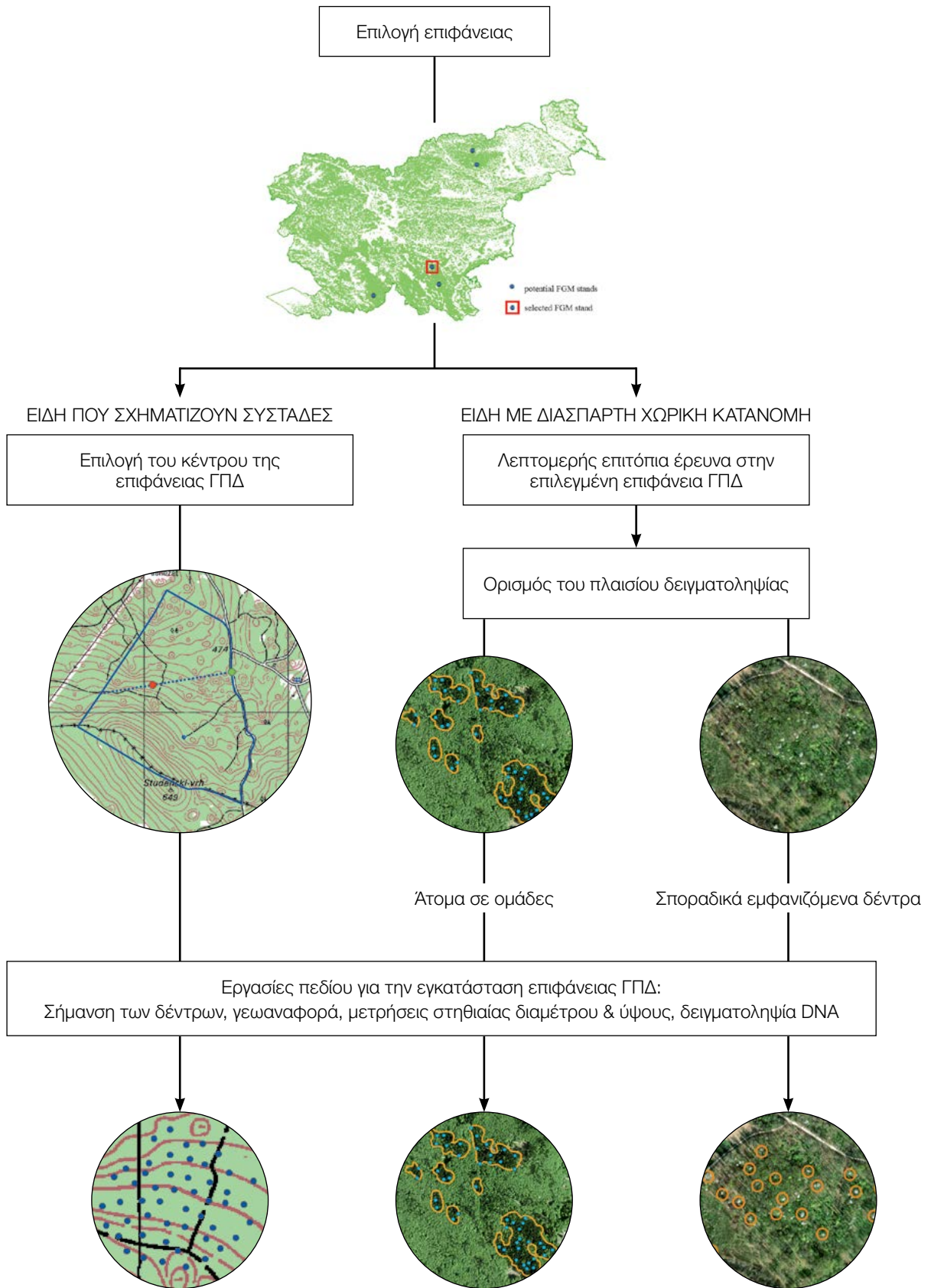
- συσκευή μέτρησης αποστάσεων (προτείνεται να χρησιμοποιούνται κιάλια με λειτουργία αποστασιόμετρου),
- πυξίδα,
- μπογιά και πινέλο ή σπρέι, για την επισήμανση των επιλεγμένων δέντρων,
- δέκτης GPS με επαρκή ακρίβεια για την καταγραφή γεωγραφικών συντεταγμένων των επιλεγμένων δέντρων.

Οι μετρήσεις στηθιαίας διαμέτρου και ύψους των δέντρων οι οποίες χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό των επιπλέον πληροφοριών «κατανομή κλάσεων στηθιαίας διαμέτρου» και «κατανομή κλάσεων ύψους» μπορούν επίσης να διεξαχθούν στο πλαίσιο της διαδικασίας ίδρυσης της επιφάνειας ΓΠΔ (βλέπε Κεφάλαια 4 και 5 για λεπτομέρειες). Σε αυτή την περίπτωση απαιτείται η χρήση του εξής επιπλέον εξοπλισμού:

- παχύμετρο ή μετροταινία,
- κλινόμετρο (κατά προτίμηση τεχνολογίας laser).

Μία επιφάνεια ΓΠΔ αποτελείται από 50 δέντρα που παρουσιάζουν καρποφορία με στηθιαία διάμετρο μεγαλύτερη ή ίση των 15 cm και ελάχιστη απόσταση μεταξύ τους 30 m. Εάν ένα δέντρο ανθοφορεί, θεωρείται ως δέντρο που παρουσιάζει καρποφορία. Ως εκ τούτου, ο καλύτερος χρόνος για την ίδρυση επιφάνειας ΓΠΔ και επιλογή δέντρων είναι η άνοιξη, όταν τα υποψήφια δέντρα φέρουν άνθη (π.χ. οι ανθισμένες αγριοκερασιές είναι ευδιάκριτες από μακριά). Σε περίπτωση που η επιφάνεια δεν είναι εφικτό να ιδρυθεί κατά την εποχή ανθοφορίας ή καρποφορίας, η μέση στηθιαία διάμετρος και η κοινωνική τάξη (ταξινόμηση κλάσης δέντρου), μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες για την επιλογή ενός δέντρου. Η στηθιαία διάμετρος που θα χρησιμοποιηθεί ως δείκτης για την επιλογή ενός δέντρου θα πρέπει να βασίζεται στις τοπικές συνθήκες και στην εμπειρία του τοπικού δασολόγου.

Για είδη τα οποία αναπαράγονται κλωνικά ή σχηματίζουν διειδικά υβρίδια μεταξύ αυτόχθονων και αλλόχθονων ειδών, τα επιλεγμένα δέντρα θα πρέπει πρώτα να γενοτυπούνται για να γενοτυπούνται για τον εντοπισμό της ύπαρξης κλωνικότητας ή υβριδισμού. Εάν ο αριθμός των μη συγγενικών δέντρων που καρποφορούν αποδειχθεί μικρότερος από 50 λόγω της παρουσίας κλώνων ή διειδικών υβριδίων, θα πρέπει να αναζητηθούν νέα δέντρα ακολουθώντας μία διαδοχική προσέγγιση: επιλογή 50 δέντρων, ακολουθούμενη από γενοτύπηση και στη συνέχεια επιλογή του αριθμού επιπλέον δέντρων λαμβάνοντας υπόψη το ποσοστό κλώνων ή υβριδίων. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται έως ότου επιτευχθεί συνολικός αριθμός 50 δέντρων.



Σχήμα 3.1: Διάγραμμα ροής των εργασιών εγκατάστασης επιφάνειας ΓΠΔ, διαχωρισμένο για είδη τα οποία σχηματίζουν συστάδες και είδη με διάσπαρτη χωρική κατανομή. Για είδη με διάσπαρτη χωρική κατανομή, ο σχεδιασμός της επιφάνειας θα πρέπει να προσαρμοστεί στη βιολογία και την χωρική κατανομή των ειδών. Παραδείγματα για τον φράξο, την άγρια κερασιά και τη λεύκη παρουσιάζονται στο Κεφάλαιο 9: Κατευθυντήριες Οδηγίες για τη γενετική παρακολούθηση.

Δεδομένου ότι τα διάφορα δασοπονικά είδη παρουσιάζουν διαφορετική χωρική κατανομή, οι οδηγίες για την ίδρυση επιφανειών ΓΠΔ, διαχωρίζονται για είδη που σχηματίζουν συστάδες και για είδη με διάσπαρτη χωρική κατανομή. Οι οδηγίες διακρίνονται περαιτέρω σε δύο τμήματα: (i) επιλογή του κέντρου της επιφάνειας για δασοπονικά είδη που σχηματίζουν συστάδες ή ορισμός του πλαισίου δειγματοληψίας για είδη με διάσπαρτη χωρική κατανομή και (ii) εργασίες ίδρυσης επιφάνειας ΓΠΔ στο πεδίο. Οι οδηγίες για δασοπονικά είδη με διάσπαρτη χωρική κατανομή καλύπτουν δύο διαφορετικές προσεγγίσεις ανάλογα με την πυκνότητα του πληθυσμού. Επιπλέον εκτός από τις οδηγίες για τους δύο τύπους ειδών, σε αυτό το κεφάλαιο περιγράφονται επίσης και οι οδηγίες για τη εγκατάσταση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης (ΦΑ).

3.2.1 Δασοπονικά είδη τα οποία σχηματίζουν συστάδες

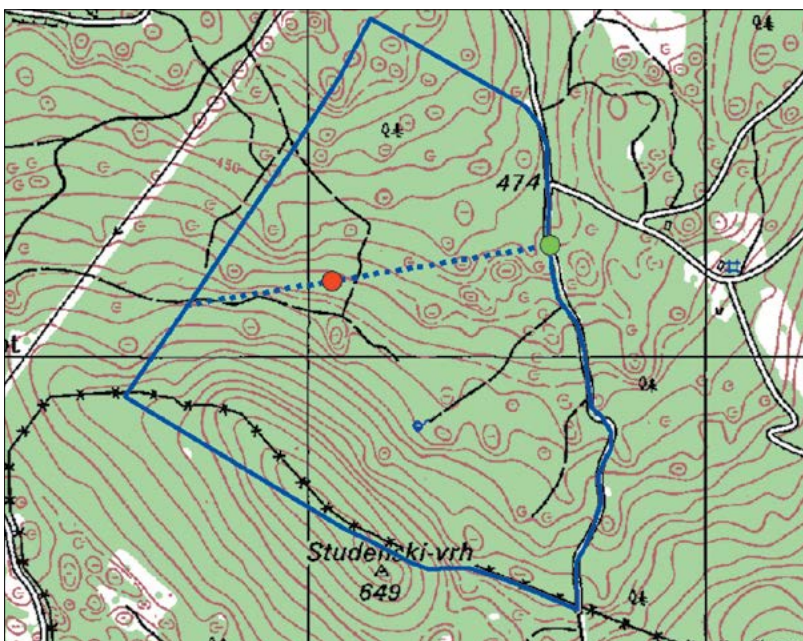
3.2.1.1 Επιλογή του κέντρου επιφάνειας ΓΠΔ

Έπειτα από την πρόκριση μίας δασικής συστάδας για την εφαρμογή ΓΠΔ, ένα τυχαίο σημείο της θα πρέπει να επιλεγεί ως κέντρο της επιφάνειας ΓΠΔ. Ο πειραματικός σχεδιασμός, θα πρέπει να βασίζεται στην τυχαία δειγματοληψία, καθώς είναι η μόνη στατιστικά ασφαλής επιλογή. Η διαδικασία απαιτεί τη χρήση ενός λογισμικού GIS (π.χ. ArcGis Map, Qgis).

Η γενική διαδικασία για την τυχαία επιλογή του κέντρου της επιφάνειας (Σχήμα 3.2), αποτελείται από τα ακόλουθα βήματα:

- Τυχαία επιλογή ενός σημείου (πράσινη κουκκίδα) κατά μήκος του δασικού δρόμου ή του μονοπατιού, που διασχίζει τη συστάδα.
- Σχεδιασμός μίας γραμμής, περίπου κάθετης στον δρόμο από τον οποίο επιλέχθηκε το τυχαίο σημείο.
- Τυχαία επιλογή ενός σημείου επάνω στη γραμμή (κόκκινη κουκκίδα) - αυτό το σημείο αντιπροσωπεύει το κέντρο της επιφάνειας ΓΠΔ.

Η ελάχιστη απόσταση μεταξύ ενός σημείου (κέντρο επιφάνειας) και του ορίου της συστάδας θα πρέπει να είναι περίπου 150 m. Εάν το επιλεγμένο κεντρικό σημείο δεν ικανοποιεί αυτή την προϋπόθεση, τότε ένα νέο σημείο θα πρέπει να βρεθεί ακολουθώντας το ίδιο πρωτόκολλο.



Σχήμα 3.2: Τυχαία επιλογή του κέντρου της επιφάνειας ΓΠΔ

Υπάρχει πιθανότητα το τυχαία επιλεγμένο σημείο, το οποίο αντιπροσωπεύει το κέντρο της επιφάνειας ΓΠΔ, να εντοπίζεται σε περιοχή, όπου θα ήταν δύσκολο να εφαρμοστεί η εγκατάσταση μίας επιφάνειας ΓΠΔ καθώς και η περαιτέρω παρακολούθηση (λόγω δυσμενούς ορατότητας). Ως εκ τούτου, συνιστάται να επιλεγούν ένα ή δύο εναλλακτικά σημεία με την ίδια διαδικασία, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε περίπτωση απόρριψης του αρχικά επιλεγμένου σημείου.

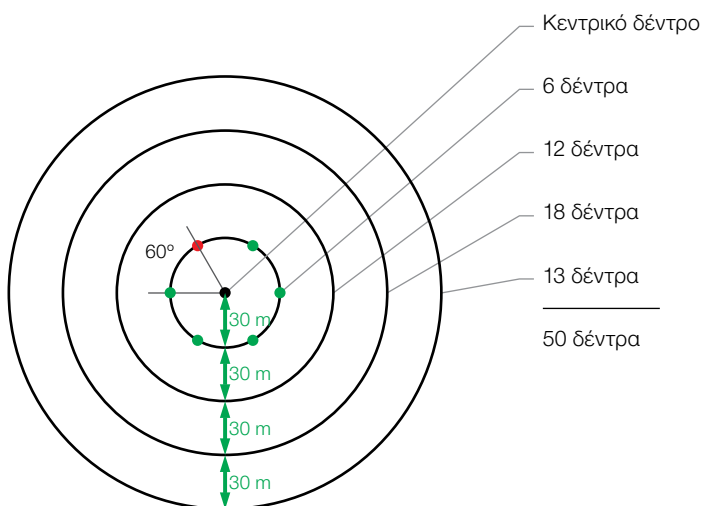
Εκτός από την προσέγγιση που περιγράφεται παραπάνω, μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν εργαλεία για τη δημιουργία τυχαίων σημείων σε λογισμικό GIS.

Οι συντεταγμένες των επιλεγμένων σημείων θα πρέπει να αποθηκευτούν στη συσκευή GPS που θα χρησιμοποιηθεί στο πεδίο.

3.2.1.2 Εγκατάσταση επιφάνειας στο πεδίο

Στο πεδίο, το πλησιέστερο ενήλικο δέντρο στην αποθηκευμένη συντεταγμένη GPS γίνεται το κέντρο της επιφάνειας παρακολούθησης και σημειώνεται με τον αριθμό 1. Τα επόμενα δέντρα επιλέγονται επάνω σε ομόκεντρους κύκλους, κέντρο των οποίων αποτελεί το πρώτο δέντρο, με ακτίνα αυξανόμενη κατά 30m (Σχήμα 3.3). Το πρώτο δέντρο του κάθε κύκλου πρέπει να επιλέγεται τυχαία (κόκκινη επισήμανση, Σχήμα 3.3), το οποίο μπορεί να γίνει με διάφορους τρόπους όπως: με έναν τυχαίο αζιμούθιο (Πίνακας 3.1) κατά την παρατήρηση από τη θέση του κεντρικού δέντρου, ακολουθώντας το λεπτοδείκτη του ρολογιού, ή οποιοδήποτε άλλο τρόπο που επιτρέπει την αντικειμενική επιλογή. Τα υπόλοιπα δέντρα του κάθε κύκλου επιλέγονται με αναλόγως μεταβαλλόμενο αζιμούθιο και αποστάσεις, ώστε να εξασφαλισθεί ότι η απόσταση ενός δέντρου από τα υπόλοιπα είναι η ελάχιστη δυνατή πάνω από το όριο των 30m.

- + 60 ° για τον πρώτο κύκλο (το πολύ 6 δέντρα)
- + 30 ° για τον δεύτερο κύκλο (το πολύ 12 δέντρα)
- + 20 ° για τον τρίτο κύκλο (το πολύ 18 δέντρα)
- + 15 ° για τον τέταρτο κύκλο (το πολύ 24 δέντρα)



Σχήμα 3.3: Γραφική αναπαράσταση επιφάνειας ΓΠΔ για δασοπονικά είδη που σχηματίζουν συστάδες. Τα δέντρα επιλέγονται σε ομόκεντρους κύκλους με κέντρο το αρχικά επιλεγμένο δέντρο και με αυξανόμενη ακτίνα 30 m. Σε κάθε κύκλο το πρώτο δέντρο (κόκκινη κουκίδα) επιλέγεται τυχαία.

Εάν δεν είναι δυνατόν να βρεθεί ο αναμενόμενος αριθμός δέντρων σε καθέναν από τους τρεις εσωτερικούς κύκλους, επιλέγονται επιπρόσθετα δέντρα στον πιο εξωτερικό κύκλο, ώστε ο συνολικός αριθμός τους να φτάσει τα 50 δέντρα.

Πίνακας 3.1: Τυχαία αζιμούθια (σε μοίρες), τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την επιλογή του πρώτου δέντρου σε κάθε κύκλο.

108	15	186	35	178	29	305	351	44	150
232	23	160	141	112	292	216	83	245	214
63	65	345	234	95	78	279	323	40	236
201	313	275	144	182	68	268	289	185	92
356	177	93	1	145	198	287	251	224	142

Κατά την επιλογή των υπολοίπων δέντρων σε κάθε κύκλο, το διευρυμένο αζιμούθιο θα πρέπει πρωτίστως να χρησιμεύει στην αναζήτηση μιας κατά προσέγγιση θέσης και στην εξασφάλιση του αριθμού των δέντρων σε έναν συγκεκριμένο κύκλο. Μερικές φορές η εύρεση ενός δέντρου με ακριβές αζιμούθιο έχει ως αποτέλεσμα σημαντικά μεγαλύτερη απόσταση από το κεντρικό δέντρο, γεγονός που οδηγεί σε ακόμη μεγαλύτερους ή ακανόνιστους κύκλους. Επίσης, υπάρχουν περιπτώσεις όπου το κεντρικό δέντρο δεν είναι ορατό για διάφορους λόγους όπως οι μεγάλες αποστάσεις, η παρουσία άλλων δέντρων και το ανάγλυφο. Σε τέτοιες περιπτώσεις, η επιλογή δέντρων βασίζεται αποκλειστικά σε μια ελάχιστη απόσταση από τρία ήδη επιλεγμένα δέντρα, εκ των οποίων ένα δέντρο από τον ίδιο κύκλο και δύο δέντρα από τον προηγούμενο (στην εσωτερική πλευρά) κύκλο. Η ελάχιστη απόσταση πρέπει να είναι μεγαλύτερη, αλλά όσο το δυνατόν εγγύτερη στα 30 μέτρα.

3.2.2 Δασοπονικά είδη με διάσπαρτη χωρική κατανομή

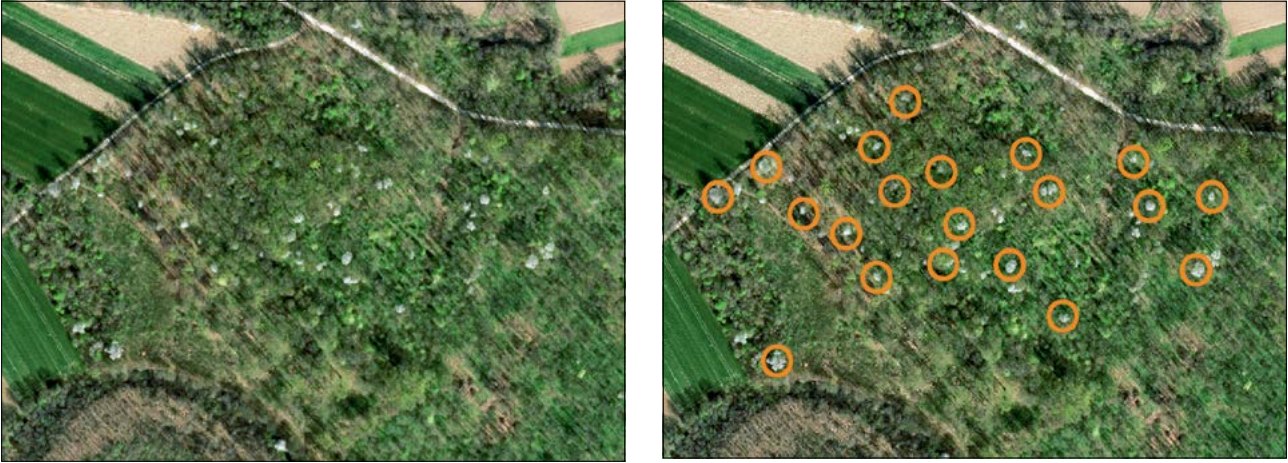
Λόγω των μεγάλων διαφορών στη χωρική κατανομή και την πυκνότητα μεταξύ των πληθυσμών των ειδών με διάσπαρτη χωρική κατανομή, δεν υπάρχει καθολική προσέγγιση για τη εγκατάσταση επιφάνειας ΓΠΔ. Δεδομένου ότι ορισμένα είδη εντοπίζονται ως μεμονωμένα άτομα στο δάσος, άλλα εμφανίζονται σε λόχμες διαφορετικών μεγεθών σε μικτές συστάδες ή σε συγκεκριμένα μοτίβα, η διαδικασία ίδρυσης επιφάνειας θα πρέπει να σχεδιαστεί κατά περίπτωση με τις προαναφερθείσες απαιτήσεις 50 μη συγγενικών δέντρων που καρποφορούν και βρίσκονται κατ' ελάχιστον σε απόσταση 30 μέτρων μεταξύ τους. Σε ειδικές περιπτώσεις εξαιρετικά χαμηλής πυκνότητας πληθυσμού (π.χ. απειλούμενοι ή οριακοί πληθυσμοί), ο αριθμός των δέντρων μπορεί να μειωθεί σε 30.

Έπειτα από την επιλογή μίας περιοχής για την εφαρμογή ΓΠΔ (Κεφάλαιο 2), οι τοποθεσίες όπου το στοχευμένο είδος εμφανίζεται σε επαρκή πυκνότητα για να εγκατασταθεί μια επιφάνεια παρακολούθησης, θα πρέπει να εξετάζονται ενδελεχώς με επιτόπια έρευνα. Συνιστάται η καταγραφή μιας διαδρομής, ή η αποθήκευση των συντεταγμένων όλων των κατάλληλων δέντρων και κέντρων ΦΑ, χρησιμοποιώντας μια εφαρμογή για κινητά τηλέφωνα (π.χ. Locus map) ή μια συσκευή GPS. Αυτή η προκαταρκτική έρευνα διευκολύνει σημαντικά τον περαιτέρω σχεδιασμό, καθώς επιτρέπει την προβολή της χωρικής κατανομής των δέντρων σε ένα λογισμικό GIS, όπως και την επιλογή των παρακολουθούμενων δέντρων με χρήση του λογισμικού. Εάν ο πληθυσμός του στοχευμένου είδους είναι σαφώς ορατός και διακριτός από τα άλλα είδη σε έναν ορθοφωτοχάρτη της περιοχής, τότε είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί ο έλεγχος αυτών των ορθοφωτοχάρτων αντί της επιπρόσθετης έρευνας στο πεδίο (Σχήμα 3.4).

Στην περίπτωση της ηλεκτρονικής αποθήκευσης των τοποθεσιών δέντρων κατά τη διάρκεια προκαταρκτικής επιτόπιας έρευνας, η διαδικασία σχεδιασμού της επιφάνειας είναι η εξής:

- οι αποθηκευμένες τοποθεσίες όλων των δέντρων απεικονίζονται ως επίπεδο σημειακών χαρακτηριστικών (point feature layer) σε λογισμικό GIS,
- επιλέγονται τυχαία 50 (κατ' ελάχιστον 30 σε ειδικές περιπτώσεις) σημεία, τα οποία αντιπροσωπεύουν δέντρα με ελάχιστη απόσταση 30 m μεταξύ τους,
- κατά την εγκατάσταση της επιφάνειας, τα προεπιλεγμένα δέντρα εντοπίζονται στο πεδίο και επισημαίνονται.

Παρακάτω περιγράφονται οι διαδικασίες ίδρυσης επιφανειών χωρίς τη γνώση της ακριβούς τοποθεσίας των δέντρων. Το πρώτο πρωτόκολλο αφορά δασοπονικά είδη, των οποίων οι πληθυσμοί εμφανίζονται σε λόχμες ή ομάδες δέντρων, ενώ το δεύτερο έχει σχεδιαστεί για εφαρμογή σε πληθυσμούς δασικών ειδών με χαμηλή πυκνότητα, όπου δέντρα εμφανίζονται σποραδικά σε μία ευρύτερη περιοχή.



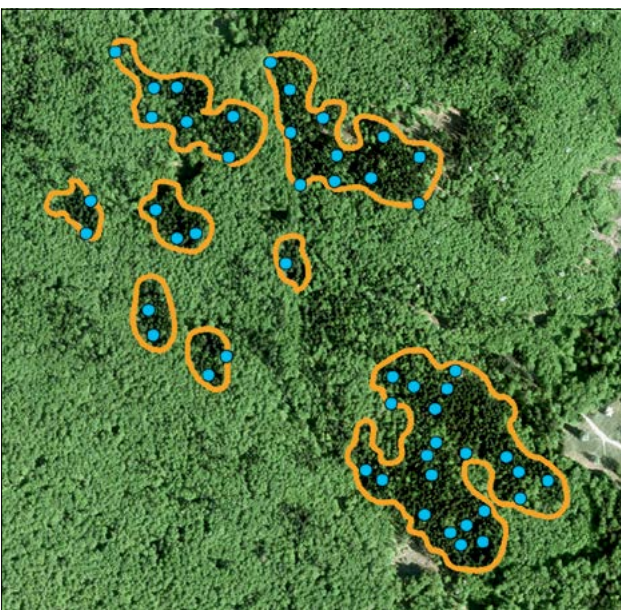
Σχήμα 3.4: Οπτικός έλεγχος ορθοφωτοχάρτη μιας περιοχής (αριστερά) και επιλογή δέντρων (δεξιά).

3.2.2.1 Άτομα σε ομάδες

Πολλαπλές επιφάνειες, οι οποίες μαζί θα συγκροτήσουν μία επιφάνεια ΓΠΔ, θα πρέπει να εγκατασταθούν στο πεδίο, μία επιφάνεια για κάθε ομάδα, με αριθμό δέντρων ανάλογο του μεγέθους κάθε ομάδας έως ότου συμπληρωθεί ένα σύνολο 50 δέντρων. Όλες οι επιλεγμένες ομάδες θα πρέπει να εντοπίζονται εντός της ίδιας συστάδας, ώστε η επιφάνεια ΓΠΔ να παρουσιάζει έναν ενιαίο οικολογικό χαρακτήρα (παρόμοιες περιβαλλοντικές συνθήκες και σύνθεση ειδών).

A. Ορισμός του πλαισίου δειγματοληψίας

Οι θέσεις των ομάδων δέντρων θα πρέπει να απεικονίζονται στον χάρτη με τη μορφή πολυγώνων, τα οποία όλα μαζί αντιπροσωπεύουν το πλαίσιο δειγματοληψίας. Η επιλογή των δέντρων εντός κάθε ομάδας θα πρέπει να πραγματοποιείται τυχαία. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί μέσω της χρήσης λογισμικού GIS, θέτοντας ως περιορισμό ότι η ελάχιστη απόσταση μεταξύ των επιλεγμένων σημείων θα πρέπει να είναι μεγαλύτερη των 35m εντός κάθε πολυγώνου (Σχήμα 3.5). Το σκεπτικό της αύξησης της ελάχιστης απόστασης μεταξύ επιλεγμένων σημείων είναι



Σχήμα 3.5: Πολύγωνα ομάδων δέντρων με τυχαία επιλεγμένα σημεία, τα οποία αντιπροσωπεύουν τις κατά προσέγγιση θέσεις επιλεγμένων δέντρων

η αποφυγή συγγενικών ατόμων και επιλογής γειτονικών δέντρων λόγω μειωμένης ακρίβειας των συντεταγμένων εντός του δάσους. Έπειτα οι συντεταγμένες των τυχαία επιλεγμένων σημείων θα πρέπει να αποθηκεύονται στη συσκευή GPS η οποία θα χρησιμοποιηθεί στο πεδίο.

B. Εγκατάσταση επιφάνειας ΓΠΔ στο πεδίο

Μετά από τον καθορισμό των κατά προσέγγιση συντεταγμένων των επιλεγμένων δέντρων, ακολουθεί η εγκατάσταση της επιφάνειας ΓΠΔ στο πεδίο με τα εξής βήματα:

- εντοπισμός αποθηκευμένων συντεταγμένων εντός της συστάδας,
- επιλογή και επισήμανση του δέντρου (σε καρποφορία) το οποίο βρίσκεται πλησιέστερα στην αποθηκευμένη συντεταγμένη.

Εάν η πυκνότητα του πληθυσμού δεν επαρκεί για την διεξαγωγή του παραπάνω πρωτοκόλλου, προτείνεται η εφαρμογή της προσέγγισης «αναζήτηση και εύρεση» (βλ. 3.2.2.2) εντός όλων των ομάδων.

3.2.2.2 Σποραδικώς εμφανιζόμενα δέντρα (προσέγγιση «αναζήτηση και εύρεση»)

Στην περίπτωση πληθυσμών οι οποίοι σχηματίζουν μικρές ομάδες λίγων ή μεμονωμένων δέντρων, η διενέργεια τυχαίας δειγματοληψίας με τις απαιτήσεις ενός ελάχιστου αριθμού δέντρων σε καρποφορία και μιας ελάχιστης απόστασης 30 m μεταξύ τους, ενδέχεται να καταστεί πολύ δύσκολη. Η συνολική περιοχή επιλογής αναμένεται να αυξηθεί σημαντικά και η διαχείριση της να παρουσιάζει δυσχέρειες. Επιπλέον, η διεξαγωγή επιτόπιας έρευνας για τον εντοπισμό και τη γεωαναφορά δέντρων, πιθανότατα θα είναι χρονοβόρα και κοπιαστική, ιδίως σε περιοχές με έντονο ανάγλυφο. Ως εκ τούτου, προτείνεται η συνεργασία με τοπικούς δασολόγους οι οποίοι έχουν καλή γνώση της περιοχής και μπορούν να κατευθύνουν την έρευνα προς περιοχές όπου είναι πιθανότερο να εντοπιστούν άτομα του στοχευμένου είδους.

A. Ορισμός του πλαισίου δειγματοληψίας

Συνιστάται ο σχεδιασμός ενός χάρτη της συστάδας με σημειωμένες τις θέσεις στις οποίες το στοχευμένο είδος εντοπίζεται σε υψηλότερη πυκνότητα, αξιοποιώντας τη βοήθεια τοπικών δασολόγων. Στη συνέχεια θα πρέπει να επιλεγούν ένα ή περισσότερα σημεία κατά μήκος του εγγύτερου δρόμου ή μονοπατιού, ως σημεία εκκίνησης της έρευνας. Οι συντεταγμένες αυτών των σημείων θα πρέπει να αποθηκευτούν στη συσκευή GPS η οποία θα χρησιμοποιηθεί στο πεδίο.

B. Εγκατάσταση επιφάνειας ΓΠΔ στο πεδίο

Οι εργασίες αναζήτησης ατόμων του στοχευμένου είδους θα πρέπει να ξεκινήσουν από ένα από τα υποδεικνυμένα σημεία επί του δασικού δρόμου προς την περιοχή όπου το είδος απαντάται με υψηλότερη πυκνότητα. Η εύρεση δέντρων αναμένεται να διευκολυνθεί από την παρουσία τοπικού δασολόγου. Προτείνεται η σάρωση της περιοχής με συστηματικό τρόπο χρησιμοποιώντας συσκευή GPS ή σχετική εφαρμογή έξυπνου τηλεφώνου για την καταγραφή των μετακινήσεων εντός της συστάδας, ώστε να εξασφαλισθεί ότι η αναζήτηση δε θα διεξαχθεί πολλαπλές φορές στα ίδια σημεία, καθώς και ότι δε θα υπάρξει παράβλεψη τοποθεσιών. Όλα τα δέντρα τα οποία καρποφορούν και πληρούν την προϋπόθεση της ελάχιστης απόστασης μεταξύ τους, θα πρέπει να επιλεγούν. Εάν καταστεί αδύνατη η εύρεση 50 δέντρων σε καρποφορία, τότε όλα τα διαθέσιμα ώριμα δέντρα με απόσταση 30m μεταξύ τους θα πρέπει να επιλεγούν, εφόσον ο συνολικός αριθμός τους είναι τουλάχιστον 30 (απειλούμενοι ή οριακοί πληθυσμοί).

3.2.3 Επιφάνειες Φυσικής Αναγέννησης (ΦΑ)

Εντός μίας εγκατεστημένης επιφάνειας ΓΠΔ θα πρέπει να οριστεί ένας αριθμός υποεπιφανειών ΦΑ, κατά προτίμηση 20. Ο σχεδιασμός αυτών των επιφανειών έχει δύο σκοπούς: δειγματοληψία DNA και εκτίμηση της σχέσης αφθονίας/ θνησιμότητας ΦΑ. Η εγκατάσταση υποεπιφανειών ΦΑ θα πρέπει να πραγματοποιείται μετά την εμφάνιση ΦΑ ως αποτέλεσμα άφθονης καρποφορίας ή πληροκαρπίας, στις περιπτώσεις όπου εμφανίζεται καρποφορία κάθε 3 - 12 έτη (Πίνακας 3.2). Εάν η πληροκαρπία παρατηρείται κάθε ένα ή δύο έτη, οι υποεπιφάνειες ΦΑ θα πρέπει να καθορίζονται έπειτα από το έτος πληροκαρπίας και να μεσολαβούν περίπου πέντε έτη μεταξύ δύο διαδοχικών επαναλήψεων εγκατάστασης υποεπιφανειών ΦΑ για την καταγραφή της αφθονίας ΦΑ. Το φαινόμενο του λήθαργου θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά το σχεδιασμό της εγκατάστασης υποεπιφανειών. Για παράδειγμα τα σπέρματα του φράξου (*Fraxinus excelsior*) παραμένουν σε λήθαργο για δυο χειμώνες το οποίο σημαίνει ότι η βλάστηση της ΦΑ και η εγκατάσταση υποεπιφανειών ΦΑ αναμένεται να λάβουν χώρα δυο έτη μετά την καρποφορία.

Πίνακας 3.2: Χρονοδιάγραμμα εγκαθίδρυσης υποεπιφανειών ΦΑ. Εγκαθίστανται 20 νέες υποεπιφάνειες ΦΑ μετά από κάθε αξιολογούμενο έτος πληροκαρπίας. Κατά προτίμηση, επιλέγονται έτη πληροκαρπίας ή έντονης καρποφορίας ανά δεκαετία.

Έτος παρακολούθησης	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Συμβάν καρποφορίας		•					•							•					•				
Εγκατάσταση υποεπιφανειών ΦΑ			•					•							•						•		

3.2.3.1 Ορισμός του πλαισίου δειγματοληψίας

Τα κέντρα ΦΑ τα οποία προέκυψαν από την καρποφορία κατά το προηγούμενο ημερολογιακό έτος (λαμβάνοντας υπόψη την παρουσία του φαινομένου του λήθαργου), πρέπει να επιθεωρούνται στο πεδίο και να καταγράφονται οι τοποθεσίες τους (συντεταγμένες GPS, αριθμός υπό παρακολούθηση δέντρου που βρίσκεται δίπλα σε κάθε κέντρο ΦΑ). Από το σύνολο των κέντρων αναγέννησης, 20 θα πρέπει να επιλέγονται τυχαία για την εγκατάσταση υποεπιφανειών ΦΑ. Εάν εντοπίζονται 20 ή λιγότερα κέντρα ΦΑ, το σύνολο αυτών θα πρέπει να επιλεγεί. Συνιστάται η καταγραφή πρόσθετων πληροφοριών σχετικά με την τοποθεσία των επιφανειών ΦΑ, όπως η απόσταση (αριθμός βημάτων) και το αζιμούθιο από το πλησιέστερο ενήλικο δέντρο με ετικέτα, ώστε να διευκολύνεται η εύρεση των υποεπιφανειών στο μέλλον.

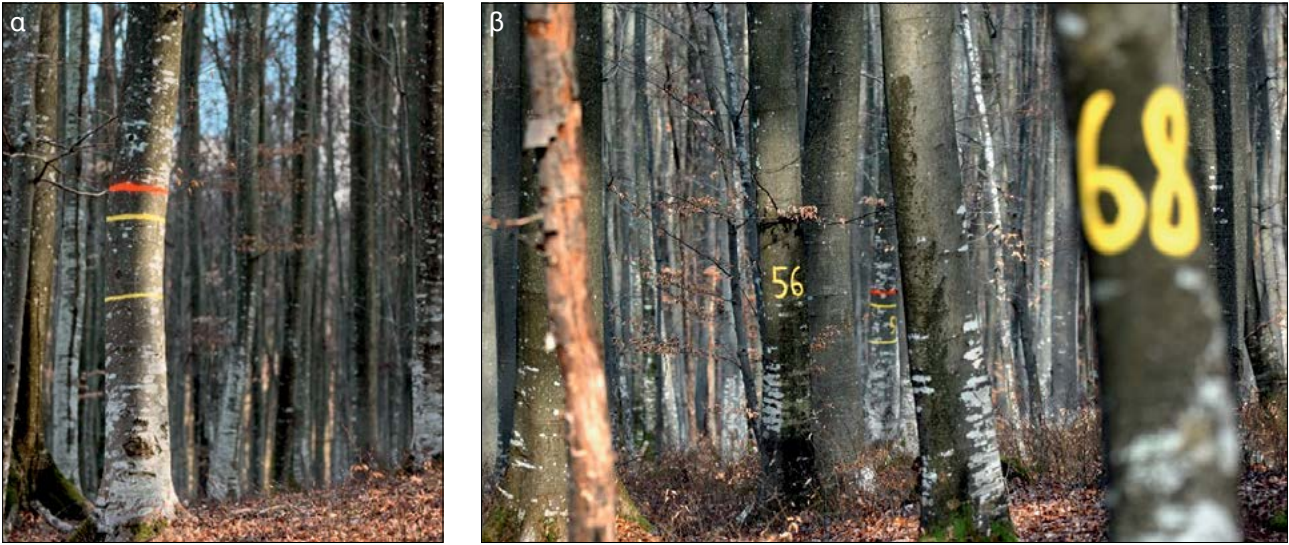
3.2.3.2 Εγκατάσταση επιφανειών στο πεδίο

Εντός κάθε επιλεγμένου κέντρου ΦΑ θα πρέπει να ορίζεται μία επιφάνεια 1 m², οι γωνίες της οποίας επισημαίνονται με μεταλλικές ράβδους. Οι μεταλλικές ράβδοι θα πρέπει να τοποθετούνται βαθιά στο έδαφος για την αποφυγή απομάκρυνσης τους από άγρια ζώα. Προτείνεται τα άκρα των ράβδων να βάφονται ώστε να διευκολύνεται η ορατότητά τους.

3.3 Σήμανση, γεωαναφορά, μετρήσεις πεδίου και παρατηρήσεις

3.3.1 Επισήμανση δέντρων

Κάθε επιλεγμένο δέντρο θα πρέπει να φέρει τον αντίστοιχο αριθμό καθώς και μια ζώνη σχεδιασμένη γύρω από τον κορμό ώστε η θέση του να είναι εύκολα ορατή από όλες τις κατευθύνσεις. Επιπλέον είναι χρήσιμο το κεντρικό δέντρο (αριθμός 1) να επισημαίνεται με δύο ή περισσότερες ζώνες ώστε να διαφοροποιείται από τα υπόλοιπα (Εικόνα 3.3.1.α). Συνιστάται να αποτυπώνεται ο αριθμός στην πλευρά του δέντρου με προσανατολισμό μακριά από το κεντρικό δέντρο, καθώς αυτό βοηθά στον εντοπισμό του κεντρικού δέντρου, ιδιαίτερα από τους εξωτερικούς δακτυλίους της επιφάνειας (Εικόνα 3.3.1.β). Σε ορισμένες περιπτώσεις, είναι προτιμητέα η επισήμανση των δέντρων από την αντίθετη πλευρά δρόμων ή μονοπατιών ώστε να αποφευχθεί η δημιουργία σύγχυσης σε ανθρώπους που βρίσκονται στο δάσος για λόγους ασφαλείας.



Σχήμα 3.3.1.1: α) Το κεντρικό δέντρο στην επιφάνεια γενετικής παρακολούθησης επισημαίνεται με πολλαπλές ζώνες για να διακρίνεται από τα υπόλοιπα επιλεγμένα δέντρα. β) Οι αριθμοί είναι αποτυπωμένοι πάνω στα επιλεγμένα δέντρα με προσανατολισμό μακριά από τον κεντρικό δέντρο.

3.3.2 Γεωαναφορά

Τα επιλεγμένα δέντρα εντός της επιφάνειας ΓΠΔ θα πρέπει να είναι γεωαναφερθούν, διαδικασία που μπορεί να πραγματοποιηθεί ταυτόχρονα με την εγκαθίδρυση της επιφάνειας. Παρακάτω περιγράφονται δύο προσεγγίσεις γεωαναφοράς.

Η πιο απλή μέθοδος γεωαναφοράς των επιλεγμένων δέντρων, είναι η καταγραφή των συντεταγμένων των θέσεων τους μέσω ενός δέκτη GPS. Ωστόσο αυτή η μέθοδος δεν είναι κατάλληλη σε περιπτώσεις όπου οι δέκτες GPS παρουσιάζουν χαμηλή αξιοπιστία και/ή ακρίβεια. Συνήθως η ακρίβεια του στίγματος δεκτών GPS οι οποίοι δε βασίζονται στην τεχνολογία διαφορικού GPS και οι οποίοι χρησιμοποιούνται κατά κόρον από δασολόγους στο πεδίο ενδέχεται να φέρει σφάλμα 15 μέτρων και άνω, εντός ώριμων συστάδων (Simwanda *et al.*, 2011). Αντιθέτως, οι συσκευές διαφορικής τεχνολογίας GPS προσφέρουν σημαντικά υψηλότερη ακρίβεια και αξιοπιστία (Zhang *et al.*, 2014).

Μία άλλη μέθοδος γεωαναφοράς των επιλεγμένων δέντρων είναι η καταγραφή της απόστασης και του αζιμούθιου από ένα σημείο αναφοράς. Το εργαλείο γεωαναφοράς <http://georeferencing.org/georefcalculator/gci3/source/gci3.html> μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό των τοποθεσιών των δέντρων, θέτοντας την παράμετρο «Locality type» ως «Distance at a heading». Επιπλέον οι συντεταγμένες εντός του εργαλείου είναι δυνατό να μετασχηματιστούν σε διάφορα πρότυπα συστήματα αναφοράς. Μειονέκτημα του συγκεκριμένου λογισμικού είναι ότι τα δεδομένα εισαγωγής, δηλαδή το σημείο αναφοράς, η απόσταση και το αζιμούθιο, θα πρέπει να καταχωρηθούν ξεχωριστά για κάθε δέντρο.

Μία πιο πρακτική και ταχεία εναλλακτική του παραπάνω εργαλείου γεωαναφοράς, είναι η χρήση του λογισμικού γραμμής εντολών το οποίο αναπτύχθηκε στο πλαίσιο του LIFE GENMON και του LIFE SySTEMiC (<https://github.com/roks531/Tree-georeferencing>). Το συγκεκριμένο λογισμικό υπολογίζει τις συντεταγμένες μεμονωμένων δέντρων έπειτα από την εισαγωγή δεδομένων σε μορφή πίνακα (αρχείο .txt ή .csv). Τα δεδομένα εισαγωγής μπορούν να είναι καταχωρημένα με τη μορφή κάποιου προβολικού συστήματος αναφοράς, όπως UTM. Στην περίπτωση όπου οι συντεταγμένες του αρχικού σημείου αναφοράς είναι εκχωρημένες στη μορφή γεωγραφικού πλάτους και γεωγραφικού μήκους (WGS84), θα πρέπει να μετασχηματιστούν σε ένα μετρικό προβολικό σύστημα συντεταγμένων. Απαιτείται η εισαγωγή δύο πινάκων: ο πρώτος περιέχει δεδομένα ταυτοποίησης κάθε δέντρου, την μετρημένη απόσταση (σε μέτρα) από το σημείο αναφοράς, το αζιμούθιο (μοίρες από το βορρά) και

το αναγνωριστικό του σημείου αναφοράς που χρησιμοποιήθηκε για τη γεωαναφορά του δέντρου. Ο δεύτερος πίνακας περιέχει τα στοιχεία ταυτοποίησης των αρχικών σημείων αναφοράς (τουλάχιστον ένα, υπάρχει δυνατότητα εκχώρησης πολλαπλών σημείων) και τις συντεταγμένες x και y . Είναι σημαντικό η ονοματοδότηση των σημείων αναφοράς να είναι η ίδια και στους δύο πίνακες.

Συνιστάται η επιλογή όσο το δυνατόν λιγότερων σημείων αναφοράς με όσο το δυνατόν ακριβέστερα μετρημένη θέση. Εάν κάθε δέντρο χρησιμοποιείται ως σημείο αναφοράς για τη γεωαναφορά του ακόλουθου δέντρου (π.χ. το δέντρο με αριθμό 1 είναι το σημείο αναφοράς για τη γεωαναφορά του δέντρου με αριθμό 2, το δέντρο με αριθμό 2 είναι το σημείο αναφοράς για τη γεωαναφορά του δέντρου με αριθμό 3, κ.λπ.), αναμένεται να συσσωρευτούν σφάλματα παρατηρητή με την ακρίβεια των θέσεων των δέντρων να μειώνεται καθώς αυξάνεται ο αριθμός των διαδοχικά γεωαναφερόμενων δέντρων. (Abdi *et al.*, 2012).

3.4 Περιγραφή επιφάνειας

Μετά την εγκαθίδρυσή της, η επιφάνεια ΓΠΔ θα πρέπει να περιγραφεί με λεπτομέρεια στο «Έντυπο Υπόδειγμα Περιγραφής Επιφάνειας ΓΠΔ», το οποίο αποτελεί μέρος του οδηγού εφαρμογής. Όλα τα συγκεντρωμένα δεδομένα θα πρέπει να καταχωρούνται στη βάση δεδομένων (βλέπε Κεφάλαιο 6.5.2.1). Το υπόδειγμα αποτελείται από δύο τμήματα: (i) δεδομένα περιγραφής επιφάνειας και (ii) ποιότητα τόπου και περιγραφή συστάδας.

Τα δεδομένα περιγραφής επιφάνειας περιλαμβάνουν ενότητες οι οποίες αφορούν την ακριβή θέση, το ιδιοκτησιακό καθεστώς, τη απαντώμενη σύνθεση των ειδών, τα χαρακτηριστικά της περιοχής, το έδαφος και το κλίμα. Οι δασοκομικοί χειρισμοί, οι διαχειριστικοί σκοποί, καθώς και το καθεστώς προστασίας περιλαμβάνονται επίσης εντός αυτού του τμήματος.

Το τμήμα για την ποιότητα τόπου και την περιγραφή της συστάδας έχει συνταχθεί με τέτοιο τρόπο ώστε μία από τις πιθανές απαντήσεις να επιλέγεται για κάθε παράμετρο περιγραφής. Μεταξύ άλλων, σε αυτό το τμήμα θα πρέπει να περιγράφονται οι πληροφορίες για τα ακόλουθα: κατάσταση υγείας του δάσους, υφιστάμενη ή μη δασική διαχείριση, προέλευση γενετικού υλικού τυχόν αναδάσωσης, φυσική αναγέννηση, οριζόντια και κάθετη δομή της συστάδας, κλίση, ποιότητα κορμών.

Το υπόδειγμα είναι διαθέσιμο στο Παράρτημα 10.2: Έντυπο Υπόδειγμα Περιγραφής Επιφάνειας ΓΠΔ.

3.5 Συντήρηση επιφάνειας

3.5.1 Γενική συντήρηση

Η σήμανση δέντρων και υποεπιφανειών ΦΑ θα πρέπει να ελέγχονται περιοδικά (κάθε 2 έτη) και να ανανεώνονται, εάν χρειάζεται. Οι μεταλλικές ράβδοι, οι οποίες χρησιμοποιούνται για τη σήμανση των υποεπιφανειών ΦΑ, θα πρέπει να αφαιρούνται μετά το πέρας των διαδικασιών παρακολούθησης της αφθονίας της ΦΑ.

3.5.2 Αντικατάσταση δέντρων

Εάν ένα υπό παρακολούθηση δέντρο νεκρωθεί ή υλοτομηθεί στο πλαίσιο της διαχείρισης της συστάδας, θα πρέπει να αντικατασταθεί. Το πλησιέστερο κατάλληλο δέντρο θα πρέπει να επιλεγεί, με την προϋπόθεση ότι πληροί την απαίτηση απόστασης 30 m από τα υπόλοιπα υπό παρακολούθηση δέντρα. Διαφορετικά, προτείνεται η επιλογή ενός δέντρου από την περιφέρεια (κατά προτίμηση από τον εξωτερικό κύκλο στην περίπτωση δασικών ειδών που σχηματίζουν συστάδες) της επιφάνειας ΓΠΔ.

Εάν παρουσιαστούν τραυματισμοί στην κόμη των υπό παρακολούθηση δέντρων, όπως θραύσεις κλάδων λόγω ανέμων, χιονιού, ή παγετών, αλλά τα δέντρα είναι ικανά να καρποφορήσουν, τότε η παρακολούθηση μπορεί να συνεχιστεί με τα υφιστάμενα άτομα. Ωστόσο σε περιπτώσεις εκτεταμένων τραυματισμών, τα δέντρα τα οποία δεν αναμένεται να καρποφορήσουν, θα πρέπει να αντικαθίστανται.

Στις περιπτώσεις δασοπονικών ειδών για τα οποία περισσότερα από 50 άτομα είχαν επιλεγθεί στο αρχικό στάδιο εγκατάστασης της επιφάνειας ΓΠΔ με σκοπό τον εντοπισμό κλώνων ή διειδικών υβριδίων (μέσω γενετικής ανάλυσης), τυχόν πλεονάζοντα άτομα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αντικατάσταση απολεσθέντων δέντρων. Ειδικά για την περίπτωση ύπαρξης κλώνων εντός του αρχικού συνόλου δέντρων τα οποία γενοτυπήθηκαν, η αντικατάσταση ενός δέντρου μπορεί πραγματοποιηθεί μέσω της επιστράτευσης ενός άλλου ατόμου με τον ίδιο γενότυπο (κλώνος).

Η αιτία της απώλειας ενός δέντρου στην επιφάνεια ΓΠΔ πρέπει να προσδιορίζεται και να καταγράφεται στα αντίστοιχα έγγραφα και στη βάση δεδομένων.

Τα δέντρα αντικατάστασης θα πρέπει να επισημαίνονται με τον ίδιο τρόπο όπως τα αρχικά δέντρα, αλλά με διαδοχικούς αριθμούς (δηλ. 51, 52, ...) για τη διαφοροποίησή τους από τα αρχικά δέντρα (αριθμημένα από 1 έως 50).

3.5.3 Μακροχρόνια συντήρηση επιφάνειας

Κενά στη δασική κάλυψη αναμένεται να δημιουργηθούν ακόμη και σε συστάδες οι οποίες διαχειρίζονται σύμφωνα με τις αρχές της αειφορικής διαχείρισης. Στην περίπτωση υλοτόμησης μεγάλου αριθμού δέντρων σε αναπαραγωγική ηλικία από την επιφάνεια ΓΠΔ, στο πλαίσιο της διαχείρισης (π.χ. υποκηπευτικές υλοτομίες), οι εργασίες παρακολούθησης σχετικά με την αφθονία της ΦΑ, την ανθοφορία και την καρποφορία στην επιφάνεια θα πρέπει να συνεχιστούν. Ο αριθμός των εναπομεινάντων δέντρων θα πρέπει να καταγράφεται σε κάθε παρατήρηση.

Μία τέτοια κατάσταση όπου η γενετική παρακολούθηση περιορίζεται σημαντικά λόγω του μειωμένου αριθμού αναπαραγωγικά ώριμων δέντρων ενδέχεται να διαρκέσει δεκαετίες, έως ότου αρκετά νεαρά δενδρύλλια φθάσουν σε ηλικία αναπαραγωγής και πληρούν τις προϋποθέσεις για την ένταξη τους στη ΓΠΔ. Η διαδικασία της επιλογής και αντικατάστασης θα πρέπει να διεξαχθεί σε βάθος χρόνου, ώστε να αποφευχθεί η μεροληπτική επιλογή των ταχύτερα αναπτυσσόμενων ατόμων.

3.6 Συλλογή μετεωρολογικών δεδομένων

Σήμερα η κλιματική αλλαγή αποτελεί την κυριότερη άμεση απειλή για τη γενετική ποικιλότητα των δασικών οικοσυστημάτων. Έμμεσα ενισχύει επίσης τις απειλές από ασθένειες, παθογόνα, έντομα, πυρκαγιές και ακραία καιρικά φαινόμενα. Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες διαδραματίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην επιτυχία της καρποφορίας και της ΦΑ, στην ανάπτυξη και επιβίωση των δέντρων. Πολλοί από τους επαληθευτές οι οποίοι χρησιμοποιούνται στη ΓΔΠ δύνανται να επεξηγηθούν μερικώς από μεταβολές περιβαλλοντικών παραμέτρων, όπως η θερμοκρασία και τα κατακρημνίσματα. Ως εκ τούτου προτείνεται η εγκατάσταση μετεωρολογικών καταγραφών εντός της επιφάνειας ΓΠΔ. Η τεχνολογία διηλεκτρικών συνδεδεμένων συσκευών, επονομαζόμενη και ως το «Διαδίκτυο των Πραγμάτων» (IoT) εξελίσσεται συνεχώς παράλληλα με την ανάπτυξη καταγραφών δεδομένων και διάφορων περιβαλλοντικών αισθητήρων. Οι μετεωρολογικοί καταγραφείς είναι πλέον φθηνοί και εύκολοι στην εγκατάσταση, ενώ επιτρέπουν τη συλλογή δεδομένων από απόσταση. Τα δεδομένα μεταφέρονται μέσω μίας σύνδεσης κινητής τηλεφωνίας 2G/3G/4G ή μέσω ενός τοπικού δικτύου Wi-Fi σε μία υπηρεσία στο διαδικτυακό «νέφος» ή σε ένα διακομιστή FTP.

Μπορούν επίσης να ληφθούν μετεωρολογικά δεδομένα ή/και να παρεκταθούν από τους πλησιέστερους μετεωρολογικούς σταθμούς. Ωστόσο, αυτή η προσέγγιση δεν συνιστάται σε τοποθεσίες με πολύ ετερογενείς συνθήκες ή μικρόκλιμα.

Βιβλιογραφία

- Abdi, E., Sisakht, S. R., Goushbor, L., Soufi, H. 2012. Accuracy assessment of GPS and surveying technique in forest road mapping. *Annals of Forest Research*, 55 (2), 309 - 317.
- Simwanda, M., Wing, M. G., Session, J. 2011. Evaluating Global Positioning System Accuracy for Forest Biomass Transportation Tracking within Varying Forest Canopy. *Western Journal of Applied Forestry*, 26 (4), 165 - 173.
- Zhang, H., Zheng, J., Dorr, G., Zhou, H., Ge, Y. 2014. Testing of GPS Accuracy for Precision Forestry Applications. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 39, 237 - 245.







Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών

Κεφάλαιο 4

ΔΕΙΚΤΕΣ, ΕΠΑΛΗΘΕΥΤΕΣ ΚΑΙ ΕΠΙΠΛΕΟΝ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Filippos A. ARAVANOPOULOS¹, Darius KAVALIAUSKAS², Barbara FUSSI²,
Marjana WESTERGREN³, Paraskevi ALIZOTI¹, Marko BAJC³, Nikolaos TOURVAS¹,
Andrej BREZNIKAR⁴, Pavlos CHASILIDIS⁵, Rok DAMJANIĆ³, Natalija DOVČ³,
Fotios KIOURTSIS⁵, Ermioni MALLIAROU¹, Hojka KRAIGHER³

Απόδοση στα ελληνικά:

Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ, Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ, Φανή ΛΥΡΟΥ

Βιβλιογραφική αναφορά: Αραβανόπουλος κ. ά. (2020) Δείκτες, επαληθευτές και επιπλέον πληροφορίες. Στο: Bajc κ. ά. (Επιμ.) Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας; Silva Slovenica Publishing Centre, Λιουμπλιάνα, σσ. 37-49. <http://dx.doi.org/10.20315/SFS.167>

Εταίροι και συνεργαζόμενοι Φορείς:

1. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), Ελλάδα
2. Βαυαρικό Γραφείο Δασικής Γενετικής (AWG), Γερμανία
3. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας (GIS), Σλοβενίας
4. Δασική Υπηρεσία Σλοβενίας (SFS), Σλοβενία
5. Αποκεντρωμένη Διοίκηση Μακεδονίας Θράκης, Γενική Διεύθυνση Δασών & Αγροτικών Υποθέσεων, Ελλάδα

4.1 Ορισμός δεικτών και επαληθευτών / Επιπλέον Πληροφορίες

Η γενετική παρακολούθηση πρέπει να λειτουργεί σε ένα ισχυρά δομημένο και επιστημονικά εδραιωμένο σύστημα που να περιλαμβάνει ένα ελάχιστο σύνολο εννοιολογικών προσεγγίσεων και παραμέτρων οι οποίες θα εξάγουν τη μέγιστη ποσότητα γενετικών πληροφοριών (Aravanopoulos 2011, 2016). Αυτές ερμηνεύονται με τη χρήση κριτηρίων, δεικτών και επαληθευτών. Ένα κριτήριο, είναι ένα πρότυπο μέσω του οποίου αξιολογείται μία οντότητα χωρίς αυτό να αποτελεί μια άμεση μέτρηση επίδοσης (Boyle 2000, Aravanopoulos *et al.* 2015). Επομένως, ένα κριτήριο αντικατοπτρίζει είτε ένα στόχο, είτε ένα σκοπό (απλό ή περιεκτικό), συχνά μάλλον πολύπλοκο και δύσκολο να εκτιμηθεί (Graudal *et al.* 2014, Aravanopoulos 2016). Ο δείκτης αναφέρεται σε οποιοδήποτε συστατικό στοιχείο ή διαδικασία του οικοσυστήματος που χρησιμοποιείται για να συναγάγει τα χαρακτηριστικά της βιωσιμότητας του πόρου (Boyle 2000, Aravanopoulos *et al.* 2015). Οι δείκτες χρησιμοποιούνται εξ ορισμού για την παρακολούθηση της προόδου και πρέπει πάντα να καθορίζονται σε σχέση με ένα δεδομένο στόχο (Feld *et al.* 2009). Ένας δείκτης συνήθως μετράται σε χρονική βάση για να αντικατοπτρίζει το επίτευγμα ή τη μεταβολή που σχετίζεται με το σχετικό κριτήριο. Οι δείκτες αξιολόγησης της βιοποικιλότητας εμπίπτουν σε μία από τις παρακάτω τέσσερις κατηγορίες: δείκτες κατάστασης, πίεσης, απόκρισης και οφέλους (Gradual *et al.* 2014, Sparks *et al.* 2011, UNEP/WCMC 2011). Είναι σαφές ότι οι δείκτες ΓΠΔ σε επίπεδο πληθυσμού είναι δείκτες κατάστασης, δηλαδή δείκτες που αναφέρονται στην κατάσταση των εκφάνσεων της βιοποικιλότητας (Gradual *et al.* 2014, Aravanopoulos 2016).

Ως εκ τούτου, ένας δείκτης πρέπει να είναι άμεσα μετρήσιμος και η μέτρηση που χρησιμοποιείται για την εκτίμηση ενός δείκτη, αναφέρεται ως επαληθευτής. Επομένως, ένας επαληθευτής περιλαμβάνει την εκτίμηση παραμετρικών δεδομένων που βελτιώνουν την ειδικότητα ή τη διευκόλυνση της αξιολόγησης ενός δείκτη (Boyle 2000, Aravanopoulos *et al.* 2015). Στην πράξη, ο επαληθευτής είναι η παράμετρος μέτρησης του δείκτη (Aravanopoulos *et al.* 2015).

Η παρούσα ΓΠΔ χρησιμοποιεί μόνο ένα κριτήριο: τη διατήρηση της γενετικής ποικιλότητας και το προσαρμοστικό εξελικτικό δυναμικό των φυσικών πληθυσμών, το οποίο δίνει έμφαση στη διατήρηση των εξελικτικών διεργασιών εντός των δασικών πληθυσμών με σκοπό τη διασφάλιση του δυναμικού τους για συνεχή προσαρμογή (Aravanopoulos 2011, Namkoong *et al.* 1996). Η επιστημονική βάση της γενετικής παρακολούθησης έγκειται στην προσέγγιση της οικολογίας γονιδίων: τρεις παράγοντες είναι οι κύριες δυνάμεις της εξέλιξης σε μικροκλίμακα: η φυσική επιλογή, η γενετική εκτροπή και η ροή γονιδίων. Η επίδραση της φυσικής επιλογής μπορεί να οδηγήσει σε διαφοροποίηση που σχετίζεται με την τοπική προσαρμογή, ενώ η γενετική εκτροπή μπορεί να οδηγήσει σε διαφοροποίηση που σχετίζεται με στοχαστικές αλλαγές και γενετική διάβρωση. Αυτές οι μεταβολές βρίσκονται σε δυναμική ισορροπία με τη δράση της γονιδιακής ροής που τείνει να οδηγήσει σε γενετική ομογενοποίηση. Η επίδραση των μεταλλάξεων θεωρείται αμελητέα για σχετικά βραχυπρόθεσμες (μικροεξελικτικές) διαδικασίες (Aravanopoulos 2011, 2016). Επομένως, η γενετική παρακολούθηση επικεντρώνεται στη χρονική αξιολόγηση τριών δεικτών, των: (1) φυσική επιλογή, (2) γενετική ποικιλότητα όπου ενσωματώνεται επίσης και η γενετική εκτροπή και (3) γονιδιακή ροή / σύστημα συζεύξεων. Η αξιολόγηση κάθε δείκτη βασίζεται σε έναν αριθμό επαληθευτών που αναλύονται παρακάτω. Ο αριθμός των επαληθευτών ανά δείκτη κυμαίνεται από το θεωρούμενο ως τον κατ' ελάχιστον απαραίτητο για την αξιολόγηση ενός δείκτη (βασικοί επαληθευτές), έως την πιο ολοκληρωμένη (βέλτιστη) αξιολόγηση όπου περιλαμβάνονται όλοι οι επαληθευτές που αναφέρονται παρακάτω.

Εκτός από τους επαληθευτές, υπάρχουν πρόσθετες πληροφορίες που μπορεί να είναι σημαντικές, ίσως όχι για την εκτίμηση της κατάστασης ενός δείκτη (όπως είναι ένας επαληθευτής), αλλά για την παροχή στοιχείων που θα βοηθούσαν στην αξιολόγηση της γενετικής παρακολούθησης και στην ερμηνεία της αξίας της τιμής του επαληθευτή και της πιθανής σχετικής μεταβολής της. Αυτές οι πιο γενικές πληροφορίες παρουσιάζονται με τον όρο «επιπλέον πληροφορίες».

4.2 Επιλογή δεικτών και επαληθευτών / Επιπλέον Πληροφορίες

Στο παρόν Εγχειρίδιο, στον Πίνακα 4. 2. 1 παρακάτω, παρουσιάζονται δείκτες και επαληθευτές για την ΓΠΔ. Στην επόμενη του κάθε δείκτη στήλη, βρίσκονται οι επιλεγμένοι επαληθευτές του και οι αντίστοιχες επιπλέον πληροφορίες.

Πίνακας 4.2.1: Κατάλογος δεικτών και επαληθευτών / επιπλέον πληροφοριών για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών (ΓΠΔ) σε βασικό, τυπικό και προχωρημένο επίπεδο. Χ: επίπεδο στο οποίο καταγράφεται ένας συγκεκριμένος επαληθευτής, V: επαληθευτής, BI: επιπλέον πληροφορίες.

Δείκτης	Όνομα επαληθευτή	Τύπος	Βασικό	Τυπικό	Προχωρημένο
Επιλογή	Θνησιμότητα / Επιβίωση	V	X	X	X
	Αφθονία Φυσικής Αναγέννησης (ΦΑ)	V	X	X	X
	Ανθοφορία	V	X	X	X
	Καρποφορία	V	X	X	X
	Ποσοστό πλήρων σπερμάτων	V			X
	Ποσοστό φύτρωσης	V			X
	Ξήρανση κόμης (μόνο για φράξο)	BI	X	X	X
	Αναλογία φύλου (δίοικα είδη)	BI		X	X
	Κατανομή Στηθιαίας Διαμέτρου (DBH)	BI		X	X
	Κατανομή Κλάσεων Ύψους	BI		X	X
	Συγχρονισμός ανθοφορίας	BI			X
	Έκπτυξη οφθαλμών	BI		X	X
	Φθινοπωρινός μαρασμός	BI		X	X
	Γενετική Ποικιλότητα	Συχνότητες αλληλομόρφων	V		X
Λανθάνον γενετικό δυναμικό		V		X	X
Συντελεστής ομομειξίας		V		X	X
Αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού		V		X	X
Αλληλομορφικός πλούτος		V		X	X
Ανισορροπία σύνδεσης		V		X	X
Διειδικός υβριδισμός*		BI		X	X
Γενετική πολλαπλότητα		BI		X	X
Γονιδιακή Ροή / Σύστημα συζεύξεως	Ανάλυση έκτοπων γονιδιακών θέσεων	BI		X	X
	Γονιδιακή Ροή	V			X
	Αναλογία σταυρογονιμοποίησης με βάση πολλαπλές γονιδιακές θέσεις	V			X
	Ποσοστό πραγματικής ομομειξίας	V			X
	Αποτελεσματικός αριθμός δωρητών γύρης	BI			X
	Αμφιγονεϊκή ομομειξία	BI			X

* Μόνο για είδη στα οποία παρατηρείται υβριδισμός

Η επιλογή δεικτών και επαληθευτών ακολουθεί τα τρία επίπεδα γενετικής παρακολούθησης, βασικό τυπικό και προχωρημένο. Η επιλογή βασίζεται: (1) στην αρχή της ενδελεχούς αξιολόγησης του δείκτη, χρησιμοποιώντας το μικρότερο δυνατό αριθμό επαληθευτών (Aravanopoulos 2011, Aravanopoulos *et al.* 2015), (2) στη διαθεσιμότητα κάθε επαληθευτή για χρονική αξιολόγηση και (3) στο χρόνο και το κόστος που απαιτείται για την αξιολόγηση κάθε επαληθευτή (βλ. Κεφάλαιο 7 παρακάτω). Συνολικά προτείνονται 15 επαληθευτές, έξι επαληθευτές για το δείκτη της φυσικής επιλογής, έξι για το δείκτη της γενετικής ποικιλότητας και τρεις επαληθευτές για το δείκτη της γονιδιακής ροής / συστήματος συζεύξεως. Υπάρχουν επίσης οκτώ παράμετροι που απαιτούνται ως επιπλέον

πληροφορίες, τέσσερις σχετιζόμενοι με τη φυσική επιλογή, τρεις σχετίζονται με τη ροή γονιδίων / σύστημα συζεύξεως και μία με τη γενετική ποικιλότητα. Από τους 15 επαληθευτές, τέσσερις σχετίζονται με παρατηρήσεις πεδίου ποσοτικών γνωρισμάτων, εννέα προκύπτουν από την ανάλυση μοριακών γενετικών δεικτών και δύο από δοκιμές φύτευσης σπερμάτων. Οι αριθμός των παραμέτρων οι οποίες θα αξιολογηθούν και σχετίζονται με επιπλέον πληροφορίες, εξαρτάται από τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του κάθε είδους, καθώς δεν είναι όλες σχετικές με όλα τα είδη. Η επιπλέον πληροφορία για την «αναλογία φύλου», για παράδειγμα, αξιολογείται μόνο για δίοικα είδη.

4.3 Περιγραφή Δεικτών και επαληθευτών / Επιπλέον πληροφορίες

ΔΕΙΚΤΗΣ I: ΕΠΙΛΟΓΗ

Η φυσική επιλογή είναι ένας κύριος δείκτης καθώς αποτελεί μια εξελικτική δύναμη που δύναται να μεταβάλλει τις συχνότητες αλληλομόρφων ακόμη και μέσα σε λίγες γενιές. Η δράση της επιλογής αυξάνει την προσαρμογή του πληθυσμού στις τρέχουσες περιβαλλοντικές συνθήκες, ωστόσο με κόστος την πιθανή απώλεια γενετικής ποικιλότητας. Επομένως, η εκτίμησή της είναι ένα πολύπλοκο αλλά αναπόσπαστο μέρος της ΓΠΔ που πραγματοποιείται σε συνδυασμό με τη δυναμική των άλλων επαληθευτών της ΓΠΔ.

Επαληθευτής: Θνησιμότητα / Επιβίωση

Μια αλλαγή στη θνησιμότητα ή στην επιβίωση (θνησιμότητα = 1 – επιβίωση) υποδεικνύει υποκείμενη επιλεκτική πίεση, δηλαδή αφανισμό όταν αυξάνεται η τιμή της θνησιμότητας. Ο λόγος θνησιμότητα / επιβίωση αναφέρεται στον αριθμό των δέντρων που (δεν) έχουν επιβιώσει σε σχέση με την προτεραιά κατάσταση (ή την προηγούμενη εκτίμηση).

Επαληθευτής: Αφθονία Φυσικής Αναγέννησης (ΦΑ)

Μια αλλαγή στην αφθονία αναγέννησης μπορεί να υποδηλώνει μια υποκείμενη επιλεκτική πίεση που έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση ή την απουσία ή την απώλεια φυταρίων, δενδρυλλίων και κορμιδίων. Η αφθονία αναγέννησης ορίζεται ως ο αριθμός των φυτών της αναγέννησης ανά μονάδα έκτασης.

Επαληθευτής: Ανθοφορία

Η ανθοφορία, η παραγωγή ανθέων, είναι ένας αξιοσημείωτος επαληθευτής για τη γενετική παρακολούθηση. Η έλλειψη ανθοφορίας ενδέχεται να επηρεάσει αρνητικά την παμμειξία (El-Kassaby *et al.*, 1988, 1984), καθώς μπορεί να οδηγήσει σε μη τυχαία διασταύρωση και αυξημένη αυτογονιμοποίηση (Bhumibhamon, 1978). Η παρουσία, η αφθονία και ο χρόνος της ανθοφορίας, είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στις κλιματικές συνθήκες, καθιστώντας τη φαινολογία της ανθοφορίας ένα από τα πιο μεταβλητά χαρακτηριστικά των φυτών (Chuine, 2010). Η φαινολογία της ανθοφορίας είναι η μελέτη του χρόνου ανάπτυξης αρσενικών και θηλυκών ανθέων, μέσω της καταγραφής των διαφορετικών φαινοφάσεων (Ducci *et al.* 2012). Η φαινολογία της ανθοφορίας είναι ένας κρίσιμος παράγοντας που επηρεάζει την αναπαραγωγική αρμοστικότητα, η οποία επιτυγχάνεται μέσω της ανταλλαγής γονιδίων μεταξύ των γενοτύπων και καθορίζει τη γενετική ποικιλότητα των παραγόμενων σπερμάτων και την επιτυχία επιβίωσης των παραγόμενων φυταρίων (Alizoti *et al.* 2010).

Επαληθευτής: Καρποφορία

Η καρποφορία ορίζεται ως η ανάπτυξη των αναπαραγωγικών οργάνων και των καρπών ενός φυτού (Merriam-Webster's 2003). Η καρποφορία είναι ο κύριος καθοριστικός παράγοντας για τη μεταβίβαση γονεϊκών γενετικών πληροφοριών στους απογόνους. Αποτελεί ένα κύριο παράγοντα της επιτυχούς αναπαραγωγής των γενοτύπων

και των πληθυσμών (Müller-Starck *et al.* 2005, Seifert and Müller-Starck 2009). Η ένταση και η περιοδικότητα μεταξύ διαδοχικών χρόνων καρποφορίας είναι ειδική για κάθε είδος και ποικίλλει ανάλογα με τις καιρικές συνθήκες, τη διαθεσιμότητα πόρων και το γενετικό έλεγχο (Mund *et al.* 2010 και οι βιβλιογραφικές αναφορές εντός). Ως εκ τούτου, σε ορισμένα είδη δασικών δέντρων, η καρποφορία απαντάται με διαφορετική ένταση ανά έτος και παρατηρούνται έτη με υψηλή παραγωγή καρπών ή κώνων και άλλα με χαμηλότερη παραγωγή ή και απουσία αυτής. Είναι σημαντικό να γνωρίζουμε ότι τα δέντρα ενός είδους συχνά συγχρονίζουν την αναπαραγωγή τους σε ευρείες γεωγραφικές περιοχές, ως απόρροια γενετικής και περιβαλλοντικής αλληλεπίδρασης (Selas *et al.* 2002, Seifert and Müller-Starck 2009). Η καρποφορία αποτελεί σημαντική παράμετρο στην ερμηνεία των τιμών του δραστικού μεγέθους πληθυσμού.

Επαληθευτής: Ποσοστό πλήρων σπερμάτων

Μια μεταβολή στο ποσοστό των πλήρων σπερμάτων υποδηλώνει επιλεκτική πίεση (στην περίπτωση μείωσης) ή ένδειξη ανάκαμψης (στην περίπτωση αύξησης). Είναι επίσης μια σημαντική παράμετρος στην ερμηνεία των τιμών του δραστικού μεγέθους πληθυσμού. Η εκτίμηση του ποσοστού πλήρων σπερμάτων πραγματοποιείται ανά δέντρο, από το οποίο έχουν ληφθεί δείγματα καρπών/σπερμάτων. Αυτή η εκτίμηση λαμβάνει υπόψη τα σπέρματα στα οποία δεν έχει σχηματιστεί έμβρυο μετά το πέρας της επικονίασης και σχετίζεται με την ομομειξία. Ο υπολογισμός βασίζεται στον αριθμό των πλήρων σπερμάτων από ένα τυχαίο δείγμα 1000 σπερμάτων εκφρασμένο ως ποσοστό.

Επαληθευτής: Ποσοστό φυτρωτικότητας

Η ικανότητα φύτρωσης των σπερμάτων υπό μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες επηρεάζει την κατανομή και την αφθονία των δασικών ειδών. Ακόμη και αν υπάρχει διαθεσιμότητα σπερμάτων, η κλιματική μεταβολή ενδέχεται να επηρεάσει αρνητικά τη φυτρωτικότητα και να οδηγήσει σε έλλειψη φυσικής αναγέννησης (de Melo *et al.* 2015, Wang *et al.* 2016). Στο πλαίσιο της ΓΠΔ, η εκτίμηση της αναπαραγωγικής αρμοστικότητας, η οποία υποδεικνύει την ικανότητα ενός ατόμου να επιβιώνει και να αναπαράγεται, εκτιμάται ως το συνδυασμένο ποσοστό πλήρων σπερμάτων και φυτρωτικότητας (συνολικός αριθμός σπερμάτων του δείγματος και συνολικός αριθμός πλήρων σπερμάτων που εκβλάστησαν) (Aravanopoulos 2011, Aravanopoulos *et al.* 2015, Aravanopoulos 2016). Το αντικείμενο της δοκιμής φυτρωτικότητας, σύμφωνα με τον κανονισμό της ISTA (2020), είναι ο προσδιορισμός του μέγιστου δυναμικού βλάστησης μίας σπορομερίδος. Η δοκιμή φυτρωτικότητας μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη σύγκριση της ποιότητας των διάφορων σπορομερίδων. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι για τον έλεγχο της βιωσιμότητας των σπερμάτων. Ωστόσο, η πιο ακριβής και αξιόπιστη μέθοδος είναι η δοκιμή φυτρωτικότητας (Rao *et al.* 2006). Ο έλεγχος της φυτρωτικότητας ενός σπέρματος σε μια εργαστηριακή δοκιμή βασίζεται στην εκβλάστηση και ανάπτυξη του φυταρίου σε ένα οντογενετικό επίπεδο, όπου η ανάλυση της βασικής δομής του υποδεικνύει εάν είναι σε θέση να αναπτυχθεί περαιτέρω ως ένα κανονικό φυτό υπό ευνοϊκές συνθήκες εδάφους. Το ποσοστό φυτρωτικότητας υποδεικνύει την αναλογία του αριθμού σπερμάτων που αναπτύχθηκαν σε κανονικά φυτάρια υπό τις συνθήκες που αντιστοιχούν για το συγκεκριμένο είδος και την περίοδο δοκιμής (ISTA 2020).

Επιπλέον πληροφορία: Ξήρανση κόμης (μόνο για φράξο)

Η νέκρωση της κόμης είναι ένας επαληθευτής που εφαρμόζεται μόνο στη ΓΠΔ για τα είδη *Fraxinus* και χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της σοβαρότητας της μόλυνσης του φράξου από τον μύκητα *Hymenoscyphus fraxineus* μια χρόνια μυκητιακή ασθένεια του φράξου στην Ευρώπη.

Επιπλέον πληροφορία: Αναλογία φύλων (μόνο δίοικα είδη)

Η αναλογία φύλων αναφέρεται στην καταγραφή μεμονωμένου φύλου δέντρων σε δίοικα είδη. Η αναλογία φύλου είναι σημαντική καθώς όσο πιο ισορροπημένη είναι η κατανομή των φύλων τόσο μεγαλύτερο αναμένεται να είναι το αποτελεσματικό μέγεθος του πληθυσμού.

Επιπλέον πληροφορία: Κατανομή τιμών στηθιαίας διαμέτρου

Μία μεταβολή στην καμπύλη κατανομής των διαμέτρων των δέντρων, δύναται να υποδηλώνει υποκείμενη επιλεκτική πίεση, δηλ. νέκρωση ώριμων ή / και νεαρών δέντρων.

Επιπλέον πληροφορία: Κατανομή τιμών ύψους

Μία μεταβολή στην καμπύλη κατανομής ύψους των δέντρων μπορεί να υποδηλώνει μια υποκείμενη επιλεκτική πίεση, δηλ. διακοπή της ανάπτυξης ή νέκρωση ώριμων ή / και νεαρών δέντρων.

Επιπλέον πληροφορία: Συγχρονισμός Ανθοφορίας

Ο συγχρονισμός της ανθοφορίας, η ωρίμανση των θηλυκών και αρσενικών ανθέων ταυτόχρονα, διασφαλίζει την αλληλοεπικάλυψη της δεκτικότητας των θηλυκών ανθέων και της παραγωγής γύρης και επηρεάζει έτσι την ισορροπία παμμειξίας (El-Kassaby *et al.*, 1988, 1984). Υπό την παμμειξία, όλοι οι αρσενικοί και θηλυκοί γονείς πρέπει να έχουν την ίδια πιθανότητα να συμμετάσχουν στον ίδιο αριθμό σταυρεπικονιάσεων και να διασταυρωθούν με όλα τα άτομα του άλλου φύλου. Η απουσία συγχρονισμού ανθοφορίας, δύναται να οδηγήσει σε μη τυχαίες διασταυρώσεις, σε υψηλότερο ποσοστό κενών σπερμάτων και αυξημένη αυτογονιμοποίηση (Bhumibhamon, 1978).

Επιπλέον πληροφορία: Έκπτυξη οφθαλμών

Η έκπτυξη των οφθαλμών αναφέρεται στην περίοδο που εκτείνεται από τη λήξη του λήθαργου των οφθαλμών έως την επιμήκυνση των βλαστών. Καθορίζεται από διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες (απαιτούμενη ψυχρή και θερμή περίοδο), που είναι απαραίτητοι για την έναρξη της διαδικασίας, αλλά υπόκειται επίσης σε ισχυρό γενετικό έλεγχο (Geburek 2004, Ducci *et al.* 2012). Δεδομένα σχετικά με το χρόνο και τη διάρκεια της έκπτυξης των οφθαλμών παρέχουν σημαντικές πληροφορίες για την αντίδραση των δέντρων και του πληθυσμού στις μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες. Δεδομένα των φαινοφάσεων έκπτυξης οφθαλμών είναι χρήσιμα για την ολοκληρωμένη αξιολόγηση διαφόρων ζητημάτων στο πλαίσιο της γενετικής παρακολούθησης των δασών. Η ικανότητα ενός είδους να προσαρμόζεται στις αβιοτικές περιβαλλοντικές συνθήκες μακροπρόθεσμα μέσω φαινολογικών μεταβολών, μπορεί να θεωρηθεί ως δείκτης της ανθεκτικότητας του στη μελλοντική κλιματική αλλαγή. Ο κύριος στόχος των φαινολογικών παρατηρήσεων στις επιφάνειες ΓΠΔ είναι η παροχή συμπληρωματικών πληροφοριών σχετικά με την φαινοτυπική πλαστικότητα των πληθυσμών δασικών δέντρων κατά τη διάρκεια του έτους.

Επιπλέον πληροφορία: Φθινοπωρινός μαρασμός

Ο φθινοπωρινός μαρασμός των φύλλων είναι μία σειρά εκφυλιστικών συμβάντων που μειώνουν τις μεταβολικές δραστηριότητες και προκαλούν το θάνατο των κυττάρων, των ιστών και των οργάνων των φύλλων. Ο μαρασμός εξαρτάται από πολλούς περιβαλλοντικούς, φυσιολογικούς και γενετικούς παράγοντες. Δεδομένα σχετικά με τον χρόνο και τη διάρκεια του μαρασμού των φύλλων παρέχουν πληροφορίες για την κατανόηση της πραγματικής κατάστασης των δέντρων και των πληθυσμών που αυτά σχηματίζουν στο μεταβαλλόμενο περιβάλλον.

ΔΕΙΚΤΗΣ II: ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ

Η γενετική ποικιλότητα αποτελεί την προϋπόθεση για μελλοντική προσαρμογή και εξέλιξη. Προτείνεται να εκτιμηθεί από τις παραμέτρους που αναφέρονται παρακάτω. Η μεταβολή σε παραμέτρους που σχετίζονται με τη γενετική ποικιλότητα, π.χ. η μείωση της τιμής μιας παραμέτρου, υποδεικνύει ελάττωση της γενετικής ποικιλότητας και εν δυνάμει αντιστοιχεί σε ελάττωση της προσαρμοστικής ικανότητας του πληθυσμού.

Επαληθευτής : Συχνότητες αλληλομόρφων

Μια αλλαγή στις συχνότητες αλληλομόρφων μπορεί να υποδηλώνει μεταβολή στο μέγεθος της γενετικής ποικιλότητας. Η ανίχνευση μεταβολών συχνοτήτων και απώλειας αλληλομόρφων, αποτελεί ένδειξη αλλαγής στη γενετική ποικιλότητα, που μπορεί να αποδοθεί σε αποκλειστική ή συνδυασμένη δράση εξελικτικών δυνάμεων, οι οποίες λειτουργούν σύμφωνα με το πρότυπο της οικολογίας γονιδίων. Οι συχνότητες αλληλομόρφων, καθώς και οι μεταβολές στην ποικιλότητα εντός ενός περιβαλλοντικού κλινούς, είναι δυνατό να εκτιμηθούν μέσω της μελέτης πληθυσμών από το σύνολο του εύρους της φυσικής εξάπλωσης των ειδών. Τα αποτελέσματα μπορούν να παράσχουν στοιχεία σχετικά με αποκρίσεις προσαρμογής σε περιβαλλοντικές μεταβολές. Αυτός ο επαληθευτής ενδέχεται να είναι ασαφής από τη φύση του, επομένως πρέπει πάντα να λαμβάνεται υπόψη σε συνδυασμό με άλλους επαληθευτές του δείκτη της γενετικής ποικιλότητας.

Επαληθευτής: Αλληλομορφικός πλούτος

Ο αλληλομορφικός πλούτος (allelic richness, AR), ορίζεται ως ο αριθμός αλληλομόρφων σε έναν πληθυσμό, εκφραζόμενος ως ο μέσος όρος όλων των γονιδιακών θέσεων. Αποτελεί μία παράμετρο που λαμβάνει διόρθωση για διαφορετικά μεγέθη δειγματοληψίας μέσω της τεχνικής καμπυλών κορεσμού (rarefaction). Χρησιμοποιείται λιγότερο συχνά από την ετεροζυγωτία ως μέτρο γενετικής ποικιλότητας, καθώς η στοχαστική φύση της γενετικής εκτροπής δυσχεραίνει την εκτίμηση της αλληλομορφικής ποικιλότητας. Παρ' όλα αυτά, η αλληλομορφική ποικιλότητα θεωρείται ως περισσότερο χρήσιμη παράμετρος για τη προστασία της γενετικής ποικιλότητας από την αλληλομορφική ομοιομορφία (δηλ. την ετεροζυγωτία) (Brown and Schoen 1992, Rajora and Mosseler 2001, Aravanopoulos 2011). Η παράμετρος συνδέεται με τη χρήση γενετικών δεικτών με πολλαπλά αλληλόμορφα, π.χ. μικροδορυφορικών γενετικών δεικτών (SSR).

Επαληθευτής: Λανθάνον γενετικό δυναμικό

Το λανθάνον γενετικό δυναμικό (LGP) είναι μια σημαντική γενετική παράμετρος που αντικατοπτρίζει την ικανότητα ενός πληθυσμού να διατηρεί την προσαρμοστικότητά του υπό την πολυπλοκότητα των μεταβαλλόμενων περιβαλλοντικών συνθηκών (Stebbins and Hartl 1988, Bergmann *et al.* 1990). Μια πληθυσμιακή γενετική ανάλυση γενικά αναδεικνύει το «λειτουργικό γενετικό δυναμικό» (δηλ. το ποσοστό της γενετικής ποικιλότητας που εγγυάται την επιβίωση ενός πληθυσμού υπό τις τρέχουσες συνθήκες, το οποίο είναι ανάλογο με τον αποτελεσματικό αριθμό αλληλομόρφων), ενώ το υπόλοιπο ποσοστό εντοπίζεται ως «λανθάνον». Αυτό το τμήμα της γενετικής ποικιλότητας σχετίζεται με τα αλληλόμορφα χαμηλής συχνότητας στο πληθυσμό, τα οποία ωστόσο δύνανται να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο για μελλοντική προσαρμογή υπό δραστικά μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες, κάτι που αναμένεται να έχει μεγάλη σημασία για τις πρακτικές προστασίας (Aravanopoulos 2011, 2016). Επομένως, μια αλλαγή, ιδίως μια μείωση του λανθάνοντος γενετικού δυναμικού, μπορεί να υποδηλώνει μείωση της συνολικής προσαρμοστικής ικανότητας του πληθυσμού. Το λανθάνον γενετικό δυναμικό υπολογίζεται ως η διαφορά μεταξύ του συνολικού και του δραστικού αριθμού αλληλομόρφων, αθροιζόμενη για όλες τις γονιδιακές θέσεις.

Επαληθευτής: Συντελεστής ομομιξίας

Ο συντελεστής ομομιξίας (F_{IS}) είναι η συσχέτιση των γαμετών που σχηματίζουν ζυγώτη, σε σχέση με τυχαία επιλεγμένους γαμέτες από έναν υποπληθυσμό. Περιγράφει τη διακύμανση εντός ατόμων, σε σχέση με τους υποπληθυσμούς τους. Ο F_{IS} εξαρτάται από την αναλογία των παρατηρούμενων ετεροζυγωτών προς τους αναμενόμενους υπό την ισορροπία Hardy-Weinberg, οπότε μπορεί να θεωρηθεί ως η μείωση της ετεροζυγωτίας ενός ατόμου σε σύγκριση με τον υποπληθυσμό στο πλαίσιο πολλών (υπο-)πληθυσμών που σχηματίζουν τον συνολικό (μετα-)πληθυσμό. Η αύξηση της αναπαραγωγής σχετίζεται προφανώς με μια πιθανή μείωση της γενετικής ποικιλότητας.

Επαληθευτής: Αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού

Το αποτελεσματικό μέγεθος του πληθυσμού (N_e) αποτελεί μια από τις σημαντικότερες (ενδεχομένως την πιο σημαντική) γενετικές παραμέτρους, καθώς όταν λαμβάνει χαμηλές τιμές, η δράση της γενετικής εκτροπής καθίσταται πιο σημαντική από τη φυσική επιλογή και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εξελικτική διαδικασία. Επομένως, μία μεταβολή, ειδικά μία μείωση, του δραστικού μεγέθους του πληθυσμού κάτω από τα αποδεκτά επίπεδα, υποδηλώνει την έναρξη της γενετικής εκτροπής (καθώς και της ομομειξίας). Ως εκ τούτου, υποδηλώνει τόσο την έναρξη τυχαίων και στοχαστικών διεργασιών στον πληθυσμό, όσο και της ομομειξίας και της μείωσης της γενετικής ποικιλότητας, οι οποίες συνδυαστικά υποβαθμίζουν τη μελλοντική προσαρμοστική ικανότητα του πληθυσμού. Το αποτελεσματικό μέγεθος του πληθυσμού ορίζεται ως ο αριθμός των ατόμων που θα συνεισφέρουν γονίδια στην επόμενη γενιά μέσω εγγενούς αναπαραγωγής. Με όρους γενετικής πληθυσμών, το αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού ενός πραγματικού πληθυσμού, είναι ο αριθμός των ατόμων σ' ένα θεωρητικά ιδανικό πληθυσμό, ο οποίος παρουσιάζει το ίδιο μέγεθος τυχαίας γενετικής εκτροπής με τον πραγματικό πληθυσμό. Είναι εξαιρετικά δύσκολο να εκτιμηθεί το αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού σε φυσικούς πληθυσμούς με χρήση δημογραφικών προτύπων και σήμερα οι πλέον ευρέως εφαρμοζόμενες προσεγγίσεις χρησιμοποιούν γενετικούς δείκτες. Επιπροσθέτως οι εκτιμήσεις με γενετικούς δείκτες είναι πιο συντηρητικές από αυτές που χρησιμοποιούν δημογραφικά πρότυπα. Στο παρόν εγχειρίδιο, η εκτίμηση του δραστικού μεγέθους πληθυσμού βασίζεται στην χρήση γενετικών δεικτών.

Επαληθευτής: Ανισορροπία σύνδεσης

Η ανισορροπία σύνδεσης (LD) είναι η μη τυχαία συσχέτιση αλληλομόρφων σε διαφορετικές γονιδιακές θέσεις σε κάθε πληθυσμό και εντοπίζεται όταν η συχνότητα συσχέτισης των διαφορετικών αλληλομόρφων σε μια γονιδιακή θέση είναι υψηλότερη ή χαμηλότερη από αυτό που θα αναμενόταν εάν οι γονιδιακοί τόποι συσχετιζόνταν τυχαία (δηλ. εάν ήταν ανεξάρτητοι) (Weir 1979). Η ανισορροπία σύνδεσης μπορεί να επηρεαστεί τόσο από εξελικτικές δυνάμεις, όσο και από τις δημογραφικές ιδιότητες (πληθυσμιακή δομή, μη εγγενής αναπαραγωγή). Για παράδειγμα, η ανισορροπία σύνδεσης θα εκδηλωθεί ή θα γίνει πιο εμφανής, σε μικρούς πληθυσμούς, σε πληθυσμούς υπό ισχυρή δράση εξελικτικών δυνάμεων ή υπό σύμμιξη. Ως εκ τούτου, η ανισορροπία σύνδεσης μπορεί να αποτελέσει ένα ισχυρό σήμα για την παρουσία γενετικών και δημογραφικών διεργασιών σε έναν πληθυσμό.

Επιπλέον πληροφορία: Διεδικός Υβριδισμός

Η εκτίμηση του διεδικού υβριδισμού, αποτελεί παράμετρο σημασίας όταν σε μία επιφάνεια ΓΠΔ ή στην ευρύτερη περιοχή, εντοπίζονται συμπατριικοί πληθυσμοί ειδών που δυνητικά υβριδίζουν. Αυτή η κατάσταση δεν είναι ασυνήθιστη σε δασικά είδη, π.χ. στην ελάτη, δρυ, φράξο, λεύκη κλπ. Η εκτίμηση του είναι ζωτικής σημασίας για την προστασία του υπό μελέτη είδους. Είναι ένα πολύ δυναμικό φαινόμενο όσο αφορά την εξέλιξη της γενετικής ποικιλότητας και της ετεροζυγωτίας με την πάροδο του χρόνου και είναι σημαντικό κατά την ανίχνευση μιας αλλαγής στις τιμές της γενετικής ποικιλότητας να γνωρίζουμε, εάν ο διεδικός υβριδισμός έχει διαδραματίσει κάποιο ρόλο. Ο διεδικός υβριδισμός συχνά θεωρείται πηγή γενετικών και φαινοτυπικών καινοφανών γνωρισμάτων και ως η πηγή εξέλιξης (π.χ. Leroy *et al.* 2017), ωστόσο, ο υβριδισμός μπορεί επίσης να προκαλέσει γενετική διάβρωση και να υπονομεύσει την ακεραιότητα των ειδών οδηγώντας στην εξαφάνισή τους (Soltis and Soltis 2009 και αναφορές εντός, Vit *et al.* 2014, Neale and Wheeler 2019). Απαιτεί τη γενοτύπωση του θεωρούμενου υβριδογενούς πληθυσμού με εξειδικευμένους για την αναγνώριση ειδών γενετικούς δείκτες, με τη συμπερίληψη δειγμάτων αναφοράς των γονικών ειδών. Ιδανικά, ένας εξειδικευμένος γενετικός δείκτης θα πρέπει να είναι μια ταυτόσημη γονιδιακή θέση που υπάρχει στα γονικά είδη, στην οποία υπάρχουν διαφορετικά αλληλόμορφα ως μονομορφικά εντός των ειδών, αλλά παρουσιάζουν ποικιλότητα στον υβριδικό πληθυσμό. Ο υβριδισμός υπολογίζεται σε ποσοστιαία βάση ως ο αριθμός των ατόμων από το σύνολο που φέρουν αποκλειστικά αλληλόμορφα και των δύο ειδών. Βάσει του αριθμού των γονιδιακών θέσεων και των αλληλομόρφων που είναι κατάλληλα για την ανίχνευση του διεδικού υβριδισμού, μπορούν να εξαχθούν περισσότερες πληροφορίες όπως το ποσοστό των αναδιασταυρώσεων ή το ποσοστό των προχωρημένων γενεών.

Επιπλέον πληροφορία: Γενετική πολλαπλότητα

Η γενετική πολλαπλότητα (υποθετική γαμετική ποικιλότητα σε πολλαπλές γονιδιακές θέσεις, V_{gam}), καθορίζει την πραγματική ή τη δυνητική ικανότητα ενός πληθυσμού να παρέχει λύσεις σε περιβαλλοντικές διαταραχές, βασισμένες στην αλληλομορφική ποικιλότητα. Η γενετική πολλαπλότητα υποδεικνύει το δυναμικό ενός πληθυσμού για παραγωγή γενετικά διαφορετικών γαμετών. Αντικατοπτρίζει μια παράμετρο γενετικής ποικιλότητας σημαντική υπό το πρίσμα της περιβαλλοντικής μεταβολής. Παρουσιάζει τη δυνατότητα ενός πληθυσμού να παράγει γενετικά διαφοροποιημένους γαμέτες για τον σχηματισμό της επόμενης γενιάς (Müller-Starck 1995) και ποσοτικοποιεί την ικανότητα των πληθυσμών δασικών δέντρων να δημιουργούν γενετική ποικιλότητα και έτσι να διευκολύνουν την προσαρμογή στις μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες (Gregorius *et al.* 1986, Müller-Starck 1995). Επομένως, μία αλλαγή, ειδικά μια μείωση της γενετικής πολλαπλότητας μπορεί να υποδηλώνει μείωση της συνολικής προσαρμοστικής ικανότητας του πληθυσμού. Η γενετική πολλαπλότητα υπολογίζεται ως ο υψηλότερος δυνατός αριθμός διαφορετικών αλληλομόρφων, ως ο υψηλότερος αριθμός πιθανών γενοτύπων (ως ξεχωριστά αθροίσματα, ή ανά γονιδιακή θέση), ως το ποσοστό πολυμορφικών γονιδιακών τόπων (P) και ως ο μέσος αριθμός αλληλομόρφων ανά γονιδιακή θέση. Αξιολογείται λαμβάνοντας υπόψη τις παραπάνω παραμέτρους εν συνόλω.

Επιπλέον πληροφορία: Έλεγχος έκτοπων γονιδιακών θέσεων

Ο έλεγχος έκτοπων γονιδιακών θέσεων είναι μια ανάλυση, βασισμένη στα στατιστικά F κατά Wright, σε επίπεδο πληθυσμών. Αξιοποιεί εκτιμήσεις γενετικής διαφοροποίησης, για να ανιχνεύσει γονιδιακές θέσεις με σημαντικά υψηλότερη ή χαμηλότερη γενετική διαφοροποίηση από το αναμενόμενο υπό τις προσδοκίες της ουδετερότητας. Τέτοιες θέσεις που παρουσιάζουν ένα ιδιαίτερο μοτίβο ποικιλότητας είναι πιθανό να βρίσκονται υπό καθεστώς επιλεκτικής πίεσης.

ΔΕΙΚΤΗΣ III: ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΡΟΗ / ΣΥΣΤΗΜΑ ΣΥΖΕΥΞΕΩΣ

Η ροή γονιδίων και το σύστημα συζεύξεως είναι ο δείκτης που μας επιτρέπει να καταγράψουμε τα επίπεδα ανταλλαγής αλληλομόρφων μεταξύ ατόμων και πληθυσμών, τα οποία είναι ζωτικής σημασίας για τη μελλοντική προσαρμογή και εξέλιξη. Αξιολογείται από τις παραμέτρους που αναφέρονται παρακάτω.

Επαληθευτής: Γονιδιακή Ροή (N_m)

Η γονιδιακή ροή ορίζεται ως η ανταλλαγή αλληλομόρφων μέσω σπερμάτων και γύρης μεταξύ πληθυσμών τα οποία διαφέρουν στις γενοτυπικές συχνότητες. Η γονιδιακή ροή καθορίζεται από το σύστημα συζεύξεως το οποίο μεσολαβεί για τον ανασυνδυασμό και το διαχωρισμό των αλληλομόρφων μεταξύ των γενεών. Προσδιορίζει το βαθμό στον οποίο τα γονίδια ανταλλάσσονται μεταξύ ατόμων, καθώς και τη μετανάστευση από και προς τον πληθυσμό όπου εφαρμόζεται η ΓΠΔ.

Μπορεί να θεωρηθεί ωφέλιμη ή επιβλαβής από την άποψη της προστασίας γενετικών πόρων, της ΓΠΔ, ή της γενετικής βελτίωσης (Buczyk *et al.* 2004). Η γονιδιακή ροή προκαλεί αλλαγές στη σύνθεση του γονιδιακού αποθέματος (συχνότητες αλληλομόρφων) του πληθυσμού υποδοχής μέσω της εισδοχής αλλότριων αλληλομόρφων στο γονιδιακό απόθεμα. Η εισαγωγή νέων αλληλομόρφων μέσω της γονιδιακής ροής αυξάνει τη γενετική ποικιλότητα του πληθυσμού, το συνδυασμό γνωρισμάτων και διευκολύνει την εξέλιξη (Encyclopaedia Britannica 2019, Mallet 1999, Buczyk *et al.* 2004, Aravanopoulos 2011). Η γονιδιακή ροή καθορίζεται από το σύστημα συζεύξεως που μεσολαβεί στον ανασυνδυασμό και την αλληλομορφική ποικιλότητα των γονιδίων μεταξύ των γενεών και καθορίζει τα επίπεδα στα οποία τα γονίδια ανταλλάσσονται μεταξύ ατόμων και πληθυσμών (Aravanopoulos 2011). Η εκτίμηση της γονιδιακής ροής παρέχει έμμεσες πληροφορίες σχετικά με το επίπεδο της μετανάστευσης μεταξύ (υπο)πληθυσμών.

Επαληθευτής: Αναλογία σταυρογονιμοποίησης με βάση πολλαπλές γονιδιακές θέσεις (t_m)

Το σύστημα συζεύξεως είναι ένας από τους βασικούς παράγοντες που διαμορφώνουν τη γενετική δομή του πληθυσμού (Hartl and Clark, 1989, Del Castillo and Trujillo 2008, Whitehead *et al.* 2018). Διαφορετικά συστήματα συζεύξεως επηρεάζουν τα επίπεδα και τη δυναμική της γενετικής ποικιλότητας, το αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμών και την πληθυσμιακή τους διαφοροποίηση. Δύνανται επομένως να επηρεάσουν συνολικά την ανάπαυση (resilience) και την προσαρμογή τους (Del Castillo and Trujillo 2008). Τα συστήματα συζεύξεως των φυτών συνήθως ορίζονται από το πρότυπο μικτής σύζευξης, όπου ένα μέρος των σπερμάτων και των δημιουργούμενων φυτών προέρχεται από διάφορα επίπεδα ομομειξίας και τα υπόλοιπα προέρχονται από τυχαία διασταύρωση (Ritland 2002). Πιο συγκεκριμένα η ετερογαμία (ή σταυρογονιμοποίηση), προωθεί τη γονιδιακή ροή, ομογενοποιεί τους πληθυσμούς, αυξάνει την ετεροζυγωτία και ευνοεί την γαμετική ισορροπία σύνδεσης (Del Castillo and Trujillo 2008). Ο όρος ετερογαμία αναφέρεται στη διασταύρωση μη συγγενικών ατόμων και είναι το αντίθετο της ομομειξίας (Aravanopoulos 2011). Η αναλογία σταυρογονιμοποίησης πολλαπλών γονιδιακών θέσεων (t_m) είναι μία εκτίμηση του ποσοστού των απογόνων που παράγονται από τον πληθυσμό στο σύνολο του, στο οποίο η ετερογαμία περιλαμβάνει σύζευξη μεταξύ συγγενικών ή μη ατόμων. Μια διαφορά στην τιμή της παραμέτρου σε βάθος χρόνου, π.χ. αύξηση της αναλογίας σταυρογονιμοποίησης πολλαπλών γονιδιακών θέσεων του πληθυσμού (t_m), αποτελεί ένδειξη της διατήρησης (αν όχι αύξησης), της γενετικής ποικιλότητας που εκτιμάται σε μεμονωμένες θέσεις, αποτέλεσμα που πιθανότατα θα οδηγήσει στη διατήρηση της προσαρμοστικής ικανότητας του πληθυσμού.

Επαληθευτής: Ποσοστό πραγματικής ομομειξίας

Η εκτίμηση του ποσοστού πραγματικής ομομειξίας (για μία και πολλαπλές γονιδιακές θέσεις), βασίζεται σε γενετικά δεδομένα και δεδομένα από την καρποφορία (Rajora *et al.* 2000a, 2002, O' Connell *et al.* 2006). Είναι μια σημαντική παράμετρος, καθώς π. χ. μια αύξηση του ποσοστού ομομειξίας, μπορεί να οδηγήσει σε εγκαθίδρυση αλληλομόρφων ως μοναδικών για μια γονιδιακή θέση στον πληθυσμό (allelic fixation) και στη μείωση της γενετικής ποικιλότητας του πληθυσμού. Η εκτίμηση των ποσοστών ομομειξίας μπορεί να βασίζεται σε δείκτες, ωστόσο, καθώς ο πιθανός ομομεικτικός εκφυλισμός δύναται να επηρεάσει αρνητικά την ανάπτυξη και τη φύτευση των σπερμάτων, το ποσοστό πραγματικής ομομειξίας είναι πιο αξιόπιστο. Ο ρυθμός πραγματικής ομομειξίας υπολογίζεται συνδυάζοντας τις εκτιμήσεις αυτογονιμοποίησης ($1 - t_m$) από την ανάλυση των συστημάτων συζεύξεως και τις εκτιμήσεις ομομειξίας με βάση γνωρίσματα των σπερμάτων. Υπολογίζεται από την αναλογία: [αριθμός κενών σπερμάτων ανά καρπό + (αριθμός πλήρων σπερμάτων ανά καρπό × ποσοστό αυτογονιμοποίησης)] / [αριθμός ομομεικτικών σπερμάτων ανά καρπό + αριθμός πλήρων σπερμάτων ανά καρπό].

Επιπλέον πληροφορία: Αποτελεσματικός αριθμός δοτών γύρης (N_{ep})

Ο αποτελεσματικός αριθμός των δοτών γύρης είναι ο αριθμός των δοτών γύρης που συμβάλλουν σε κάθε οικογένεια από ελεύθερη επικονίαση. Επειδή οι δότες γύρης δεν εκπροσωπούνται εξίσου μεταξύ των απογόνων, αυτός ο αριθμός είναι συχνά πολύ μικρότερος από τον απόλυτο αριθμό των δοτών γύρης (Ritland 1989, Smouse and Sork 2004, Sork and Smouse 2006). Εάν ο αριθμός των δοτών γύρης είναι μικρός, η επόμενη γενιά μπορεί να είναι λιγότερο γενετικά διαφοροποιημένη (Apsit *et al.* 2002). Δεδομένα σχετικά με την πιθανότητα οι απόγονοι να μοιράζονται τον ίδιο πατρικό γονέα, δύνανται να αποκαλύψουν την έκταση της ποικιλότητας στο γονιδιακό απόθεμα των δοτών γύρης και παρέχουν έναν δείκτη του δραστικού αριθμού των δοτών γύρης (N_{ep}) για ένα δεδομένο μητρικό φυτό (Ritland 1989). Για σταυρογονιμοποιούμενα είδη, ο αποτελεσματικός αριθμός δοτών γύρης μπορεί να είναι ένας πιο ευαίσθητος δείκτης των συζεύξεων από το ποσοστό ετερογαμίας. Για παράδειγμα, ακόμη και ένα μη συγγενικό δέντρο σε σχέση με τα υπόλοιπα του υπό μελέτη πληθυσμού αρκεί ώστε να εξασφαλισθεί η ετερογαμία, ωστόσο είναι πολύ σημαντικό να γνωρίζουμε εάν η σταυρογονιμοποίηση αντιπροσωπεύει λίγα ή πολλά άλλα δέντρα.

Επιπλέον πληροφορία: Αμφιγονεϊκή ομομιξία

Η ομομιξία είναι ένας από τους βασικούς παράγοντες που επηρεάζουν την εξέλιξη πολλών πληθυσμών φυτών και ζώων (Porcher and Lande 2016). Η ομομιξία έχει πολλές αρνητικές συνέπειες, για παράδειγμα μπορεί να μειώσει το αποτελεσματικό μέγεθος του πληθυσμού (Paland and Schmid 2003, Tallmon *et al.* 2004) και την ταχύτητα προσαρμογής των πληθυσμών (Glémin and Ronfort 2013). Η ομομιξία σε μόνοικα φυτά μπορεί να προκύψει μέσω δύο διαφορετικών μηχανισμών: (1) ως αμφιγονεϊκή ομομιξία, όταν ένα φυτό διασταυρώνεται με συγγενές άτομο, ή (2) ως αυτογονιμοποίηση (Furstenau and Cartwright 2017). Η αμφιγονεϊκή ομομιξία ή διασταύρωση μεταξύ συγγενών ατόμων, συμβαίνει σε διάφορες συχνότητες σε πολλούς φυσικούς πληθυσμούς φυτών, οι οποίοι συχνά παρουσιάζουν επίσης σημαντικά ποσοστά αυτογονιμοποίησης (Ritland 2002, Porcher and Lande 2016). Η αμφιγονεϊκή ομομιξία οδηγεί σε αυξημένη ομοζυγωτία σε αντίθεση με τις τυχαίες διασταυρώσεις (Ritland 2002).

Βιβλιογραφία

- Alizoti PG, Kilimis K, Gallios P (2010) Temporal and spatial variation of flowering among *Pinus nigra* Arn. clones under changing climatic conditions. For Ecol Manag 259:786–797. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.06.029>
- Apsit VJ, Dyer RJ, Sork VL (2002) Patterns of mating in an insect-pollinated tree species in the Missouri Ozark Forest Ecosystem Project. In: Shifley SR; Kabrick JM (eds) Proceedings of the Second Missouri Ozark Forest Ecosystem Project Symposium: Post-treatment results of the landscape experiment. General Technical Report NC-227. US Dept of Agriculture, Forest Service, North Central Forest Experiment Station, St. Paul, MN, pp 212-226. <https://doi.org/10.2737/NC-GTR-227>
- Aravanopoulos FA (2011) Genetic monitoring in natural perennial plant populations. Botany 89:75-81. <https://doi.org/10.1139/B10-087>
- Aravanopoulos FA (2016) Conservation and monitoring of tree genetic resources in temperate forests. Curr For Rep 2(2):29-119. <https://doi.org/10.1007/s40725-016-0038-8>
- Aravanopoulos FA, Tollefsrud MM, Kätzel R, Soto A, Graudal L, Nagy L, Koskela J, Bozzano M, Pilipovic A, Zhelev P, Božič G (2015) Development of genetic monitoring methods for genetic conservation units of forest trees in Europe. European Forest Genetic Resources Programme (EUFORGEN), Bioversity International, Rome, Italy
- Bergmann F, Gregorius HR, Larsen JB (1990) Levels of genetic variation in European Silver fir (*Abies alba*) - Are They Related to the Species Decline? Genetica 82(1):1-10. <https://doi.org/10.1007/BF00057667>
- Bhumibhamon S (1978) Studies on Scots pine seed orchards in Finland with special emphasis on the genetic composition of the seed. Commun Inst For Fenn 94:1–118
- Boyle TJ (2000) Criteria and indicators for the conservation of genetic diversity. In: Young A, Boshier T, Boyle T (eds) Forest conservation genetics. CSIRO Publ., Collingwood, pp 239-251
- Brown AHD, Schoen DJ (1992) Plant population genetic structure and biological conservation. In: Sandlund OT, Hindar K, Brown AHD (eds) Conservation of Biodiversity for Sustainable Development Scandinavian University Press, Oslo, pp 88-104.
- Burczyk J, DiFazio SP, Adams WT (2004) Gene flow in forest trees: How far do genes really travel? For Genet 11:179-192
- Chaine I (2010) Why does phenology drive species distribution? Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 365:3149–3160. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0142>
- de Melo RB, Franco AC, Silva CO, Piedade MTF, Ferreira CS (2015) Seed germination and seedling development in response to submergence in tree species of the Central Amazonian floodplains. AoB Plants 7:plv041. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plv041>
- Del Castillo RF, Trujillo S (2008) Effect of inbreeding depression on outcrossing rates among populations of a tropical pine. New Phytol 177:517-524. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02260.x>
- Ducci F, De Cuyper B, Pâques LE, Proietti R, Wolf H (2012) Reference protocols for assessment of trait and reference genotypes to be used as standards in international research projects. CRA SEL, Arezzo, Italy
- El-Kassaby YA, Fashler AMK, Sziklai O (1984) Reproductive phenology and its impact on genetically improved seed production in a Douglas-fir seed orchard. Silvae Genet 33:120–125.
- El-Kassaby YA, Ritland L, Fashler AMK, Devitt D (1988) The role of reproductive phenology upon the mating system of a Douglas-fir seed orchard. Silvae Genet 37: 76–82

- Feld CK, da Silva PM, Sousa JP, De Bello F, Bugter R, Grandin U, Hering D, Lavorel S, Mountford O, Pardo I, Pärtel M, Römbke J, Sandin L, Jones KB, Harrison P (2009) Indicators of biodiversity and ecosystem services: a synthesis across ecosystems and spatial scales. *OIKOS* 118:1862-1871. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2009.17860.x>
- Furstenau TN, Cartwright RA (2017) The impact of self-incompatibility systems on the prevention of biparental inbreeding. *PeerJ* 5:e4085. <https://doi.org/10.7717/peerj.4085/supp-1>
- Geburek T (2004) Die Weitergabe genetischer Information - eine wichtige Komponente bei der Waldverjüngung. *BFW-Praxisinformation* 4:18-20.
- Glémin S, Ronfort J (2013) Adaptation and maladaptation in selfing and outcrossing species: new mutations versus standing variation. *Evolution* 67:225-240. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2012.01778.x>
- Graudal L, Aravanopoulos F, Bennadji Z, Changtragoon S, Fady B, Kjær ED, Loo J, Ramamonjisoa L, Vendramin GG (2014) Global to local genetic diversity indicators of evolutionary potential in tree species within and outside forests. *For Ecol Manag* 333:35-51. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2014.05.002>
- Gregorius HR, Krauhausen J, Müller-Starck G (1986) Spatial and temporal genetic differentiation among the seed in a stand of *Fagus sylvatica* L. *Heredity* 57:255-262. <https://doi.org/10.1038/hdy.1986.116>
- Hartl DL, Clark AG (1989) Principles of population genetics, 2nd edn. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA
- Konnert M, Maurer W, Degen B, Kätzel R (2011) Genetic monitoring in forests - early warning and controlling system for ecosystemic changes. *Iforest* 4:77-81. <https://doi.org/10.3832/ifor0571-004>
- Leroy T, Roux C, Villate L, Bodénès C, Romiguier J, Paiva JAP, Dossat C, Aury JM, Plomion C, Kremer A, (2017) Extensive recent secondary contacts between four European white oak species. *New Phytol* 214:865-878. <https://doi.org/10.1111/nph.14413>
- Mallet J (2001) Gene flow. In: Woiwod IP, Reynolds DR, Thomas CD (eds) Insect movement: Mechanisms and consequences: Proceedings of the Royal Entomological Society's 20th Symposium. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp 337-360
- Merriam-Webster (n.d.) "Outcrossing". *Merriam-Webster.com Dictionary*. <https://www.merriam-webster.com/dictionary/outcrossing>. Accessed 16 December 2019
- Merriam-Webster Inc. (2003) Merriam-Webster's collegiate dictionary, 11th edn. Merriam-Webster Incorporated, Springfield, Massachusetts, USA
- Müller-Starck G (1995) Genetic variation in high elevated populations of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) in Switzerland. *Silvae Genet* 44:356-361
- Müller-Starck G., Ziehe M., Schubert R. (2005) Genetic diversity parameters associated with viability selection, reproductive efficiency, and growth in forest tree species. In: Scherer-Lorenzen M, Körner C, Schulze ED (eds) Forest diversity and function. Ecological studies (Analysis and synthesis), vol 176. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 87-108. https://doi.org/10.1007/3-540-26599-6_5
- Mund M, Kutsch WL, Wirth C, Kahl T, Knohl A, Skomarkova MV, Schulze ED (2010) The influence of climate and fructification on the inter-annual variability of stem growth and net primary productivity in an old-growth, mixed beech forest. *Tree Physiol* 30:689-704. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpq027>
- Namkoong G, Boyle T, Gregorius HR, Joly H, Savolainen O, Ratman W, Young A (1996) Testing criteria and indicators for assessing the sustainability of forest management: genetic criteria and indicators. Working paper No. 10. Centre for International Forestry Research, Bogor, Indonesia. <https://doi.org/10.17528/cifor/000070>
- Neale DB, Wheeler NC (2019) Hybridization and Introgression. In: The Conifers: Genomes, Variation and Evolution. Springer, Cham, pp 387-429. https://doi.org/10.1007/978-3-319-46807-5_15
- O'Connell LM, Mosseler A, Rajora OP (2006) Impacts of forest fragmentation on the mating system and genetic diversity of white spruce (*Picea glauca*) at the landscape level. *Heredity* 97 (6): 418-426. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800886>.
- Paland S, Schmid B (2003) Population size and the nature of genetic load in *Gentianella germanica*. *Evolution* 57:2242-2251. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb00236.x>
- Porcher E, Lande R (2016) Inbreeding depression under mixed outcrossing, self-fertilization and sib-mating. *BMC Evol Biol* 16:105. <https://doi.org/10.1186/s12862-016-0668-2>
- Rajora OP, Mosseler A, Major JE (2000) Indicators of population viability in red spruce, *Picea rubens*. II. Genetic diversity, population structure, and mating behavior. *Can J Bot* 78:941-956. <https://doi.org/10.1139/b00-066>
- Rajora OP, Mosseler A (2001) Challenges and opportunities for conservation of forest genetic resources. *Euphytica* 118:197-212. <https://doi.org/10.1023/A:1004150525384>
- Rajora, O.P., Mosseler, A., and Major, J.E. 2002. Mating system and reproductive fitness traits of eastern white pine (*Pinus strobus*) in large, central versus small, isolated, populations. *Can. J. Bot.* 80(11): 1173-1184. doi:10.1139/B02-105.
- Rao NK, Hanson J, Dulloo ME, Ghosh K, Nowell D, Larinde M (2006) Manual of seed handling in genebanks. Handbooks for Genebanks No. 8. Bioersivity International, Rome, Italy

- Ritland K (1989) Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. *Evolution* 43:848-859. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1989.tb05182.x>
- Ritland K (2002) Extensions of models for the estimation of mating systems using n independent loci. *Heredity* 88:221-228. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800029>
- Seifert T, Müller-Starck G (2009) Impacts of fructification on biomass production and correlated genetic effects in Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.). *Eur J For Res* 128:155. <https://doi.org/10.1007/s10342-008-0219-5>
- Selås V, Piovesan G, Adams JM, Bernabei M (2002) Climatic factors controlling reproduction and growth of Norway spruce in southern Norway. *Can J For Res* 32:217-225. <https://doi.org/10.1139/x01-192>
- Smouse PE, Sork VL (2004) Measuring pollen flow in forest trees: An exposition of alternative approaches. *For Ecol Manag* 197:21-38. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.05.049>
- Soltis P S, Soltis DE (2009) The role of hybridization in plant speciation. *Annu Rev Plant Biol* 60:561-588. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.043008.092039>
- Sork VL, Smouse PE (2006) Genetic analysis of landscape connectivity in tree populations. *Landsc Ecol* 21:821-836. <https://doi.org/10.1007/s10980-005-5415-9>
- Sparks TH, Butchart SHM, Balmford A, *et al.* (2011) Linked indicator sets for addressing biodiversity loss. *Oryx* 45:411-419. <https://doi.org/10.1017/S003060531100024X>
- Stebbins GL, Hartl DL (1988) Comparative evolution: Latent potentials for anagenetic advance. *Proc Natl Acad Sci USA* 85(14):5141-5145
- Tallmon DA, Luikart G, Beaumont MA (2004) Comparative evaluation of a new effective population size estimator based on approximate Bayesian computation. *Genetics* 167:977-988. <https://doi.org/10.1534/genetics.103.026146>
- Encyclopaedia Britannica (2019) »Gene flow«. *Encyclopædia Britannica*. <https://www.britannica.com/science/gene-flow>. Accessed 16 December 2019
- The International Seed Testing Association (ISTA) (2020) International Rules for Seed Testing. Bassersdorf, Switzerland. <https://doi.org/10.15258/istarules.2020.F>
- UNEP/WCMC (2011) National Indicators, Monitoring and Reporting for the Strategic Plan for Biodiversity 2011-2020
- Vit P, Wolfova K, Urfus T, Tajek P, Suda J (2014) Interspecific hybridization between rare and common plant congeners inferred from genome size data: assessing the threat to the Czech serpentine endemic *Cerastium alsinifolium*. *Preslia* 86:95-117
- Wang Z, Wang L, Liu Z, Li Y, Liu Q, Liu B (2016) Phylogeny, seed trait, and ecological correlates of seed germination at the community level in a degraded sandy grassland. *Front Plant Sci* 17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01532>
- Weir BS (1979) Inferences about linkage disequilibrium. *Biometric* 35(1):235-254. <https://doi.org/10.2307/2529947>
- Whitehead MR, Lanfear R, Mitchell RJ, Karron JD (2018). Plant mating systems often vary widely among populations. *Front Ecol Evol* 6. <https://doi.org/10.3389/fevo.2018.00038>



Κεφάλαιο 5

ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΠΕΔΙΟΥ

Darius KAVALIAUSKAS¹, Barbara FUSSI¹, Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ², Παρασκευή ΑΛΙΖΩΤΗ, Marjana WESTERGRENN³, Marko BAJC³, Rok DAMJANIĆ³, Natalija DOVČ³, Ερμιόνη ΜΑΛΛΙΑΡΟΥ², Ευαγγελία ΑΒΡΑΜΙΔΟΥ⁴, Dalibor BALLIAN^{3,5}, Παύλος ΜΠΕΚΙΑΡΟΓΛΟΥ⁶, Gregor BOŽIČ³, Andrej BREZNIKAR⁷, Παύλος ΧΑΣΙΛΙΔΗΣ⁶, Άννα-Μαρία ΦΑΡΣΑΚΟΓΛΟΥ^{2,8}, Domen FINŽGAR^{3,9}, Ιωάννης ΓΑΝΟΠΟΥΛΟΣ^{2,10}, Φώτιος ΚΙΟΥΡΤΣΗΣ⁶, Monika KONNERT¹, Nataša ŠIBANC³, Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ², Hojka KRAIGHER³

Απόδοση στα ελληνικά:

Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ, Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ, Φανή ΛΥΡΟΥ

Βιβλιογραφική αναφορά: Kavaliauskas κ. ά. (2020) Εργασίες πεδίου. Στο: Βαϊς κ. ά. (Επιμ.) Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας: Silva Slovenica Publishing Centre, Λιουμπλιάνα, σσ. 51-72. <http://dx.doi.org/10.20315/SFS.167>

Εταίροι και συνεργαζόμενοι Φορείς:

1. Βαυαρικό Γραφείο Δασικής Γενετικής (AWG), Γερμανία
2. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), Ελλάδα
3. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας (GIS), Σλοβενίας
4. Τρέχουσα διεύθυνση: Ινστιτούτο Μεσογειακών Δασικών Οικοσυστημάτων, ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ, Ελλάδα
5. Σχολή Δασολογίας, Πανεπιστήμιο Σαράγιεβο, Βοσνία και Ερζεγοβίνη
6. Αποκεντρωμένη Διοίκηση Μακεδονίας Θράκης, Γενική Διεύθυνση Δασών & Αγροτικών Υποθέσεων, Ελλάδα
7. Δασική Υπηρεσία Σλοβενίας (SFS), Σλοβενία
8. Ευρωπαϊκό Δίκτυο Δασικών Γενετικών Πόρων (EUFORGEN), Ευρωπαϊκό Ινστιτούτο Δασικών Ερευνών (EFI), Ισπανία
9. Ινστιτούτο Εξελικτικής Βιολογίας, Πανεπιστήμιο του Εδιμβούργου, Ηνωμένο Βασίλειο
10. Τρέχουσα διεύθυνση: Ινστιτούτο Γενετικής Βελτίωσης και Φυτογενετικών Πόρων, ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ, Ελλάδα

5.1 Εισαγωγή

Το κεφάλαιο αυτό, περιλαμβάνει λεπτομερείς οδηγίες σχετικά με τον τρόπο προετοιμασίας και διεξαγωγής τακτικών εργασιών πεδίου στο πλαίσιο του συστήματος της Γενετικής Παρακολούθησης Δασών (ΓΠΔ), μετά την επιλογή και ίδρυση επιφάνειας ΓΠΔ. Ο φόρτος εργασιών στην επιφάνεια ΓΠΔ εξαρτάται από το επίπεδο ΓΠΔ, βασικό, τυπικό ή προχωρημένο, (π.χ. φαινολογικές παρατηρήσεις, αξιολόγηση θνησιμότητας, αξιολόγηση αφθονίας ΦΑ, δειγματοληψία κ.λπ.). Για να εξασφαλιστεί η επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων, οι εργασίες πεδίου και συλλογής δεδομένων πρέπει να είναι βελτιστοποιημένες και τυποποιημένες ώστε να συμπληρώνουν και να επιβεβαιώνουν τις πληροφορίες που λαμβάνονται από τις εργαστηριακές αναλύσεις. Επομένως, τα λεπτομερή σχέδια εργασιών πεδίου είναι υψίστης σημασίας για τη ΓΠΔ. Συνολικά, οι τακτικές εργασίες πεδίου για τη ΓΠΔ μπορούν να πραγματοποιηθεί από μεσοδασικό προσωπικό, δασολόγους ή ερευνητές μετά από σχετική προετοιμασία και εκπαίδευση.

5.2 Επαληθευτές και επιπλέον πληροφορίες που καταγράφονται / μετρούνται στο πεδίο

Ο κατάλογος επαληθευτών και επιπλέον πληροφοριών οι οποίες πρέπει να καταγράφονται κατά τη διάρκεια των εργασιών πεδίου σε διαφορετικά επίπεδα ΓΠΔ (βασικό, τυπικό και προχωρημένο) παρουσιάζονται στον πίνακα 5.1. (παράδειγμα από τις κατευθυντήριες οδηγίες ΓΠΔ της ευρωπαϊκής οξιάς).

Πίνακας 5.1: Κατάλογος επαληθευτών και επιπλέον πληροφοριών προς καταγραφή, με σύντομη περιγραφή και συχνότητα παρατήρησης, κατά τις εργασίες πεδίου στις επιφάνειες γενετικής παρακολούθησης οξυάς.

Όνομα	Βασικό επίπεδο	Τυπικό επίπεδο	Προχωρημένο επίπεδο	
Επαληθευτές	Θνησιμότητα / επιβίωση	Ενήλικα δέντρα: Καταμέτρηση των εναπομεινάντων υπό παρακολούθηση δέντρων κάθε 10 χρόνια και μετά από κάθε ακραίο καιρικό φαινόμενο / διαταραχή	Το ίδιο με το βασικό επίπεδο	Το ίδιο με το βασικό επίπεδο
	Ανθοφορία	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας, κάθε χρόνο	Ατομική παρατήρηση σε επίπεδο μεμονωμένου δέντρου, κατά τη διάρκεια δύο κυρίων συμβάντων ανθοφορίας ανά δεκαετία, ιδανικά σε ίση απόσταση μεταξύ τους *	Ατομική παρατήρηση σε επίπεδο μεμονωμένου δέντρου, κατά τη διάρκεια δύο κυρίων συμβάντων ανθοφορίας ανά δεκαετία, ιδανικά σε ίση απόσταση μεταξύ τους *
	Καρποφορία	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας, κάθε χρόνο	Ατομική παρατήρηση σε επίπεδο μεμονωμένου δέντρου, την ίδια χρονιά με την αξιολόγηση της ανθοφορίας στο τυπικό επίπεδο (ανεξάρτητα από την ένταση της καρποφορίας) *	Καταμέτρηση καρπών, κατά τα ίδια έτη με την αξιολόγηση της ανθοφορίας σε προχωρημένο επίπεδο, ανεξάρτητα από την ένταση της καρποφορίας * Επιπλέον, σπέρματα συλλέγονται για εργαστηριακές αναλύσεις σε κάθε συμβάν καρποφορίας το οποίο αξιολογείται
	Αφθονία φυσικής αναγέννησης	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας, κάθε χρόνο	Καταμέτρηση φυταρίων κατά το 1ο και το 6ο έτος μετά από κάθε εκτίμηση ενός συμβάντος καρποφορίας	Καταμέτρηση φυταρίων κατά το 1°, 6°, 11ο και 16° έτος μετά από κάθε εκτίμηση ενός συμβάντος καρποφορίας
Επιπλέον πληροφορίες	Κατανομή κλάσεων στηθιαίας διαμέτρου	/	Μέτρηση κάθε 10 έτη	Το ίδιο με το τυπικό επίπεδο
	Κατανομή κλάσεων ύψους	/	Μέτρηση κάθε 10 έτη	Το ίδιο με το τυπικό επίπεδο
	Έκπτυξη οφθαλμών	/	Ατομική παρατήρηση σε επίπεδο μεμονωμένου δέντρου κάθε 5 χρόνια	Ατομική παρατήρηση σε επίπεδο μεμονωμένου δέντρου, κάθε χρόνο
	Φθινοπωρινός μαρασμός	/	Ατομική παρατήρηση σε επίπεδο μεμονωμένου δέντρου κάθε 5 χρόνια	Ατομική παρατήρηση σε επίπεδο μεμονωμένου δέντρου, κάθε χρόνο
	Συγχρονισμός ανθοφορίας	/	/	Ατομική παρατήρηση σε επίπεδο μεμονωμένου δέντρου, κατά τη διάρκεια κάθε κύριας εκδήλωσης ανθοφορίας που έχει αξιολογηθεί

* Ιδανικά, τουλάχιστον ένα έτος πληροκαρπίας θα πρέπει να αξιολογείται ανά δεκαετία. Ωστόσο, ένα έτος μαζικής ανθοφορίας δεν οδηγεί απαραίτητα σε έτος πληροκαρπίας. Εάν η πληροκαρπία δεν ακολουθεί το αξιολογημένο συμβάν ανθοφορίας, η αξιολόγηση τόσο της ανθοφορίας όσο και της καρποφορίας πρέπει να επαναληφθεί κατά τη διάρκεια του επόμενου έτους μαζικής ανθοφορίας, ανεξάρτητα από το χρόνο που μεσολάβησε μεταξύ των διαδοχικών κύριων συμβάντων ανθοφορίας. Οι παρατηρήσεις βασικού επιπέδου χρησιμοποιούνται για τον εντοπισμό κύριων συμβάντων ανθοφορίας και πληροκαρπίας.

5.2.1 Επαληθευτής: Θνησιμότητα / Επιβίωση

Μια αλλαγή στη θνησιμότητα ή στην επιβίωση (θνησιμότητα = 1 - επιβίωση) **υποδηλώνει μια υποκείμενη πίεση επιλογής, δηλαδή αφανισμό όταν αυξάνεται η τιμή της θνησιμότητας**. Ο λόγος θνησιμότητα / επιβίωση αναφέρεται στον αριθμό των δέντρων που έχουν νεκρωθεί σε σύγκριση με το επίπεδο αναφοράς (και την προηγούμενη εκτίμηση). Το αίτιο της νέκρωσης θα πρέπει να διερευνάται και να καταγράφεται όποτε αυτό καθίσταται δυνατό (ακραία καιρικά φαινόμενα, ασθένεια, ηλικία, κ.λπ.). Συνιστάται η επικοινωνία με τους αρμόδιους δασολόγους ώστε να διαπιστωθεί η αιτία της νέκρωσης και η χωρική κλίμακα στην οποία αυτή εντοπίζεται (και επομένως ο έλεγχος εάν η αυξημένη θνησιμότητα είναι τοπικού ή ευρύτερου χαρακτήρα)

5.2.1.1 Ενήλικα δέντρα

Ο επαληθευτής για τη θνησιμότητα των **ενήλικων δέντρων** υπολογίζεται μετρώντας τα εναπομείναντα ζωντανά δέντρα κάθε 10 χρόνια και μετά από κάθε ακραίο καιρικό συμβάν / διαταραχή. Η θνησιμότητα ορίζεται ως η διαφορά μεταξύ του αρχικού αριθμού των υπό παρακολούθηση δέντρων και των εναπομεινάντων ζωντανών δέντρων από το σύνολο των αρχικών 50.

5.2.1.2 Φυσική αναγέννηση (ΦΑ)

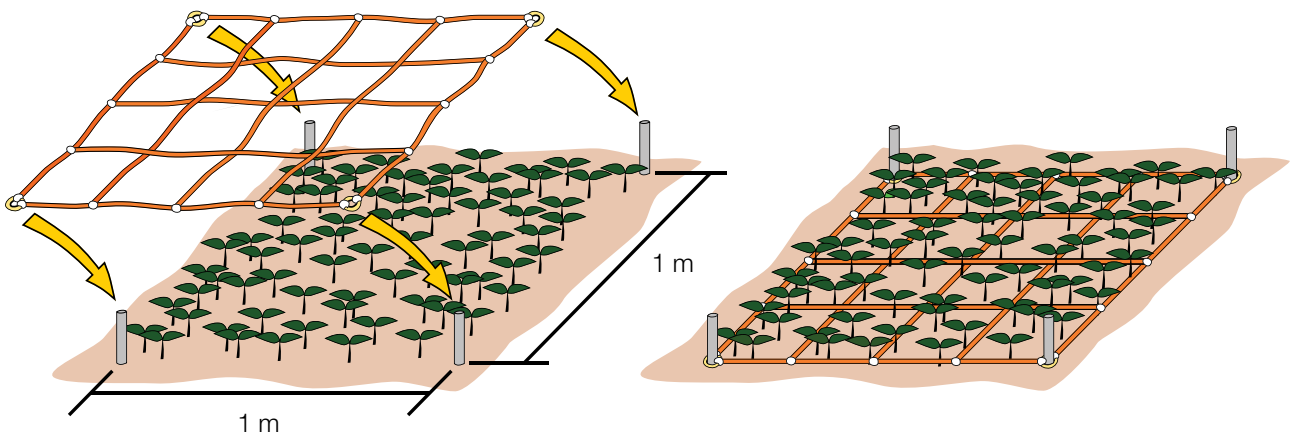
Ο λόγος θνησιμότητα / επιβίωση ΦΑ αξιολογείται μόνο στο τυπικό και το προχωρημένο επίπεδο. Υπολογίζεται από τον επαληθευτή της αφθονίας ΦΑ σε δύο διαδοχικές εκτιμήσεις (πραγματοποιούνται δύο φορές ανά δεκαετία, ιδανικά περίπου κάθε πέντε χρόνια).

5.2.2 Επαληθευτής: Αφθονία φυσικής αναγέννησης (ΦΑ)

Αυτός ο επαληθευτής περιγράφει την παρουσία και την αφθονία της ΦΑ στην επιφάνεια παρακολούθησης. Στο βασικό επίπεδο ο επαληθευτής καταγράφεται κάθε χρόνο το φθινόπωρο. Η άποψη τυχόν εμπειρογνομόνων χρησιμοποιείται για την εκτίμηση, λαμβάνοντας υπόψη την κατάσταση σε ολόκληρη την επιφάνεια παρακολούθησης. Θα πρέπει να καταγράφονται δύο τιμές, μία για νέα ΦΑ (φυτάρια τρέχοντος έτους) και μία για την υφιστάμενη αναγέννηση (δενδρύλλια που θα σχηματίσουν τη νέα συστάδα).

Στο τυπικό και προχωρημένο επίπεδο, ο επαληθευτής καταγράφεται μετρώντας φυτάρια σε καθεμία από τις 20 υποεπιφάνειες ΦΑ. Η μέτρηση ξεκινά το πρώτο φθινόπωρο μετά από ένα αξιολογημένο συμβάν καρποφορίας (π.χ. πληροκαρπίας) και επαναλαμβάνεται στο 5^ο φθινόπωρο στο τυπικό επίπεδο και στο 5^ο, 10^ο και 15^ο φθινόπωρο στο προχωρημένο επίπεδο. Ο χρόνος μεταξύ της καρποφορίας και της φύτευσης εξαρτάται από τη διάρκεια του λήθαργου στο εκάστοτε δασοπονικό είδος. Όλα τα φυτάρια που εντοπίζονται σε κάθε μία από τις 20 υποεπιφάνειες ΦΑ πρέπει να καταμετρηθούν. Τυχόν δενδρύλλια μεγαλύτερης ηλικίας που υπάρχουν στην υποεπιφάνεια ΦΑ, δεν πρέπει να συμπεριληφθούν. Κατά τη διάρκεια της επόμενης επανάληψης δειγματοληψιών, θα πρέπει να μετρηθούν μόνο τα δενδρύλλια της κατάλληλης ηλικίας – κατά το 5^ο έτος, τα 5-χρονα δενδρύλλια.

Καθώς περισσότερα του ενός δενδρύλλια / φυτάρια αναμένεται να βρίσκονται εντός του 1m² που ορίζεται μία υποεπιφάνεια ΦΑ, η χρήση της μεθόδου «πλέγματος» κατά την καταμέτρηση – δηλ. η διαίρεση της υποεπιφάνειας σε μικρότερα τετράγωνα – προτείνεται για την υποβοήθηση της διαδικασίας. Ένας απλός και αποδοτικός τρόπος για να επιτευχθεί αυτό είναι η συναρμολόγηση ενός πλέγματος από λεπτό σχοινί (σπάγκο), οι γωνίες του οποίου μπορούν να προσαρμοστούν στους μεταλλικούς πασσάλους που ορίζουν τις γωνίες των υποεπιφανειών ΦΑ. (Σχήμα 5.1, υποκεφάλαιο 3.2.3.2)



Σχήμα 5.1: Η καταμέτρηση δενδρυλλίων / φυταρίων για την εκτίμηση της αφθονίας ΦΑ πραγματοποιείται ευκολότερα με τη χρήση ενός συστήματος πλέγματος. Ένα πλέγμα από σπάγκο προσαρμόζεται στους πασσάλους που ορίζουν τις γωνίες της υποεπιφάνειας ΦΑ. Τα φυτά σε κάθε κελί καταμετρώνται ξεχωριστά και το άθροισμα τους δίνει το σύνολο των φυτών εντός της υποεπιφάνειας ΦΑ. Η καταμέτρηση υποβοηθείται με αυτό τον τρόπο καθώς είναι αρκετά ευκολότερη η καταγραφή των φυτών που έχουν ήδη καταμετρηθεί σε μια μικρή επιφάνεια παρά στη συνολική επιφάνεια.

5.2.3 Επιπλέον πληροφορία: Κατανομή κλάσεων στηθιαίας διαμέτρου

Η στηθιαία διάμετρος DBH (σε cm) μετριέται σε ύψος περίπου 1,3 m από το έδαφος, δηλ. περίπου στο ύψος του στήθους ενός ενήλικου ανθρώπου, πάντα κάθετα στον άξονα του κορμού του δέντρου, χρησιμοποιώντας παχύμετρο ή εναλλακτικά μια μετροταινία για τη μέτρηση της περιφέρειας του δέντρου και στη συνέχεια υπολογίζεται η διάμετρος. Εάν χρησιμοποιείται παχύμετρο, θα πρέπει να ληφθούν δύο μετρήσεις - η μία κάθετα στην άλλη - και να υπολογιστεί ο μέσος όρος ώστε να αποφευχθεί μεροληψία λόγω ασύμμετρης διατομής του κορμού. Εάν ένα δέντρο φέρει πολλαπλούς κορμούς, μετρούνται όλες οι μεμονωμένες διαμέτροι κορμών και ο μέσος όρος υπολογίζεται και καταγράφεται. Επιπλέον πρέπει να σημειωθεί ότι το δέντρο φέρει πολλαπλούς κορμούς. Σε έντονο ανάγλυφο, η στηθιαία διάμετρος θα πρέπει να μετράται από την υψηλότερη πλευρά της πλαγιάς. Η κατανομή των κλάσεων στηθιαίας διαμέτρου (DBH) εκτιμάται ως μέρος των περιγραφικών στατιστικών στοιχείων των δεδομένων της συστάδας.

Εξοπλισμός που απαιτείται για μετρήσεις της στηθιαίας διαμέτρου:

- Παχύμετρο, ή εναλλακτικά μετροταινία, για τη μέτρηση της περιφέρειας του δέντρου και στη συνέχεια του υπολογισμού της διαμέτρου.

5.2.4 Επιπλέον πληροφορία: Κατανομή κλάσεων ύψους

Το ύψος (σε m με ένα δεκαδικό ψηφίο) μετράται από το έδαφος έως το υψηλότερο σημείο της κόμης, χρησιμοποιώντας ένα κλινόμετρο (κατά προτίμηση ένα κλινόμετρο λείζερ) ή μία τηλεσκοπική ράβδος μέτρησης (για νεαρά δέντρα).

Εξοπλισμός που απαιτείται για μετρήσεις ύψους:

- Υψόμετρο - κλινόμετρο/μετροταινία για μετρήσεις ύψους,
- Τηλεσκοπική ράβδος μέτρησης (για νεαρά δέντρα).

5.3 Παρατηρήσεις φαινολογίας

5.3.1 Εισαγωγή

Φαινολογία είναι η μελέτη του χρόνου εμφάνισης των βιολογικών διαδικασιών στα φυτά όπως η ανθοφορία και η έκπτυξη των φύλλων. Τα φαινολογικά χαρακτηριστικά (π.χ. έκπτυξη οφθαλμών, ανθοφορία κ.λπ.) εξαρτώνται από πολυάριθμους περιβαλλοντικούς παράγοντες (π.χ. διάρκεια και ένταση ψυχρών ή θερμών περιόδων που προηγούνται κ.λπ.), παράγοντες που σχετίζονται με τη φυσιολογία κ.α. που απαιτούνται για την έναρξη των διεργασιών, αλλά υπόκεινται επίσης σε ισχυρό γενετικό έλεγχο (Ducci *et al.* 2012). Δεδομένα σχετικά με το χρόνο εμφάνισης και τη διάρκεια ορισμένων φαινολογικών γεγονότων (έκπτυξη οφθαλμών, ανθοφορία, φθινοπωρινός μαρασμός κ.λπ.) παρέχουν σημαντικές πληροφορίες για την κατανόηση της πραγματικής κατάστασης των δέντρων και των πληθυσμών που αυτά σχηματίζουν στο μεταβαλλόμενο περιβάλλον. Μεταβολές στη χρονοσειρά των φαινολογικών συμβάντων μπορεί να προκληθούν από διάφορους παράγοντες, όπως διακυμάνσεις και μεταβολές στο κλίμα ή άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες, οι οποίες επηρεάζουν όχι μόνο την κατάσταση των μεμονωμένων δέντρων, αλλά και τις οικολογικές διεργασίες (π.χ. σύστημα συζεύξεως) σε επίπεδο συστάδας και πληθυσμού (Beuker *et al.* 2010). Απαιτούνται δεδομένα για τις φαινολογικές φάσεις (φαινοφάσεις) της έκπτυξης οφθαλμών, της ανθοφορίας, του φθινοπωρινού μαρασμού κ.λπ., για την ολοκληρωμένη αξιολόγηση διαφόρων θεμάτων της ΓΠΔ σε επίπεδο πληθυσμού. Η ικανότητα ενός δασοπονικού είδους να προσαρμόζεται στις αβιοτικές περιβαλλοντικές συνθήκες σε μακροπρόθεσμη κλίμακα μέσω μεταβολών στη φαινολογία, μπορεί να θεωρηθεί ως δείκτης της αντοχής του σε μελλοντικές κλιματικές μεταβολές. Ο κύριος στόχος των φαινολογικών παρατηρήσεων στις επιφάνειες ΓΠΔ είναι η παροχή συμπληρωματικών πληροφοριών σχετικά με την κατάσταση και την πρόοδο των φαινολογικών χαρακτηριστικών, τα οποία σχετίζονται με την ανάπτυξη των δέντρων που συγκροτούν τον πληθυσμό κατά τη διάρκεια του έτους. Δεδομένα τα οποία συλλέγονται κατά τη διάρκεια των φαινολογικών παρατηρήσεων συμβάλουν στη ΓΠΔ και επιτρέπουν τον προσδιορισμό της κατάστασης και των τάσεων των ετήσιων αναπτυξιακών σταδίων των δασικών πληθυσμών και τη διερεύνηση της εξάρτησής τους από διάφορους παράγοντες. Ο εντοπισμός τάσεων και πιθανών παραγόντων (φυσικών ή / και ανθρωπογενών) οι οποίοι προκαλούν μεταβολές στο χρόνο εμφάνισης και στη διάρκεια των φαινολογικών σταδίων (χρονικό σημείο έναρξης, διάρκεια περιόδου και ένταση), έχει μεγάλη σημασία (Beuker *et al.* 2010). Μεταβολές στη φαινολογία δασοπονικών ειδών ενδέχεται να οδηγήσουν σε διαταραχές στις διαδικασίες των οικοσυστημάτων και στις υπηρεσίες που αυτά προσφέρουν και οι οποίες συνδέονται άμεσα ή έμμεσα με την ανθρώπινη διαβίωση και ευημερία.

5.3.2 Φαινολογικοί επαληθευτές και επιπλέον πληροφορίες

5.3.2.1 Επαληθευτής: Ανθοφορία

Η φαινολογία της ανθοφορίας ορίζεται ως η μελέτη του χρονοδιαγράμματος της ανάπτυξης αρσενικών και θηλυκών ανθέων μέσω της καταγραφής των διάφορων φαινοφάσεων (Ducci *et al.* 2012). Η φαινολογία της ανθοφορίας είναι ένας παράγοντας καίριας σημασίας, καθώς επηρεάζει την αρμοστικότητα αναπαραγωγής των δέντρων, μέσω της ανταλλαγής γονιδίων μεταξύ των γενοτύπων καθορίζοντας με αυτόν τον τρόπο τη γενετική ποικιλότητα της σποροπαραγωγής και την επιτυχία επιβίωσης των παραγόμενων φυταρίων (Alizoti *et al.* 2010).

Οι οδηγίες για φαινολογικές παρατηρήσεις περιγράφουν το σύστημα βαθμολόγησης που προτείνεται να ακολουθηθεί για την αξιολόγηση των αναπτυξιακών φάσεων (φαινοφάσεις) αρσενικών και θηλυκών ανθέων από το στάδιο των ανθοφόρων οφθαλμών σε λήθαργο έως το στάδιο πλήρως αναπτυγμένων ανθέων / κώνων / στροβίλων. Οι φαινολογικές παρατηρήσεις λαμβάνουν υπόψη το φαινολογικό στάδιο (φαινοφάση), το τμήμα της κόμης του δέντρου από όπου γίνεται η καταγραφή (κορυφή, μέσο τμήμα, χαμηλότερο τμήμα) και τον προσανατολισμό των παρατηρήσεων (Β-βόρεια, ΒΑ-βορειοανατολικά, Α-ανατολικά, ΝΑ-νοτιοανατολικά, ΝΔ - νοτιοδυτικά, Δ - δυτικά, ΒΔ - βορειοδυτικά, ή περιμετρικά της κόμης). Τα δεδομένα χρησιμοποιούνται για την κατασκευή φαινογραμμάτων τα οποία υποδεικνύουν την έναρξη, τη διάρκεια και το πέρας των διαφορετικών φαινοφάσεων. Ο επαληθευτής περιγράφει την παρουσία (ποσοστό δέντρων) ανθοφορίας καθώς και την ένταση της.

Οδηγίες εργασιών πεδίου για την αξιολόγηση της ανθοφορίας στα διαφορετικά επίπεδα ΓΠΔ:

5.3.2.1.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κάθε χρόνο σε επίπεδο συστάδας με βάση τη γνωμοδότηση εμπειρογνομόνων. Η αξιολόγηση πραγματοποιείται όταν η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη. Η εκτίμηση της μέσης κατάστασης παρέχεται μέσω των παρατηρήσεων έπειτα από περιήγηση εντός όλης της έκτασης που καταλαμβάνει η επιφάνεια παρακολούθησης. Δίδονται δύο βαθμολογίες, μία για την ένταση της ανθοφορίας και μία για το ποσοστό των ανθισμένων δέντρων στην επιφάνεια (βλ. Πίνακες παρακάτω).

Κωδικός	Ένταση ανθοφορίας στο επίπεδο της συστάδας	Μέσο ποσοστό ανθοφορίας της κόμης (%)
1	Απουσία ανθοφορίας: Απουσία ή μόνο περιστασιακή ύπαρξη ανθέων στα δέντρα	0 – 10
2	Ασθενής ανθοφορία: Λίγα άνθη εμφανίζονται στα δέντρα.	> 10 – 30
3	Μέτρια ανθοφορία: Μέτριος αριθμός ανθέων εμφανίζεται στα δέντρα.	> 30 – 60
4	Ισχυρή ανθοφορία: Άφθονη ποσότητα ανθέων στα δέντρα.	> 60 – 90
5	Μαζική: Εξαιρετικά υψηλός αριθμός ανθέων στα δέντρα.	> 90

Κωδικός	Ποσοστό δέντρων στη συστάδα με το δεδομένο στάδιο έντασης ανθοφορίας (%)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

5.3.2.1.2 Τυπικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κατά τη διάρκεια δύο συμβάντων μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία, ιδανικά σε ίση χρονική απόσταση μεταξύ τους. Καταγράφεται με βάση την άποψη των εμπειρογνομόνων σε επίπεδο μεμονωμένου δέντρου στα 50 υπό παρακολούθηση δέντρα. Ένα συμβάν χαρακτηρίζεται ως μαζικής ανθοφορίας, όταν στο βασικό επίπεδο η ένταση ανθοφορίας είναι ισχυρή (κωδικός 4 ή 5) και το ποσοστό των δέντρων με τη δεδομένη ένταση ανθοφορίας είναι πάνω από 60% (κωδικός 4 ή 5). Η αξιολόγηση πραγματοποιείται όταν η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη. Παρέχεται μία βαθμολογία για κάθε δέντρο (βλ. παρακάτω πίνακα).

Λεπτομερείς οδηγίες εργασιών πεδίου:

1. Οι φαινολογικές παρατηρήσεις ανθοφορίας πραγματοποιούνται στα επιλεγμένα και επισημασμένα δέντρα ΓΠΔ (50 δέντρα ανά επιφάνεια ΓΠΔ).
2. Οι παρατηρήσεις θα πρέπει να γίνονται ξεχωριστά για κάθε δέντρο χρησιμοποιώντας κιάλια, ή μέσω ψηφιακής φωτογραφίας.
3. Το παρατηρούμενο τμήμα της κόμης πρέπει να αναγράφεται στο φύλλο δεδομένων (1. Κορυφή / 2. Μέσο τμήμα κόμης / 3. Κορυφή και Μέσο τμήμα κόμη). Όλη η κόμη, ή το ανώτερο τμήμα της, θα πρέπει να αξιολογηθεί εάν αυτό είναι δυνατόν.
4. Ο προσανατολισμός των παρατηρήσεων της κόμης θα πρέπει να αναγράφεται στο φύλλο δεδομένων (B- βόρεια / BA- βορειανατολικά / A- ανατολικά / NA- νοτιοανατολικά / N- νότια / ND- νοτιοδυτικά / Δ- δυτικά / BD- βορειοδυτικά / περιμετρικά της κόμης).
5. Αν μόνο ένα μέρος της κόμης είναι ορατό από μία κατεύθυνση, τότε το ίδιο τμήμα της κόμης και η ίδια κατεύθυνση θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν για τις φαινολογικές παρατηρήσεις για όλη τη διάρκεια του έτους, καθώς και για τα επόμενα έτη.

6. Η παρακολούθηση της ανθοφορίας πρέπει να πραγματοποιείται σε τακτά χρονικά διαστήματα μια φορά την εβδομάδα. Σε ορισμένα δασοπονικά είδη οι παρατηρήσεις ενδέχεται να επικαλύπτονται με τη φαινολογία της έκπτυξης των οφθαλμών.
7. Η ανθοφορία διαφορετικών δασοπονικών ειδών ενδέχεται να εκκινεί σε διαφορετικό χρόνο ανάλογα με τη βιολογία του κάθε είδους και τις περιβαλλοντικές συνθήκες.

Κωδικός	Περιγραφή	Ποσοστό ανθοφορίας της κόμης (%)
1	Απουσία ανθοφορίας: Απουσία ή μόνο περιστασιακή ύπαρξη ανθέων στα δέντρα	0 – 10
2	Ασθενής ανθοφορία: Λίγα άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτρια ανθοφορία: Μέτριος αριθμός ανθέων στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρή ανθοφορία: Άφθονη ποσότητα ανθέων στα δέντρα	> 60 – 90
5	Μαζική: Εξαιρετικά υψηλός αριθμός ανθέων στα δέντρα	> 90

5.3.2.1.3 Προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κατά τη διάρκεια δύο συμβάντων μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία, ιδανικά σε ίση χρονική απόσταση μεταξύ τους. Καταγράφεται με βάση την άποψη εμπειρογνομόνων σε επίπεδο μεμονωμένου δέντρου στα 50 υπό παρακολούθηση δέντρα. Ένα συμβάν χαρακτηρίζεται ως μαζικής ανθοφορίας, όταν στο βασικό επίπεδο η ένταση ανθοφορίας είναι ισχυρή (κωδικός 4 ή 5) και το ποσοστό των δέντρων με τη δεδομένη ένταση ανθοφορίας είναι πάνω από 60% (κωδικός 4 ή 5). Για την αξιολόγηση, απαιτούνται κατά μέσο όρο δύο επισκέψεις στην επιφάνεια. Η πρώτη επίσκεψη θα πρέπει να πραγματοποιείται αρκετά νωρίς ώστε να παρατηρούνται τα αρχικά στάδια της ανθοφορίας και η δεύτερη όταν η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη.

Διαφορετικά στάδια ανάπτυξης αρσενικής και θηλυκής ανθοφορίας παρέχονται για διαφορετικά δασοπονικά είδη. Αυτά μπορούν να βρεθούν στις κατευθυντήριες οδηγίες ΓΠΔ ειδών.

Κωδικός	Ποσοστό ανθοφορίας της κόμης (% , αρσενική και θηλυκή ανθοφορία μαζί)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

5.3.2.2 Επαληθευτής: Καρποφορία

Η ένταση και η περιοδικότητα της καρποφορίας μεταξύ διαδοχικών ετών πληροκαρπίας είναι ιδιαίτερες για κάθε είδος και ποικίλλουν ανάλογα με τις καιρικές συνθήκες, τη διαθεσιμότητα πόρων, την παρουσία επικονιαστών στην περίπτωση ανεμόγαμων ειδών, καθώς και τον γενετικό έλεγχο (Mund *et al.* 2010 και αναφορές εντός). Η έναρξη της καρποφορίας είναι επίσης σημαντικό στοιχείο το οποίο υποδεικνύει την αναπαραγωγική ωριμότητα του δέντρου καθώς αποτελεί ένδειξη ότι όλοι οι ενεργειακοί πόροι που μέχρι εκείνη τη στιγμή είχαν διατεθεί στην βλαστική ανάπτυξη και άμυνα, είναι πλέον διαθέσιμοι για την αναπαραγωγή (Seifert και Müller-Starck 2009).

Οι οδηγίες για φαινολογικές παρατηρήσεις στο πλαίσιο του έργου LIFEGENMON περιγράφουν το σύστημα βαθμολόγησης που προτείνεται να χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση της καρποφορίας. Οι φαινολογικές παρατηρήσεις λαμβάνουν υπόψη την περιοδικότητα και την ένταση της καρποφορίας. Τα δεδομένα συλλέγονται σε επίπεδο συστάδας ή ανά μεμονωμένο δέντρο, ανάλογα με το επίπεδο παρακολούθησης (βασικό/ τυπικό/ προχωρημένο). Ο επαληθευτής περιγράφει την παρουσία καρποφορίας και την αφθονία της.

Οδηγίες εργασιών πεδίου για την αξιολόγηση της καρποφορίας στα διαφορετικά επίπεδα ΓΠΔ:

5.3.2.2.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κάθε χρόνο σε επίπεδο συστάδας. Η εκτίμηση της μέσης κατάστασης παρέχεται μέσω των παρατηρήσεων έπειτα από μία περιήγηση σε όλη την έκταση της επιφάνειας παρακολούθησης. Δίδονται δύο βαθμολογίες, μία για την ένταση της καρποφορίας και μία για το ποσοστό των καρποφόρων δέντρων στην επιφάνεια.

Κωδικός	Ένταση καρποφορίας σε επίπεδο συστάδας	Μέσο ποσοστό καρπών στην κόμη (%)
1	Απουσία καρποφορίας: Απουσία ή μόνο περιστασιακή ύπαρξη καρπών στα δέντρα	0 – 10
2	Ασθενής καρποφορία: Λίγοι καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτρια καρποφορία: Μέτριος αριθμός καρπών στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρή καρποφορία: Άφθονη ποσότητα καρπών στα δέντρα	> 60 – 90
5	Μαζική: Εξαιρετικά υψηλός αριθμός καρπών στα δέντρα	> 90

Κωδικός	Ποσοστό δένδρων στην επιφάνεια με το δεδομένο στάδιο έντασης Καρποφορίας (%)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

5.3.2.2.2 Τυπικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται το ίδιο έτος με την αξιολόγηση της ανθοφορίας στο τυπικό επίπεδο (ανεξάρτητα από την ένταση της καρποφορίας), για τα περισσότερα δασοπονικά είδη (π.χ. για τα περισσότερα είδη πεύκης η ωρίμανση των κώνων και η απελευθέρωση των σπερμάτων πραγματοποιείται το δεύτερο έτος μετά την ανθοφορία), καταγράφοντας ιδανικά δύο συμβάντα καρποφορίας ανά δεκαετία. Η αξιολόγηση πραγματοποιείται σε επίπεδο μεμονωμένου δέντρου στα 50 υπό παρακολούθηση δέντρα.

Λεπτομερείς οδηγίες εργασιών πεδίου:

1. Οι φαινολογικές παρατηρήσεις καρποφορίας πραγματοποιούνται στα επιλεγμένα και επισημασμένα δέντρα ΓΠΔ (50 δέντρα ανά επιφάνεια ΓΠΔ).
2. Οι παρατηρήσεις θα πρέπει να γίνονται ξεχωριστά για κάθε δέντρο χρησιμοποιώντας κιάλια και το ποσοστό της κόμης που φέρει καρπούς / ώριμους κώνους πρέπει να καταγράφεται (βλ. Πίνακα παρακάτω).
3. Το παρατηρούμενο τμήμα της κόμης πρέπει να αναγράφεται στο φύλλο δεδομένων (1. Κορυφή / 2. Μέσο τμήμα κόμης / 3. Κορυφή και Μέσο τμήμα κόμη). Όλη η κόμη ή το ανώτερο τμήμα της θα πρέπει να αξιολογηθεί εάν αυτό είναι δυνατόν.
4. Ο προσανατολισμός των παρατηρήσεων της κόμης θα πρέπει να αναγράφεται στο φύλλο δεδομένων (B- βόρεια / BA- βορειανατολικά / A- ανατολικά/ NA- νοτιοανατολικά/ N- νότια / ND- νοτιοδυτικά / Δ- δυτικά / ΒΔ- βορειοδυτικά / περιμετρικά της κόμης).
5. Αν μόνο ένα μέρος της κόμης είναι ορατό από μία κατεύθυνση, τότε το ίδιο τμήμα της κόμης και η ίδια κατεύθυνση θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν για την φαινολογικές παρατηρήσεις για όλη τη διάρκεια του έτους, καθώς και για τα επόμενα έτη.
6. Η αξιολόγηση της καρποφορίας θα πρέπει να πραγματοποιείται μία φορά κατά την περίοδο σχηματισμού των καρπών και πριν από την πτώση και διασπορά των σπερμάτων.

Κωδικός Ένταση καρποφορίας	Ποσοστό της κόμης σε καρποφορία (%)
1 Απουσία καρποφορίας: Απουσία ή μόνο περιστασιακή ύπαρξη καρπών στα δέντρα	0 – 10
2 Ασθενής καρποφορία: Λίγοι καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3 Μέτρια καρποφορία: Μέτριος αριθμός καρπών στα δέντρα	> 30 – 60
4 Ισχυρή καρποφορία: Άφθονη ποσότητα καρπών στα δέντρα	> 60 – 90
5 Μαζική: Εξαιρετικά υψηλός αριθμός καρπών στα δέντρα	> 90

5.3.2.2.3 Προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται σε επίπεδο μεμονωμένου δέντρου στα 50 υπό παρακολούθηση δέντρα κατά τα ίδια έτη με την αξιολόγηση της ανθοφορίας στο προχωρημένο επίπεδο, ανεξάρτητα από την ένταση της καρποφορίας. Ο επαληθευτής καταγράφεται μετρώντας τους καρπούς με τη χρήση κιαλίων και η αξιολόγηση του θα πρέπει να πραγματοποιείται πριν την πτώση των καρπών. Η τελική μέτρηση προκύπτει από τον μέσο όρο τριών επαναλήψεων παρατήρησης. Σε κάθε επανάληψη ο παρατηρητής καταγράφει τον αριθμό των καρπών όπου ήταν δυνατό να μετρήσει σε 30 δευτερόλεπτα. Για όλα τα δέντρα, οι παρατηρήσεις θα πρέπει να βασίζονται σε παρατήρηση του ίδιου τμήματος της κόμης. Το ίδιο τμήμα κόμης θα πρέπει να χρησιμοποιείται για κάθε επόμενη αξιολόγηση του επαληθευτή. Το άνω τρίτο της κόμης προτιμάται από το κατώτερο και το μεσαίο τμήμα για μέτρηση. Καταγράφονται δύο τιμές, ο αριθμός των καρπών και το τμήμα της κόμης στο οποίο πραγματοποιήθηκε η αξιολόγηση.

Ιδανικά, ένα συμβάν πληροκαρπίας θα πρέπει να καταγράφεται μετά από παρατηρήσεις συμβάντων μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία. Ωστόσο, ένα συμβάν μαζικής ανθοφορίας δεν οδηγεί απαραίτητα σε ένα συμβάν πληροκαρπίας. Εάν κανένα συμβάν πληροκαρπίας δεν ακολουθεί το αξιολογημένο συμβάν ανθοφορίας, η αξιολόγηση τόσο της ανθοφορίας όσο και της καρποφορίας θα πρέπει να επαναληφθεί κατά τη διάρκεια του επόμενου συμβάντος μαζικής ανθοφορίας, ανεξάρτητα από το χρόνο που παρήλθε μεταξύ των διαδοχικών συμβάντων μαζικής ανθοφορίας. Οι παρατηρήσεις βασικού επιπέδου δύνανται να χρησιμοποιηθούν για τον εντοπισμό συμβάντων πληροκαρπίας. Ένα συμβάν πληροκαρπίας χαρακτηρίζεται έτσι, όταν η ένταση της καρποφορίας (όπως αυτή αξιολογείται στο βασικό επίπεδο) είναι ισχυρή (κωδικός 4 ή 5) και το ποσοστό των δέντρων με τη δεδομένη ένταση είναι πάνω από 60% (κωδικός 4 ή 5).

Αριθμός καρπών που μετρήθηκαν σε 30 δευτερόλεπτα (μέσος όρος 3 γύρων)

X

Κωδικός Τμήμα της κόμης όπου πραγματοποιήθηκαν οι παρατηρήσεις

- | | |
|---|----------------|
| 1 | Κατώτερο τμήμα |
| 2 | Μεσαίο τμήμα |
| 3 | Κορυφή |

5.3.2.3 Επιπλέον πληροφορία: Έκπτυξη οφθαλμών

Η έκπτυξη των οφθαλμών ορίζεται ως η περίοδος η οποία περιλαμβάνει όλα τα αναπτυξιακά στάδια, από τους οφθαλμούς σε λήθαργο έως την επιμήκυνση των βλαστών. Δεδομένα σχετικά με το χρονικό σημείο και τη διάρκεια του φαινομένου παρέχουν χρήσιμες πληροφορίες για την καλύτερη κατανόηση της κατάστασης των δέντρων και των πληθυσμών που αυτά σχηματίζουν, εν μέσω ενός μεταβαλλόμενου περιβάλλοντος.

Οι οδηγίες για φαινολογικές παρατηρήσεις έκπτυξης οφθαλμών περιγράφουν το σύστημα βαθμολόγησης το οποίο προτείνεται να ακολουθηθεί για την αξιολόγηση των αναπτυξιακών / φαινολογικών σταδίων που εκκινεί όταν οι οφθαλμοί είναι σε κατάσταση λήθαργου και διαρκεί έως την επιμήκυνση των βλαστών. Οι φαινολογικές παρατηρήσεις λαμβάνουν υπόψη το στάδιο της το στάδιο της φαινοφάσης και το ποσοστό της κόμης που επηρεάζεται. Η καταγραφή αυτών των επιπλέον πληροφοριών πραγματοποιείται μόνο στο τυπικό και το προχωρημένο επίπεδο.

Οδηγίες εργασιών πεδίου για την αξιολόγηση της έκπτυξης των οφθαλμών στα διαφορετικά επίπεδα ΓΠΔ:

5.3.2.3.1. Τυπικό επίπεδο

Στο τυπικό επίπεδο, η έκπτυξη των οφθαλμών καταγράφεται σε επίπεδο μεμονωμένου δέντρου στα 50 υπό παρακολούθηση δέντρα κάθε πέντε χρόνια. Για κάθε δέντρο δίδονται δύο εκτιμήσεις: το στάδιο της έκπτυξης και το ποσοστό της κόμης όπου παρατηρείται το φαινόμενο. Για τη γραφική αναπαράσταση και το σύστημα βαθμολόγησης των σταδίων έκπτυξης ανατρέξτε στις αντίστοιχες Κατευθυντήριες Οδηγίες ΓΠΔ για το εκάστοτε δασοπονικό είδος.

Λεπτομερείς οδηγίες εργασιών πεδίου:

1. Οι παρατηρήσεις για την έκπτυξη των οφθαλμών θα πρέπει να πραγματοποιούνται στα επιλεγμένα και επισημασμένα δέντρα ΓΠΔ (50 δέντρα ανά επιφάνεια ΓΠΔ).
2. Οι παρατηρήσεις θα πρέπει να γίνονται ξεχωριστά για κάθε δέντρο χρησιμοποιώντας κιάλια ή μέσω ψηφιακής φωτογραφίας.
3. Το παρατηρούμενο τμήμα της κόμης πρέπει να αναγράφεται στο φύλλο δεδομένων (1. Κορυφή / 2. Μέσο τμήμα κόμης / 3. Κορυφή και Μέσο τμήμα κόμη). Όλη η κόμη ή το ανώτερο τμήμα της θα πρέπει να αξιολογηθεί εάν αυτό είναι δυνατόν.
4. Ο προσανατολισμός των παρατηρήσεων της κόμης θα πρέπει να αναγράφεται στο φύλλο δεδομένων (B- βόρεια / BA- βορειανατολικά / A- ανατολικά/ NA- νοτιοανατολικά/ N- νότια / ND- νοτιοδυτικά / Δ- δυτικά / ΒΔ- βορειοδυτικά / περιμετρικά της κόμης).
5. Αν μόνο ένα μέρος της κόμης είναι ορατό από μία κατεύθυνση, τότε το ίδιο τμήμα της κόμης και η ίδια κατεύθυνση θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν για τις φαινολογικές παρατηρήσεις για όλη τη διάρκεια του έτους, καθώς και για τα επόμενα έτη.
6. Οι παρατηρήσεις της προόδου της έκπτυξης των οφθαλμών θα πρέπει να πραγματοποιούνται σε τακτά χρονικά διαστήματα (μια φορά την εβδομάδα) καθόλη τη διάρκεια εξέλιξης του φαινομένου (η διάρκεια εξαρτάται από τη βιολογία του δασοπονικού είδους και τις περιβαλλοντικές συνθήκες).
7. Οι παρατηρήσεις της έκπτυξης των οφθαλμών θα πρέπει να ξεκινούν αρκετά νωρίς, ώστε να καταγραφούν τα πρώιμα στάδια, κατά τα οποία ενδέχεται να παρατηρηθεί σημαντική διαφοροποίηση σε επίπεδο μεμονωμένου δέντρου.
8. Οι παρατηρήσεις θα πρέπει να οριστικοποιούνται, όταν όλα τα επιλεγμένα δέντρα έχουν φτάσει στο τελικό στάδιο (εξειδικευμένη διαδικασία για κάθε δασοπονικό είδος). Το τελευταίο στάδιο της προόδου του φαινομένου (φαινοφάση) θα πρέπει να καταγράφεται.

Κωδικός	Ποσοστό της κόμης σε ένα δεδομένο στάδιο έκπτυξης των οφθαλμών (%)
1	> 0 – 33
2	> 33 – 66
3	> 66 – 99
4	100

5.3.2.3.2. Προχωρημένο επίπεδο

Στο προχωρημένο επίπεδο, η έκπτυξη των οφθαλμών καταγράφεται σε επίπεδο μεμονωμένου δέντρου στα 50 υπό παρακολούθηση δέντρα κάθε έτος. Για τις τιμές βαθμολόγησης (στάδιο της έκπτυξης των οφθαλμών και ποσοστό της κόμης σε αυτό το στάδιο) ανατρέξτε στο Κεφ. 5.3.2.3.1 «Τυπικό επίπεδο».

5.3.2.4 Επιπλέον πληροφορία: Φθινοπωρινός μαρασμός

Ο φθινοπωρινός μαρασμός είναι ένα σημαντικό γνώρισμα το οποίο μπορεί να επηρεάσει τη διάρκεια της περιόδου ανάπτυξης των δασοπονικών ειδών που παρουσιάζουν φυλλόπτωση το φθινόπωρο και επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από περιβαλλοντικούς και γενετικούς παράγοντες.

Δεδομένα σχετικά με το χρονικό σημείο έναρξης και τη διάρκεια του φθινοπωρινού μαρασμού παρέχουν χρήσιμες πληροφορίες για την καλύτερη κατανόηση της κατάστασης των δέντρων και των πληθυσμών που σχηματίζουν εν μέσω ενός μεταβαλλόμενου περιβάλλοντος. Οι οδηγίες για τις φαινολογικές παρατηρήσεις του φθινοπωρινού μαρασμού περιγράφουν το σύστημα βαθμολόγησης το οποίο προτείνεται να ακολουθηθεί για την αξιολόγηση του φαινομένου. Τα δεδομένα συλλέγονται σε επίπεδο συστάδας και ανά δέντρο. Η καταγραφή αυτής της επιπλέον πληροφορίας διεξάγεται μόνο στο τυπικό και το προχωρημένο επίπεδο ΓΠΔ. Κατά τις παρατηρήσεις θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη το στάδιο της φαινοφάσης και το ποσοστό της κόμης το οποίο βρίσκεται σε αυτό το στάδιο.

Οδηγίες εργασιών πεδίου για την αξιολόγηση της φαινολογίας του φθινοπωρινού μαρασμού

5.3.2.4.1 Τυπικό επίπεδο

Στο τυπικό επίπεδο, ο φθινοπωρινός μαρασμός καταγράφεται σε επίπεδο μεμονωμένου δέντρου στα 50 υπό παρακολούθηση δέντρα κάθε πέντε χρόνια. Για κάθε δέντρο δίδονται δύο εκτιμήσεις: στάδιο φθινοπωρινού μαρασμού και ποσοστό της κόμης που βρίσκεται σε αυτό το στάδιο. Για τη γραφική αναπαράσταση των σταδίων φθινοπωρινού μαρασμού, ανατρέξτε στις Κατευθυντήριες Οδηγίες ΓΠΔ δασοπονικών ειδών.

Λεπτομερείς οδηγίες εργασιών πεδίου:

1. Οι παρατηρήσεις για το φθινοπωρινό μαρασμό θα πρέπει να πραγματοποιούνται στα επιλεγμένα και επισημασμένα ΓΠΔ (50 δέντρα ανά επιφάνεια ΓΠΔ).
2. Οι παρατηρήσεις θα πρέπει να γίνονται ξεχωριστά για κάθε δέντρο χρησιμοποιώντας κιάλια ή μέσω ψηφιακής φωτογραφίας.
3. Το παρατηρούμενο τμήμα της κόμης πρέπει να αναγράφεται στο φύλλο δεδομένων (1. Κορυφή / 2. Μέσο τμήμα κόμης / 3. Κορυφή και Μέσο τμήμα κόμης). Όλη η κόμη ή το ανώτερο τμήμα της θα πρέπει να αξιολογηθεί εάν αυτό είναι δυνατόν.
4. Ο προσανατολισμός των παρατηρήσεων της κόμης θα πρέπει να αναγράφεται στο φύλλο δεδομένων (B- βόρεια / BA- βορειανατολικά / A- ανατολικά/ NA- νοτιοανατολικά/ N- νότια / ND- νοτιοδυτικά / Δ- δυτικά / ΒΔ- βορειοδυτικά / περιμετρικά της κόμης).
5. Αν μόνο ένα μέρος της κόμης είναι ορατό από μία κατεύθυνση, τότε το ίδιο τμήμα της κόμης και η ίδια κατεύθυνση θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν για τις φαινολογικές παρατηρήσεις για όλη τη διάρκεια του έτους, καθώς και για τα επόμενα έτη.
6. Ο φθινοπωρινός μαρασμός θα πρέπει να εκτιμάται δύο ή τρεις φορές ανά εποχή (το χρονικό σημείο έναρξης και η διάρκεια του φαινομένου, εξαρτάται από τη βιολογία των ειδών και τις περιβαλλοντικές συνθήκες).
7. Το τελικό στάδιο (Στάδιο 4) θεωρείται ότι επιτυγχάνεται όταν ένα ή περισσότερα φύλλα (περιλαμβανομένων και των φύλλων που έχουν πέσει πρόσφατα από το δέντρο) έχουν αποκτήσει την τελική χαρακτηριστική καφέ απόχρωση. Πλήρως αποξηραμένα ή νεκρά φύλλα που παραμένουν στο φυτό δεν θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη.
8. Το ποσοστό των φύλλων στο ορατό τμήμα της κόμης τα οποία βρίσκονται στο στάδιο που περιγράφεται ή έχουν ήδη περάσει από το στάδιο αυτό, θα πρέπει να καταγράφονται με βάση την παρακάτω ταξινόμηση.

Κωδικός Στάδιο φθινοπωρινού μαρασμού	
1	Φύλλα/βελόνες με χρώμα πράσινο
2	Φύλλα/βελόνες με χρώμα πράσινο που μεταβαίνει σε κίτρινο (πρασινωπό κίτρινο)
3	Φύλλα/βελόνες με χρώμα κίτρινο που μεταβαίνει σε καφέ (καφέ)
4	Φύλλα/βελόνες με χρώμα καφέ/ ή επί του εδάφους

Κωδικός Ποσοστό της κόμης στο δεδομένο στάδιο φθινοπωρινού μαρασμού (%)	
1	> 0 – 33
2	> 33 – 66
3	> 66 – 99
4	100

5.3.2.4.2 Προχωρημένο επίπεδο

Ο φθινοπωρινός μαρασμός καταγράφεται σε επίπεδο μεμονωμένου δέντρου στα 50 υπό παρακολούθηση δέντρα κάθε χρόνο. Για τις τιμές βαθμολόγησης (στάδιο φθινοπωρινού μαρασμού και ποσοστό της κόμης στο δεδομένο στάδιο) ανατρέξτε στο Κεφ. 5.3.2.4.1 «Τυπικό επίπεδο».

5.3.2.5 Επιπλέον πληροφορία: Συγχρονισμός ανθοφορίας

Ο συγχρονισμός της ανθοφορίας αποτελεί μέρος της φαινολογίας της ανθοφορίας. Εστιάζει στην καταγραφή των διαφορετικών φαινοφάσεων από το χρονικό σημείο της έναρξης ανάπτυξης των αρσενικών και θηλυκών ανθέων (Ducci *et al.* 2012). Ο συγχρονισμός της ανθοφορίας καταγράφεται μόνο στο προχωρημένο επίπεδο και βασίζεται στα δεδομένα τα οποία συλλέγονται για τον επαληθευτή «Ανθοφορία» (βλ. Κεφ. 5.3.2.1). Χρησιμοποιείται με σκοπό να διευκρινιστεί εάν και κατά πόσον η αρσενική και η θηλυκή ανθοφορία λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα εντός της παρακολουθούμενης επιφάνειας.

5.3.2.5.1. Προχωρημένο επίπεδο

Ο συγχρονισμός της ανθοφορίας καταγράφεται σε επίπεδο μεμονωμένου δέντρου στα 50 υπό παρακολούθηση δέντρα, κατά τη διάρκεια κάθε συμβάντος μαζικής ανθοφορίας το οποίο αξιολογείται. Η καταγραφή πραγματοποιείται κατά τα έτη όπου πραγματοποιείται η συλλογή σπερμάτων για τα περισσότερα δασοπονικά είδη (όπως συμβαίνει και με την καταγραφή της ανθοφορίας στο προχωρημένο επίπεδο).

5.4 Δειγματοληψία

5.4.1 Οδηγίες δειγματοληψίας για ανάλυση DNA

Η δειγματοληψία ιστού αποτελεί αναπόσπαστο μέρος της ΓΠΔ. Ως εκ τούτου, η ύπαρξη τυποποιημένων οδηγιών δειγματοληψίας αποτελεί προαπαιτούμενη συνθήκη ώστε να διασφαλιστεί το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα από την ανάλυση DNA. Οι οδηγίες, ο εξοπλισμός και τα υλικά που απαιτούνται για τη δειγματοληψία περιγράφονται σε αυτό το κεφάλαιο. Παρατίθενται συγκεκριμένα παραδείγματα για διαφορετικά δασοπονικά είδη και συμβουλές για τη δειγματοληψία (δηλ. πιθανές επιλογές υλικού δειγματοληψίας, ιδιαιτερότητες συλλογής σπερμάτων για δοκιμές φυτρωτικότητας κ.τ.λ.)

Αναγκαίος εξοπλισμός για τις δειγματοληψίες:

- Πλαστικές/χάρτινες σακούλες για τη συλλογή δειγμάτων (100 σακούλες για 50 ενήλικα και 50 δείγματα ΦΑ),
- Ψαλίδια, κλαδευτήρια

- Πλαστικές/αλουμιένιες ετικέτες,
- Επαναφορτιζόμενη ηλεκτρική τρυπάνη, επιπλέον μπαταρίες,
- Τρυπάνη διαμέτρου 6-10 mm, επιπλέον τρυπάνες,
- Φιάλη πλυσίματος 0.5 λίτρου με απεσταγμένο νερό, επιπλέον 5 λίτρα απεσταγμένου νερού,
- Απεσταγμένο νερό για τον καθαρισμό του τρυπανιού,
- Υφασμάτινες σακούλες ή κουτιά για σπέρματα/κώνους,
- Πλαστικές σακούλες με πήγμα διοξειδίου του πυριτίου (silica gel) για τη ρύθμιση της υγρασίας των δειγμάτων κατά τη δειγματοληψία και τη μεταφορά τους,
- Αδιάβροχα στυλό
- Δοχεία από πολυστυρένιο ή άλλο υλικό μόνωσης και παγοκύστες για την προστασία των δειγμάτων από θερμοκρασιακές μεταβολές.

5.4.1.1 Δειγματοληψία ενήλικων δέντρων

Η συλλογή δειγμάτων φυτικού υλικού πρέπει να περιλαμβάνει όλα τα επισημασμένα δέντρα (50 ενήλικα δέντρα) εντός της επιφάνειας ΓΠΔ. Ο ιστός από το κάθε δέντρο θα πρέπει να αποθηκεύεται σε ξεχωριστή πλαστική/χάρτινη/υφασμάτινη θήκη. Στην περίπτωση δασικών ειδών τα οποία σχηματίζουν διειδικά υβρίδια ή αναπαράγονται μέσω βλαστικής αναπαραγωγής (κλωνικά), ο αρχικός αριθμός δέντρων από τα οποία θα πραγματοποιηθεί η συλλογή φυτικού υλικού μπορεί να αυξηθεί (π.χ. 100, βλ. Πίνακα 5.3), καθώς μόνο αμιγή άτομα και μόνο ένα άτομο με τον ίδιο γενότυπο δύνανται να ενταχθούν στο σύνολο των υπό παρακολούθηση δέντρων. Εάν τα αποτελέσματα της πρώτης γενετικής ανάλυσης υποδείξουν την παρουσία υψηλών ποσοστών υβριδισμού, τότε προτείνεται η αλλαγή επιφάνειας ΓΠΔ (εκτός και αν ο στόχος είναι η παρακολούθηση συστάδας υβριδίων).

Σημείωση σχετικά με το μέγεθος δείγματος για δίοικα είδη:

Η επιλογή 25 αρσενικών και 25 θηλυκών ατόμων σε ηλικία αναπαραγωγής στην περίπτωση δίοικων ή ειδών που πρακτικά συμπεριφέρονται ως δίοικα, αντιπροσωπεύει τις μισές πιθανές πατρικές συνεισφορές στα υπό μελέτη γονιδιώματα, εν συγκρίσει με 50 άτομα ενός μόνοικου είδους. Η απόφαση για τη διεξαγωγή της γενετικής παρακολούθησης με τον ίδιο αριθμό δέντρων τόσο για μόνοικα όσο και για δίοικα είδη βασίστηκε κυρίως σε πρακτικούς λόγους σχετικά με την αύξηση του φόρτου εργασίας και του κόστους στην περίπτωση επιλογής 100 δέντρων σε ηλικία αναπαραγωγής (ιδιαίτερα για τις φαινολογικές παρατηρήσεις και τις λοιπές εργασίες πεδίου) και την πιθανή υπερβολική διεύρυνση των ορίων της επιφάνειας παρακολούθησης. Το γεγονός αυτό θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά την παρακολούθηση δίοικων ειδών.

Δείγματα υλικού για γενετική ανάλυση μπορούν να αποτελέσουν (Σχήμα 5.2: α, β, γ, δ):

- Κλάδοι με οφθαλμούς (2 - 3 κλαδιά ανά δέντρο, μήκους 5 - 10 cm με 1 ή 2 οφθαλμούς) κομμένα με μαχαίρι, ψαλίδι, ή κλαδευτήρι,
- Φρέσκα φύλλα/βελόνες (συλλογή 5 – 10 φρέσκων φύλλων/βελονών από κάθε δέντρο),
- Ξύλο με τμήμα του καμβίου από εξαγωγή με τη βοήθεια τρυπάνης, 4 cm εσωτερικά του δέντρου (η εξαγωγή πραγματοποιείται με επαναφορτιζόμενη ηλεκτρική τρυπάνη με πλήρωση μικροφυγοκεντρικού σωλήνα 2 ml (Eppendorf tube), ή με τη χρήση περιστροφικού τρυπανιού λαμβάνοντας δύο δείγματα μήκους 3 cm).



Σχήμα 5.2: Δειγματοληψία φυτικού υλικού για γενετικές αναλύσεις (α και β – ξύλο με τμήμα του καμβίου, γ και δ – φρέσκα φύλλα ή βελόνες).

Από τα παραπάνω προτείνεται να επιλεγεί ο τύπος φυτικού υλικού ο οποίος είναι πιο εύκολο να συλλεχθεί. Το υλικό για τη γενετική ανάλυση μπορεί να αποτελεί συνδυασμό πολλαπλών τύπων (π.χ. οφθαλμοί, φρέσκα φύλλα, ή ξύλο με τμήμα του καμβίου). Πριν τη δειγματοληψία, είναι απαραίτητη η λήψη έγκρισης για τη συλλογή του τύπου φυτικού υλικού που επιλέχθηκε (π.χ. στην περίπτωση δειγματοληψίας με τρυπάνη). Τα πλατύφυλλα είναι πιο ευαίσθητα στη δειγματοληψία με τρυπάνη και για αυτό τον λόγο προτιμώνται λιγότερο επεμβατικές προσεγγίσεις (δειγματοληψία φύλλων, κλάδων με οφθαλμούς). Ωστόσο, εάν η χρήση τρυπάνης στα πλατύφυλλα γίνει εκτός βλαστικής περιόδου (Ιανουάριος – Μάρτιος), τότε ο τραυματισμός επουλώνεται γρηγορότερα. Για την αποφυγή αρνητικών επιπτώσεων στην ποιότητα του κορμού, είναι προτιμότερο η δειγματοληψία να πραγματοποιηθεί στο πρέμνο, στο χαμηλότερο τμήμα του κορμού, κοντά στο έδαφος. Στην περίπτωση των κωνοφόρων, κάθε οπή τραυματισμού από χρήση τρυπάνης 6-10 mm πληρώνεται με ρητίνη σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα.

Οι ετικέτες για τις σακούλες με υλικό προς ανάλυση DNA θα πρέπει να συμπληρώνονται με συστηματικό και συνεπή τρόπο. Ακολουθεί παράδειγμα της επισήμανσης που χρησιμοποιήθηκε στο έργο LIFE GEN MON: GR-I-FSY-A-01

- GR – Κωδικός χώρας (π.χ. GR – Greece/Ελλάδα).
- I – Επιφάνεια δειγματοληψίας ΓΠΔ.
- FSY – Λατινική ονομασία δασοπονικού είδους *Fagus sylvatica*.
- A – Ενήλικο δέντρο.
- 01 – Αριθμός δέντρου από 01 μέχρι 50.

Προτείνεται όλοι οι τύποι φυτικού υλικού να τοποθετούνται σε θερμομονωτικά δοχεία (όπως δοχεία πολυστυρενίου (φελιζόλ) τα οποία χρησιμοποιούνται για τη μεταφορά ευαίσθητων υλικών) μαζί με παγοκύστες, ώστε να αποφευχθεί η έκθεση των δειγμάτων σε υψηλές θερμοκρασιακές διακυμάνσεις στο πεδίο και κατά τη μεταφορά.

5.4.1.2 Δειγματοληψία Φυσικής Αναγέννησης (ΦΑ)

Η δειγματοληψία της ΦΑ θα πρέπει να πραγματοποιείται από 20 υποεπιφάνειες ΦΑ (δίπλα από τις επιφάνειες 1m² για την καταγραφή της αφθονίας/επιβίωσης της ΦΑ) το τρίτο έτος μετά την φύτευση (φυτάρια 3 ετών). Συλλέγονται 50 δείγματα ΦΑ: τρία φυτά από 10 τυχαία επιλεγμένες υποεπιφάνειες, δύο φυτά από τις 10 υπόλοιπες επιφάνειες. Στην περίπτωση δασοπονικών ειδών τα οποία σχηματίζουν διειδικά υβρίδια ή αναπαράγονται μέσω βλαστικής αναπαραγωγής (κλωνική αναπαραγωγή), προτείνεται η δειγματοληψία και γενετική ανάλυση 100 φυταρίων. Το ποσοστό υβριδισμού υπολογίζεται από τα αποτελέσματα της γενετικής ανάλυσης για το σύνολο των 100 δειγμάτων. Έπειτα ένα τυχαίο σύνολο 50 φυταρίων του είδους που υπόκειται σε γενετική παρακολούθηση, επιλέγεται για τον υπολογισμό των υπόλοιπων επαληθευτών (γενετικών παραμέτρων) και των επιπλέον πληροφοριών.

Φυτικό υλικό ΦΑ κατάλληλο για απομόνωση DNA:

- Κλάδοι με οφθαλμούς (2 - 3 κλάδοι ανά άτομο, μήκους 3 - 5 cm με 1 ή 2 οφθαλμούς) κομμένα με μαχαίρι, ψαλίδι, ή κλαδευτήρι.
- Φρέσκα φύλλα/βελόνες (συλλογή 2 – 5 φρέσκων φύλλων/βελονών από κάθε άτομο).

Επισημάνση: η ποσότητα του φυτικού υλικού για την απομόνωση του DNA μπορεί να μειωθεί. Συνήθως αρκούν 2-3 οφθαλμοί/φύλλα για απομόνωση DNA. Ωστόσο, είναι πάντα προτιμητέα η συλλογή μερικών επιπλέον οφθαλμών για πειραματικές επαναλήψεις στο εργαστήριο. Το υλικό από κάθε φυτό θα πρέπει να αποθηκεύεται σε ξεχωριστή πλαστική/χάρτινη/υφασμάτινη σακούλα.

Οι ετικέτες για τις σακούλες με υλικό προς ανάλυση DNA θα πρέπει να συμπληρώνονται με ένα συστηματικό και συνεπή τρόπο. Ακολουθεί παράδειγμα της επισήμανσης που χρησιμοποιήθηκε στο έργο LIFEGENMON: GR-I-FSY-NR-01

GR – Κωδικός χώρας (π.χ. GR – Greece/Ελλάδα), I – Επιφάνεια δειγματοληψίας ΓΠΔ,
 FSY – Λατινική ονομασία δασοπονικού είδους *Fagus sylvatica*,
 NR – Φυσική Αναγέννηση,
 01 – Αριθμός δέντρου από 01 μέχρι 50.

5.4.1.3 Δειγματοληψία σπερμάτων

Η δειγματοληψία σπερμάτων απαιτείται για τη μοριακή ανάλυση DNA και τη δοκιμή φυτρωτικότητας σπερμάτων στο προχωρημένο επίπεδο παρακολούθησης.

Ο χρόνος συλλογής σπερμάτων διαφέρει κατά ευρεία γεωγραφική περιοχή (π.χ. από χώρα σε χώρα) και εξαρτάται από τη βιολογία των δασοπονικών ειδών και τις περιβαλλοντικές/κλιματολογικές συνθήκες της κάθε περιοχής. Για παράδειγμα, στη περίπτωση της *Abies alba* η συλλογή σπερμάτων ξεκινά συνήθως στα τέλη Αυγούστου στην Κεντρική Ευρώπη, ενώ στη νότια κατά το Σεπτέμβριο έως τον Οκτώβριο.

- Τα σπέρματα θα πρέπει να συλλέγονται από τα 20 επιλεγμένα δέντρα και ο αριθμός τους θα πρέπει να είναι τουλάχιστον 200-300 από πολλά διαφορετικά κλαδιά κάθε μητρικού δέντρου (ο μεγάλος αριθμός δειγμάτων είναι αναγκαίος, ώστε να εξασφαλίζεται η συλλογή επαρκούς αριθμού πλήρων σπερμάτων). Είκοσι πλήρη σπέρματα από κάθε δέντρο χρησιμοποιούνται για την ανάλυση DNA, σχηματίζοντας ένα σύνολο 400 σπερμάτων από όλα τα μητρικά δέντρα ανά περίοδο αξιολόγησης. Στην περίπτωση δασοπονικών ειδών που σχηματίζουν διειδικά υβρίδια, προτείνεται η γενετική ανάλυση 30 πλήρων σπερμάτων ανά δέντρο. Έπειτα το ποσοστό υβριδισμού υπολογίζεται από το σύνολο των 600 σπερμάτων και ένα τυχαίο σύνολο 400 σπερμάτων του είδους που υπόκειται σε γενετική παρακολούθηση, επιλέγεται για τον υπολογισμό των υπόλοιπων επαληθευτών και επιπλέον πληροφοριών.
- Η δειγματοληψία σπερμάτων *Fagus sylvatica* θα πρέπει να πραγματοποιείται από αναρριχητές, κόβοντας κλαδιά (εάν χρειάζεται) με σκοπό να συλλέγονται οι καρποί με τα σπέρματα εντός τους, απευθείας από τα κλαδιά.



Σχήμα 5.3: Δειγματοληψία κώνων σε επιφάνεια ΓΠΔ *Abies alba*.



Σχήμα 5.4. Συλλεγμένα σπέρματα/κώνοι (*Fagus sylvatica* και *Abies alba*)

- Η δειγματοληψία σπερμάτων *Abies alba* θα πρέπει να πραγματοποιείται από αναρριχητές, με σκοπό να συλλέγονται οι κώνοι με τα σπέρματα απευθείας από τα κλαδιά πριν να αποσυντεθούν στην κορυφή του δέντρου (όσο τα σπερματοβλαστικά λέπια βρίσκονται πάνω στον κώνο, τα σπέρματα παραμένουν εντός του κώνου) (Σχήμα 5.3).
- Σπέρματα από διαφορετικά μητρικά δέντρα θα πρέπει να αποθηκεύονται σε ξεχωριστές επισημασμένες υφασμάτινες θήκες ή δοχεία (Σχήμα 5.4).
- Οι ετικέτες για τις θήκες θα πρέπει να συμπληρώνονται με ένα συστηματικό και συνεπή τρόπο. Ακολουθεί παράδειγμα της επισήμανσης που χρησιμοποιήθηκε στο έργο LIFE GENMON: GR-I-FSY-ST-01

GR – Κωδικός χώρας (π.χ. GR – Greece/Ελλάδα).

I – Επιφάνεια δειγματοληψίας ΓΠΔ.

FSY – Λατινική ονομασία δασοπονικού είδους *Fagus sylvatica*.

ST – Σπέρμα δέντρου.

X – Αριθμός ο οποίος έχει αποτυπωθεί πάνω στο μητρικό δέντρο (η ίδια αρίθμηση που δόθηκε κατά τη διάρκεια επιλογής των ενήλικων).

Όλα τα δείγματα φυτικού υλικού που συλλέγονται για ανάλυση DNA θα πρέπει να διατηρούνται σε θερμοκρασία περίπου 2-3°C (όχι παγωμένα/όχι κάτω από 0°C), όχι περισσότερο από τρεις μέρες, μέχρι να σταλούν στο εργαστήριο (το συντομότερο δυνατόν). Ο χρόνος μεταφοράς σπερμάτων και κώνων στο εργαστήριο δεν είναι τόσο κρίσιμης σημασίας καθώς δεν υπάρχει κίνδυνος αποδόμησης του DNA.

5.4.2 Δειγματοληψία για δοκιμή φυτρωτικότητας σπερμάτων

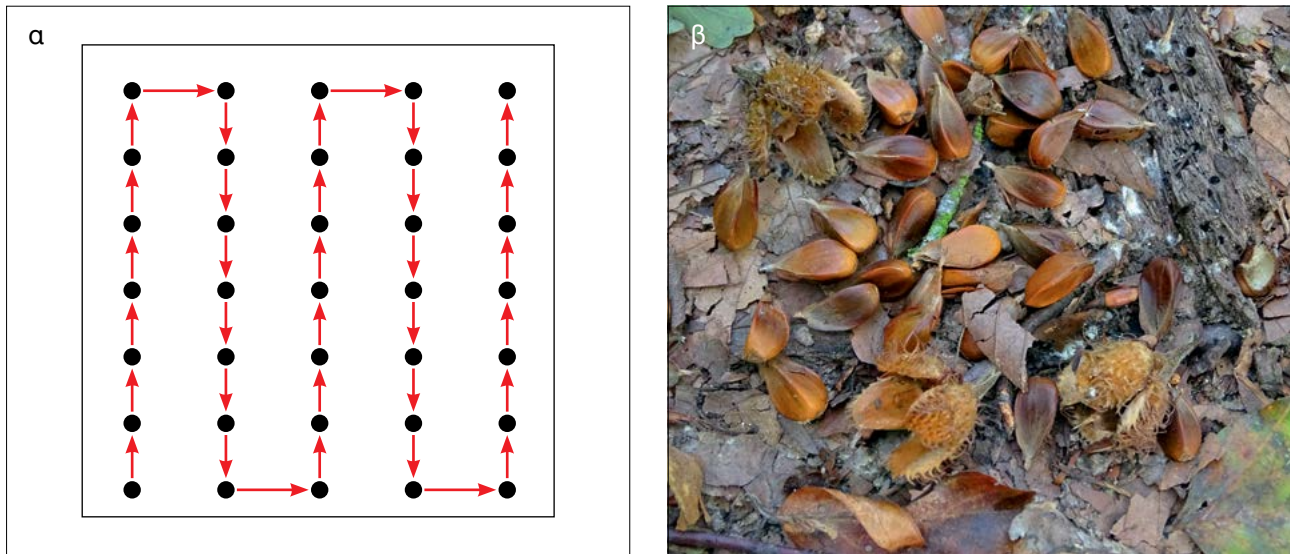
Σύμφωνα με τους κανόνες της ISTA (2004), ο στόχος της δειγματοληψίας σπερμάτων είναι η απόκτηση ενός κατάλληλου μεγέθους δείγματος για την εφαρμογή δοκιμής φυτρωτικότητας σπερμάτων. Ένα δείγμα για δοκιμή σπερμάτων στο πλαίσιο της ΓΠΔ λαμβάνεται συλλέγοντας μικρές ποσότητες σπερμάτων τυχαία από διάφορες θέσεις εντός της επιφάνειας και συνδυάζοντάς τα. Κάθε στάδιο της δειγματοληψίας θα πρέπει να γίνεται με τη χρήση κατάλληλων μεθόδων και εξοπλισμού. Σ' αυτό το κεφάλαιο περιγράφεται η διαδικασία δειγματοληψίας σπερμάτων για βαρύσπορα και ελαφρύσπορα (ανεμογαμή) δασοπονικά είδη για τη δοκιμή σπερμάτων στο πλαίσιο της ΓΠΔ.

4.4.2.1 Δειγματοληψία για δοκιμή σπερμάτων βαρύσπορων ειδών (π.χ. *Fagus* spp., *Quercus* spp.)

Τα σπέρματα βαρύσπορων δασοπονικών ειδών όπως *Fagus* spp. και *Quercus* spp. θα πρέπει να συλλέγονται από το έδαφος κατά τη διάρκεια ετών πληροκαρπίας. Η χρονική στιγμή συλλογής διαφέρει κατά γεωγραφική περιοχή (π.χ. από χώρα σε χώρα) και εξαρτάται από τη βιολογία των ειδών και τις περιβαλλοντικές/κλιματολογικές συνθήκες της εκάστοτε περιοχής. Ένα δείγμα σπερμάτων θα πρέπει να είναι αντιπροσωπευτικό, επομένως είναι σημαντικό η συλλογή να διεξάγεται σε όλη την έκταση της επιφάνειας ΓΠΔ. Ως εκ τούτου, η συλλογή θα πρέπει να γίνεται συστηματικά, σαρώνοντας την επιφάνεια από τη μία άκρη της προς την άλλη και συλλέγοντας διαθέσιμα/ορατά σπέρματα από το έδαφος κάθε 10 μέτρα (βλέπε Σχήμα 5.5).

Τα σπέρματα της αγριοκερασιάς (*Prunus avium*) θα πρέπει να συλλέγονται από αναρριχητές πριν ωριμάσουν οι καρποί και καταναλωθούν από πουλιά. Η χρονική στιγμή συλλογής μπορεί επίσης να διαφέρει κατά γεωγραφική περιοχή (π.χ. από χώρα σε χώρα) και εξαρτάται από τις περιβαλλοντικές/κλιματολογικές συνθήκες της κάθε περιοχής. Συνήθως τα σπέρματα της αγριοκερασιάς θα πρέπει να συλλέγονται από τα τέλη της άνοιξης έως τα μέσα καλοκαιριού.

Σύμφωνα με την ISTA (2004), διαφορετικές ποσότητες σπερμάτων απαιτούνται για τη δοκιμή σπερμάτων κάθε δασοπονικού είδους (Πίνακας 5.2). Σπέρματα από διαφορετικές επιφάνειες ΓΠΔ θα πρέπει να αποθηκεύονται σε ξεχωριστές επισημασμένες υφασμάτινες θήκες ή σε διάτρητα δοχεία. Όλα τα δείγματα θα πρέπει να αποστέλλονται στο αρμόδιο εργαστήριο το συντομότερο δυνατό μετά τη συλλογή τους.



Σχήμα 5.5. Διαδικασία συλλογής σπερμάτων (αριστερά), σπέρματα *Fagus sylvatica* στο έδαφος (δεξιά)

5.4.2.2 Δειγματοληψία για δοκιμή σπερμάτων ελαφρύσπορων (ανεμογαμών) ειδών (π.χ. *Abies* spp., *Populus* spp., *Pinus* spp., *Fraxinus* spp.)

Για ελαφρύσπορα (ανεμογαμή) δασοπονικά είδη όπως *Abies* spp., *Populus* spp., *Pinus* spp. η δειγματοληψία των σπερμάτων κατά τη διάρκεια ενός έτους πληροκαρπίας, δε δύναται να πραγματοποιηθεί από το έδαφος μετά τη διασπορά αυτών, καθώς θα απαιτούταν απαγορευτικά μεγάλη προσπάθεια και υπερβολικός χρόνος. Για τα κωνοφόρα είδη, θα πρέπει να συλλέγονται ώριμοι κώνοι πριν το άνοιγμα των σπερματοβλαστικών λεπίων και τη διασπορά των σπερμάτων. Το χρονικό σημείο συλλογής διαφέρει ανάλογα με το δασοπονικό είδος (π.χ. στην ελάτη (*Abies* spp.) τα σπέρματα ενός έτους πληροκαρπίας διασπείρονται την ίδια χρονιά μετά την ανθοφορία, ενώ αντίθετα στα διάφορα είδη πεύκης (*Pinus* spp.) τα σπέρματα ενός έτους πληροκαρπίας, διασπείρονται δύο έτη μετά την ανθοφορία). Επομένως η συλλογή σπερμάτων από κωνοφόρα θα πρέπει να διεξάγεται από αναρριχητές. Για παράδειγμα, για τη δοκιμή των σπερμάτων ειδών ελάτης (*Abies* spp.) είναι δυνατόν να αξιοποιηθεί το μείγμα σπερμάτων που προκύπτει από κώνους οι οποίοι συλλέχθηκαν για την ανάλυση DNA.

- Θα πρέπει να συλλέγονται τουλάχιστον 10 κώνοι από κάθε ένα από τα 20 επιλεγμένα μητρικά δέντρα και περίπου ο ίδιος αριθμός κώνων θα πρέπει να συλλεχθεί από όλα τα δέντρα, δηλ. 10 κώνοι ανά δέντρο/ 200 κώνοι ανά 20 μητρικά δέντρα (Σχήμα 5.6).
- Οι κλειστοί κώνοι (με τα σπερματοβλαστικά λέπια) θα πρέπει να συλλέγονται έπειτα από αναρρίχηση στα δέντρα και συλλογή απευθείας από τα κλαδιά.
- Οι κώνοι από διαφορετικά μητρικά δέντρα θα πρέπει να αποθηκεύονται σε ξεχωριστές υφασμάτινες θήκες ή δοχεία μέχρι το άνοιγμα των σπερματοβλαστικών λεπίων τους (το άνοιγμα των κώνων είναι δυνατό να επαχθεί εμβαπτίζοντας τους σε νερό και έπειτα τοποθετώντας τους σε θαλάμους ελεγχόμενης θερμοκρασίας με θερμοκρασία κατά τι λιγότερο των 50°C για μερικές ημέρες).
- Οι συλλεγμένοι κώνοι θα πρέπει να διατηρούνται για 2-3 μήνες σε ξηρό περιβάλλον με καλό σύστημα εξαερισμού μέχρι να ελευθερωθούν τα σπέρματα.
- Θα πρέπει να αναμειγνύονται σπέρματα από όλους τους 10 κώνους ανά μητρικό δέντρο.
- Περίπου 200 σπέρματα (~20 g σπερμάτων, ανάλογα με το δασοπονικό είδος) θα πρέπει να συλλεχθούν για τη γενετική ανάλυση (μόνο 20 σπέρματα ανά δέντρο θα αναλυθούν, ωστόσο είναι αναγκαία η συλλογή μεγαλύτερου αριθμού καθώς πολλά σπέρματα ενδέχεται να είναι κενά), ενώ τα υπόλοιπα μπορούν να προωθηθούν για τη δοκιμή σπερμάτων.

- Όλα τα εναπομείναντα σπέρματα από τα 20 μητρικά δέντρα θα πρέπει να αναμειχθούν και 120 g (~3000 σπέρματα) καθαρού μείγματος θα πρέπει να ληφθούν για τη δοκιμή φυτρωτικότητας σπερμάτων των ειδών του γένους *Abies* (Πίνακας 5.2 και Πίνακας 5.3).



Σχήμα 5.6: Κώνοι *Abies alba* οι οποίοι συλλέχθηκαν από ξεχωριστά δέντρα.

Σπέρματα ειδών του γένους *Fraxinus* θα πρέπει να συλλέγονται πριν αυτά αρχίσουν να πέφτουν στο έδαφος (ο χρόνος συλλογής μπορεί να διαφέρει κατά γεωγραφική περιοχή (π.χ. από χώρα σε χώρα) και εξαρτάται από τη βιολογία του είδους και τις περιβαλλοντικές/κλιματολογικές συνθήκες της εκάστοτε περιοχής). Επομένως, η συλλογή θα πρέπει να διενεργείται με αναρρίχηση στα δέντρα.

Η διάρκεια ζωής των σπερμάτων του γένους *Populus* είναι πολύ περιορισμένη (2-4 ημέρες), επομένως θα πρέπει να συλλέγονται το συντομότερο δυνατόν μετά την εμφάνιση λευκών πτητικών τριχιδίων (συνήθως τον Μάιο, όμως ενδέχεται να διαφέρει από χώρα σε χώρα, εξαρτώμενη από τη βιολογία του είδους και από τις περιβαλλοντικές/κλιματολογικές συνθήκες της εκάστοτε περιοχής). Συνεπώς, η συλλογή θα πρέπει να διενεργείται με αναρρίχηση στα δέντρα.

Πίνακας 5.2. Μεγέθη εξεταζόμενου δείγματος για δοκιμή φυτρωτικότητας σπερμάτων. Κάθε μέγεθος δείγματος προκύπτει από το ονομαστικό βάρος 1000 σπερμάτων για κάθε δασοπονικό είδος το οποίο, βάσει των διαθέσιμων στοιχείων, αναμένεται να είναι επαρκές για την πλειονότητα των δειγμάτων που θα δοκιμαστούν.

Δασοπονικό είδος	Μέγιστο βάρος παρτίδας [g]	Ελάχιστο βάρος δείγματος	
		Εξεταζόμενο δείγμα [g]	Δείγμα εργασίας για ανάλυση καθαρότητας [g]
<i>Abies alba</i> Mill.	1,000	240	120
<i>Fagus sylvatica</i> L.	5,000	1,000	600
<i>Fraxinus</i> spp.	1,000	400	200
<i>Pinus nigra</i> J. F. Arnold	1,000	100	50
<i>Populus</i> spp	50	5	2
<i>Prunus avium</i> (L.) L.	1,000	900	450
<i>Quercus</i> spp.	5,000	500 σπέρματα	500 σπέρματα

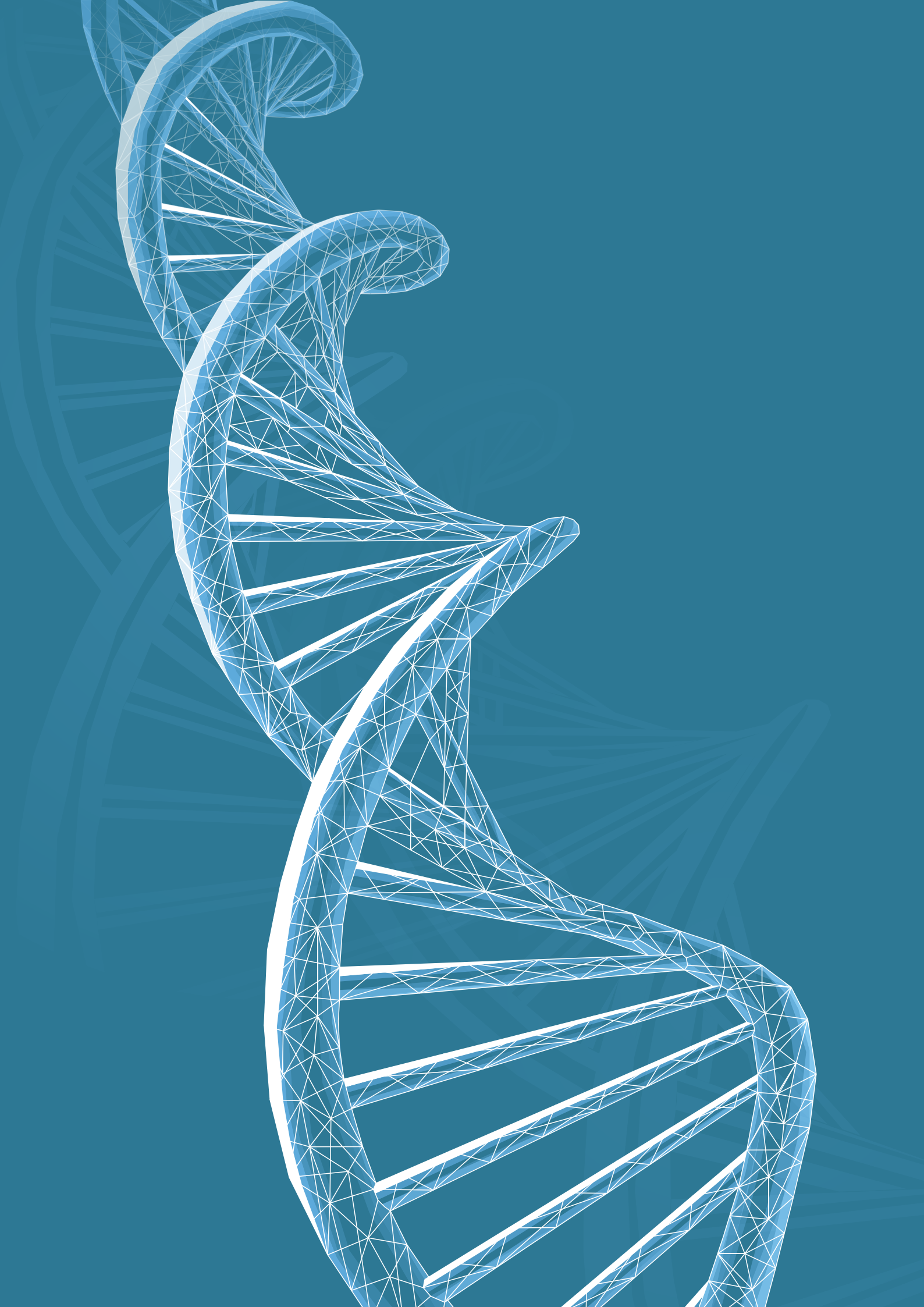
Πίνακας 5.3. Επισκόπηση απαιτήσεων φυτικού υλικού για γενετικές αναλύσεις και δοκιμή σπερμάτων στο πλαίσιο της ΓΠΔ.

Γενετική ανάλυση (απομόνωση DNA)		
	Αμιγή δασοπονικά είδη	Δασοπονικά είδη τα οποία σχηματίζουν διειδικά υβρίδια / αναπαράγονται κλωνικά
Ενήλικα δέντρα	Μόνοικα είδη:	Μόνοικα είδη:
	50 ώριμα άτομα (σε ηλικία αναπαραγωγής)	50 ώριμα άτομα (Γενοτύπηση κατά το στάδιο επιλογής ατόμων. Εάν εντοπισθούν διειδικά υβρίδια/ κλώνοι προτείνεται η συλλογή και γενοτύπηση επιπλέον 50 ατόμων. Πενήντα (50) μη υβριδογενή άτομα με ξεχωριστούς γενοτύπους επιλέγονται τυχαία για τη διενέργεια της ΓΠΔ και περαιτέρω αναλύσεων)
	Δίοικα είδη ή είδη που πρακτικά συμπεριφέρονται ως δίοικα (όπως ο φράξος):	Δίοικα είδη ή είδη που πρακτικά συμπεριφέρονται ως δίοικα (όπως ο φράξος):
	25 θηλυκά και 25 αρσενικά ώριμα άτομα (σε ηλικία αναπαραγωγής)	25 θηλυκά και 25 αρσενικά ώριμα άτομα (σε ηλικία αναπαραγωγής)
Φυσική αναγέννηση	50 φυτάρια ανά περίοδο αξιολόγησης	100 φυτάρια ανά περίοδο αξιολόγησης (Το σύνολο των 100 φυταρίων θα πρέπει να γενοτυπηθούν, 50 μη υβριδογενή φυτάρια με ξεχωριστό γενότυπο επιλέγονται τυχαία για περαιτέρω αναλύσεις. Εάν κριθεί αναγκαίο, πραγματοποιείται συλλογή και γενοτύπηση επιπλέον 50 φυταρίων.)
Σπέρματα	Συλλογή από 20 επιλεγμένα μητρικά δέντρα, τουλάχιστον 200 – 300 σπερμάτων ανά δέντρο τα οποία συλλέγονται από διαφορετικά κλαδιά και αναμειγνύονται. Αναλύονται 20 σπέρματα ανά δέντρο, σχηματίζοντας ένα σύνολο 400 σπερμάτων.	Συλλογή από 20 επιλεγμένα μητρικά δέντρα, τουλάχιστον 200 – 300 σπερμάτων ανά δέντρο τα οποία συλλέγονται από διαφορετικά κλαδιά και αναμειγνύονται. Αναλύονται 30 σπέρματα ανά δέντρο, σχηματίζοντας ένα σύνολο 600 σπερμάτων.
Δοκιμή φυτρωκότητας σπερμάτων		
Σπέρματα	Μείγμα σπερμάτων τα οποία έχουν συλλεχθεί από το έδαφος ή μείγμα σπερμάτων από κώνους/ καρπούς 20 επιλεγμένων μητρικών δέντρων (Πίνακας 5.2)	

Βιβλιογραφία

- Alizoti PG, Kilimis K, Gallios P (2010) Temporal and spatial variation of flowering among *Pinus nigra* Arn. clones under changing climatic conditions. For Ecol Manag 259:786–797. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.06.029>
- Askew GR, Blush TD (1990) Short note: An index of phenological overlap in flowering for clonal conifer seed orchards. Silvae Genet 39:168-171
- Beuker E, Raspe S, Bastrup-Birk A, Preuhsler T (2010) Phenological Observations. Manual Part VI. In: Manual on methods and criteria for harmonized sampling, assessment, monitoring and analysis of the effects of air pollution on forests. UNECE, ICP Forests, Hamburg
- Bhumibhamon S (1978) Studies on Scots pine seed orchards in Finland with special emphasis on the genetic composition of the seed. Commun Inst For Fenn 94:1–118
- Bonan GB (2016) Ecological climatology: Concepts and applications, 3rd edn. Cambridge University Press, Cambridge
- Chaine I (2010) Why does phenology drive species distribution. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 365:3149–3160. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0142>
- Ducci F, De Cuyper B, Pâques LE, Proietti R, Wolf H (2012) Reference protocols for assessment of trait and reference genotypes to be used as standards in international research projects. CRA SEL, Arezzo, Italy
- El-Kassaby YA, Fashler AMK, Sziklai O (1984) Reproductive phenology and its impact on genetically improved seed production in a Douglas-fir seed orchard. Silvae Genet 33:120–125
- El-Kassaby YA, Ritland L, Fashler AMK, Devitt D (1988) The role of reproductive phenology upon the mating system of a Douglas-fir seed orchard. Silvae Genet 37: 76–82

- Merriam-Webster Inc. (2003) Merriam-Webster's collegiate dictionary, 11th edn. Merriam-Webster Incorporated, Springfield, Massachusetts, USA
- Müller-Starck G., Ziehe M., Schubert R. (2005) Genetic diversity parameters associated with viability selection, reproductive efficiency, and growth in forest tree species. In: Scherer-Lorenzen M, Körner C, Schulze ED (eds) Forest diversity and function. Ecological studies (Analysis and synthesis), vol 176. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 87-108. https://doi.org/10.1007/3-540-26599-6_5
- Mund M, Kutsch WL, Wirth C, Kahl T, Knohl A, Skomarkova MV, Schulze ED (2010) The influence of climate and fructification on the inter-annual variability of stem growth and net primary productivity in an old-growth, mixed beech forest. *Tree Physiol* 30:689-704. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpq027>
- Seifert T, Müller-Starck G (2009) Impacts of fructification on biomass production and correlated genetic effects in Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.). *Eur J For Res* 128:155. <https://doi.org/10.1007/s10342-008-0219-5>
- Selås V, Piovesan G, Adams JM, Bernabei M (2002) Climatic factors controlling reproduction and growth of Norway spruce in southern Norway. *Can J For Res* 32:217-225. <https://doi.org/10.1139/X01-192>
- The International Seed Testing Association (ISTA) (2020) International Rules for Seed Testing. Bassersdorf, Switzerland. <https://doi.org/10.15258/istarules.2020.FI>





LIFE13 ENV/SI/000148

Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών

Κεφάλαιο 6

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ και ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ¹, Barbara FUSSI², Marjana WESTERGREN³, Marko BAJC³, Darius KAVALIAUSKAS², Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ¹, Rok DAMJANIĆ³, Natalija DOVČ³, Nataša ŠIBANČ³, Παρασκευή ΑΛΙΖΩΤΗ¹, Ερμιόνη ΜΑΛΛΙΑΡΟΥ¹, Ευαγγελία ΑΒΡΑΜΙΔΟΥ^{1,4}, Ευάγγελος ΜΠΑΡΜΠΑΣ¹, Gregor BOŽIČ³, Philip BRAILEY-JONES³, Άννα-Μαρία ΦΑΡΣΑΚΟΓΛΟΥ^{1,5}, Domen FINŽGAR^{3,6}, Ιωάννης ΓΑΝΟΠΟΥΛΟΣ^{1,7}, Monika KONNERT², Hojka KRAIGHNER^{1,3}

Απόδοση στα ελληνικά:

Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ, Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ, Φανή ΛΥΡΟΥ

Βιβλιογραφική αναφορά: Αραβανόπουλος κ. ά. (2020) Εργαστηριακές αναλύσεις και αναλύσεις δεδομένων. Στο: Βαϊς κ. ά. (Επιμ.) Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας; Silva Slovenica Publishing Centre, Λιουμπλιάνα, σσ. 75-150. <http://dx.doi.org/10.20315/SFS.167>

Εταίροι και συνεργαζόμενοι Φορείς:

1. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), Ελλάδα
2. Βαυαρικό Γραφείο Δασικής Γενετικής (AWG), Γερμανία
3. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας (GIS), Σλοβενία
4. Τρέχουσα διεύθυνση: Ινστιτούτο Μεσογειακών Δασικών Οικοσυστημάτων, ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ, Ελλάδα
5. Ευρωπαϊκό Δίκτυο Δασικών Γενετικών Πόρων (EUFORGEN), Ευρωπαϊκό Ινστιτούτο Δασικών Ερευνών (EFI), Ισπανία
6. Ινστιτούτο Εξελικτικής Βιολογίας, Πανεπιστήμιο του Εδιμβούργου, Ηνωμένο Βασίλειο
7. Τρέχουσα διεύθυνση: Ινστιτούτο Γενετικής Βελτίωσης και Φυτογενετικών Πόρων, ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ, Ελλάδα

6.1 Εισαγωγή

Οι εργαστηριακές αναλύσεις αποτελούν θεμελιώδες τμήμα της γενετικής παρακολούθησης δασών (ΓΠΔ) και οι τρεις δείκτες ΓΠΔ («επιλογή», «γενετική ποικιλότητα» και «ροή γονιδίων / συστήματα συζεύξεως»), βασίζονται σε δεδομένα και αποτελέσματα που παράγονται από εργαστηριακές αναλύσεις. Οι εργαστηριακές αναλύσεις διακρίνονται σε τρία κύρια μέρη: (1) χειρισμός και αποθήκευση δειγμάτων, (2) δοκιμή φυτρωτικότητας σπερμάτων και (3) ανάλυση DNA. Το πρώτο μέρος είναι ζωτικής σημασίας, καθώς η ορθή αποθήκευση φυτικών ιστών και DNA είναι απαραίτητη για την επανεξέταση παλαιών δειγμάτων προκειμένου να χρησιμοποιηθεί ένα περαιτέρω βελτιωμένο πρωτόκολλο ή ένας νέος τύπος αναλύσεων. Σε μια άσκηση αξιολόγησης χρονικών μεταβολών, όπως είναι η γενετική παρακολούθηση, αυτή η δυνατότητα είναι εξαιρετικά σημαντική για τη σύγκριση των δειγμάτων. Η δοκιμή φυτρωτικότητας σπερμάτων είναι απαραίτητη ως παράμετρος η οποία σχετίζεται με την αρμοστικότητα των πληθυσμών και απαιτείται για το προχωρημένο επίπεδο ΓΠΔ. Η ανάλυση DNA αποτελεί το μοναδικό εργαλείο για την αξιολόγηση δύο δεικτών («γενετική ποικιλότητα» και «ροή γονιδίων / συστήματα συζεύξεως»), ενώ συμβάλλει επίσης στην αξιολόγηση του δείκτη «επιλογή» μέσω της εύρεσης και ανάλυσης έκτοπων γονιδιακών θέσεων. Το παρόν Κεφάλαιο περιλαμβάνει επίσης πληροφορίες για τη διαχείριση βάσεων δεδομένων και τη διενέργεια ελέγχων ακεραιότητας και καθαρισμού δεδομένων. Ολοκληρώνεται παρέχοντας χρήσιμες διευκρινήσεις για την ερμηνεία των τιμών γενετικής παρακολούθησης οι οποίες συνδέονται με απαιτούμενες ενέργειες στην επιφάνεια γενετικής παρακολούθησης και πιθανώς και πέρα από αυτή.

6.2 Χειρισμός και αποθήκευση δειγμάτων

6.2.1 Χειρισμός δειγμάτων

Οι ίδιοι γενικοί κανόνες ισχύουν για τη μεταχείριση και το χειρισμό όλων των τύπων δειγμάτων. Συνιστάται η τήρηση των εργαστηριακών προδιαγραφών που ορίζει το πρότυπο ISO / IEC 17025: 2017.

1. Διατηρήστε την ιχνηλασιμότητα δειγμάτων και αναλύσεων. Βεβαιωθείτε ότι έχετε επισημάνει όλα τα δείγματα σωστά και με ακρίβεια σε όλες τις φάσεις ανάλυσης, ξεκινώντας από την επισήμανση στο πεδίο. Η τήρηση ορθών αρχείων καταγραφών των δειγμάτων και των αναλύσεών σας είναι υψίστης σημασίας.
2. Αποτρέψτε τη διασταυρούμενη επιμόλυνση των δειγμάτων. Όλες οι επιφάνειες και τα εργαλεία που χρησιμοποιούνται για το χειρισμό των δειγμάτων θα πρέπει να απολυμαίνονται ώστε να αποτραπεί η μεταφορά DNA μεταξύ δειγμάτων. Στο εμπόριο κυκλοφορούν διάφορα προϊόντα (υγρά ή αφρώδους μορφής) που καταστρέφουν το DNA σε επιφάνειες, ωστόσο αρκεί ένα διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου (NaClO - χλωρίνης) 5% για να έχει το ίδιο αποτέλεσμα. Εργαλεία που χρησιμοποιούνται για χειρισμό δειγμάτων (λαβίδα, ψαλίδι, μαχαίρια, τρυπάνια κ.λπ.) πρέπει να απολυμαίνονται μεταξύ των διαδοχικών λήψεων δειγμάτων. Ένας εύκολος και γρήγορος τρόπος για να το επιτύχετε αυτό είναι η καύση. Τα άκρα των εργαλείων μπορούν να αποστειρωθούν εκθέτοντας τα απευθείας σε ένα λύχνο Bunsen είτε σε ένα φλόγιστρο προπανίου/βουτανίου είτε αναφλέγοντας τα έπειτα από εμβάπτιση σε αιθανόλη. Αφήστε τα εργαλεία 15-20 δευτερόλεπτα ώστε να επανακτήσουν θερμοκρασία περιβάλλοντος πριν τα χρησιμοποιήσετε στο επόμενο δείγμα. Γενικά προτιμήστε τη χρήση διαλύματος στο πεδίο και το λύχνο Bunsen για το εργαστήριο.
3. Τα φιαλίδια για αποθήκευση δειγμάτων φυτικού ιστού και DNA θα πρέπει να είναι αποστειρωμένα, χωρίς DNA / RNA, νουκλεάσες και πυροφωσφορικά ιόντα. Για την αποθήκευση δειγμάτων σε εξαιρετικά χαμηλές θερμοκρασίες (υπό των $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$), θα πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλα κρυοφιαλίδια, δοχεία και ετικέτες / δείκτες σήμανσης που διατηρούν την ακεραιότητα και τη λειτουργία τους σε τέτοιες χαμηλές θερμοκρασίες. Διάφορα κατάλληλα προϊόντα διατίθενται στο εμπόριο, συμβουλευτείτε τους τοπικούς προμηθευτές σας.
4. Όλα τα αναλώσιμα (όπως ακροφύσια πιπέτας για τη μεταχείριση του απομονωμένου DNA) και τα μέσα (όπως ρυθμιστικά διαλύματα για την αποθήκευση του DNA) θα πρέπει να είναι αποστειρωμένα, χωρίς DNA / RNA, νουκλεάσες ή πυροφωσφορικά ιόντα.

6.2.2 Αποθήκευση δειγμάτων

Η στρατηγική για την αποθήκευση φρέσκων φυτικών ιστών για ανάλυση DNA εξαρτάται από τον τύπο του ιστού και το χρονικό διάστημα εντός του οποίου τα δείγματα θα υποβληθούν σε επεξεργασία στο εργαστήριο. Ως ένας γενικός κανόνας, τα δείγματα θα πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία όσο το δυνατόν συντομότερο και να αποθηκεύονται με τρόπο που ελαχιστοποιεί την αποδόμηση του DNA. Για την αποθήκευση σπερμάτων για δοκιμές φυτρωτικότητας, βλέπε υποκεφάλαιο 6.2.2.4.

6.2.2.1 Αποθήκευση δειγμάτων φυτικών ιστών για απομόνωση DNA στο πεδίο

6.2.2.1.1 Αποθήκευση σε χλωρή μορφή

Πολλοί φυτικοί ιστοί μπορούν να διατηρηθούν σταθεροί στο πεδίο τοποθετώντας τους σε πλαστικό σακουλάκι που κλείνει αεροστεγώς και αποθηκεύοντάς τους μακριά από το άμεσο ηλιακό φως και μεταβαλλόμενες θερμοκρασίες. Κουτιά από πολυστυρένιο (φελιζόλ), όπως αυτά που χρησιμοποιούνται για την αποστολή θερμοευαίσθητων υλικών, αποτελούν μια εύχρηστη λύση για την προστασία των δειγμάτων από θερμοκρασιακές διακυμάνσεις και το άμεσο ηλιακό φως. Μια μικρή ποσότητα πάγου ή μερικές παγοκύστες θα πρέπει να τοποθετούνται στο εσωτερικό του κουτιού. Βεβαιωθείτε όμως ότι τα δείγματα δεν έρχονται σε άμεση επαφή με τον πάγο ή κάποια παγοκύστη. Τα δείγματα που συλλέγονται και αποθηκεύονται με τέτοιο τρόπο θα πρέπει να τοποθετούνται εντός της ημέρας σε συνθήκες ελεγχόμενης ψύξης (Prendini *et al.* 2002).

6.2.2.1.2 Αποθήκευση μέσω ξήρανσης

Η ταχεία ξήρανση δειγμάτων φυτικού ιστού με διοξείδιο του πυριτίου (silica gel) είναι μια άλλη δημοφιλής προσέγγιση για την αποφυγή της υπέρμετρης αποικοδόμησης του DNA έως ότου τα δείγματα παραδοθούν στο εργαστήριο. Τα δείγματα θα πρέπει να τοποθετούνται σε επισημασμένα χάρτινα σακουλάκια τα οποία στη συνέχεια τοποθετούνται σε πλαστικά σακουλάκια με αεροστεγές κλείσιμο που περιέχουν διοξείδιο του πυριτίου. Χρησιμοποιήστε τουλάχιστον 10 φορές την ποσότητα διοξειδίου του πυριτίου σε σύγκριση με το φυτικό ιστό (αναλογία 10: 1 silica gel προς δείγμα κατά βάρος). Οι σακούλες με δείγματα και silica gel θα πρέπει να φυλάσσονται σε κλειστά πλαστικά κιβώτια ή αεροστεγείς σακούλες και μακριά από το άμεσο ηλιακό φως. Η ξήρανση των δειγμάτων στο πεδίο είναι αποτελεσματική μόνο για δείγματα με υψηλή αναλογία επιφάνειας προς όγκο, όπως φύλλα ή βελόνες. Μεγαλύτερα κλαδιά, καρποί ή μεγαλύτεροι τύποι δειγμάτων μπορεί να χρειαστούν πολύ χρόνο για να αποξηραθούν, με αποτέλεσμα την αποικοδόμηση του DNA. Τέτοια δείγματα συνιστάται να διατηρούνται σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (βλ. 6.2.2.1.1) και να τοποθετούνται σε συνθήκες ελεγχόμενης ψύξης εντός της ημέρας (Prendini *et al.* 2002, Chase and Hills 1991).

6.2.2.2 Αποθήκευση δειγμάτων φυτικών ιστών για απομόνωση DNA στο εργαστήριο

6.2.2.2.1 Βραχυπρόθεσμη αποθήκευση

Τα περισσότερα δείγματα φρέσκων φυτικών ιστών (κλάδοι με φύλλα / βελόνες / άνθη, φλοιός με κάμβιο), μπορούν να αποθηκευτούν σε θερμοκρασίες από τους +2 °C έως +4 °C για 2-3 ημέρες χωρίς σημαντικές απώλειες στην ποσότητα ή την ποιότητα του DNA (Prendini *et al.* 2002). Τα μη δύστροπα σπέρματα είναι γενικά πολύ λιγότερο επιρρεπή στην αποικοδόμηση του DNA και μπορούν να αποθηκευτούν σε θερμοκρασίες από τους +2 °C έως +4 °C για εβδομάδες ή ακόμα και μήνες, ανάλογα με το είδος, αλλά συνιστάται ο έλεγχος του επιπέδου υγρασίας για την πρόληψη ανάπτυξης μυκήτων ή / και βακτηρίων.

6.2.2.2.2 Μεσοπρόθεσμη αποθήκευση

Δείγματα φρέσκων φυτικών ιστών μπορούν να αποθηκευτούν σε καταψύκτη (-20 °C / -80 °C) για αρκετά χρόνια. Αν και η βιολογική (ενζυμική) αποικοδόμηση του DNA αναστέλλεται σε μεγάλο βαθμό όταν το δείγμα βρίσκεται σε

παγωμένη κατάσταση, μπορεί να συμβεί χημική αποικοδόμηση του DNA. Συνιστάται η χρήση μακροπρόθεσμων στρατηγικών αποθήκευσης όποτε είναι δυνατόν (Prendini 2002, Campbell *et al.* 2018).

6.2.2.2.3 Μακροχρόνια αποθήκευση

Για μακροχρόνια αποθήκευση, το DNA αποθηκεύεται μέσω της κρυοσυντήρησης διατηρώντας τα δείγματα σε υαλώδη κατάσταση (θερμοκρασία χαμηλότερη από τη θερμοκρασία μεταπτώσεως σε ύαλο για υδατικά διαλύματα). Στην υαλώδη κατάσταση, αναστέλλεται τόσο η βιολογική όσο και η χημική αποικοδόμηση του DNA στο μέγιστο δυνατό βαθμό (Campbell *et al.* 2018, Center for Plant Conservation 2020). Για μακροχρόνια κρυοσυντήρηση, τα δείγματα συνήθως αποθηκεύονται σε υγρό άζωτο ή σε εξειδικευμένους μηχανικούς καταψύκτες εξαιρετικά χαμηλής θερμοκρασίας, ικανούς να διατηρούν τη θερμοκρασία κάτω από το σημείο υαλώδους κατάστασης για βιολογικά δείγματα (μεταξύ $-132\text{ }^{\circ}\text{C}$ και $-136\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Prendini *et al.* 2002, Campbell *et al.* 2018, Center for Plant Conservation 2020). Δεδομένου ότι τα συστήματα κρυοσυντήρησης απαιτούν ειδική υποδομή ή/και συνδέονται με υψηλή αρχική επένδυση και κόστος λειτουργίας, συχνά η μέθοδος αυτή δεν είναι εφικτή για πολλά ερευνητικά ιδρύματα (Campbell *et al.* 2018, Center for Plant Conservation 2020).

Πολλοί φυτικοί ιστοί μπορούν να διατηρηθούν σταθεροί για μακροχρόνια αποθήκευση σε λιγότερο αυστηρές συνθήκες ($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ έως $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) για την απομόνωση υψηλής ποιότητας DNA. Οι Neubig *et al.* (2014) έδειξαν ότι φυτικό υλικό που καταψύχθηκε για 24 χρόνια διατήρησε υψηλή ποιότητα DNA ανεξάρτητα από το εάν ο ιστός αποθηκεύτηκε στους -20°C ή -80°C . Στα σπέρματα το DNA διατηρείται σε ιδιαίτερα υψηλή ποιότητα ακόμη και χωρίς μακροχρόνια κρυοσυντήρηση, ενώ μπορεί να απομονωθεί από σπέρματα μεγάλης ηλικίας και πολύ χαμηλής φυτρωτικότητας εφόσον αυτά έχουν διατηρηθεί σε σταθερές συνθήκες της τάξεως των $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ή χαμηλότερες (Walters *et al.* 2006). Παρόλο που η κρυοσυντήρηση είναι αναμφίβολα η πιο αξιόπιστη και ασφαλέστερη προσέγγιση για μακροχρόνια αποθήκευση φυτικού ιστού με μικρό κίνδυνο αποικοδόμησης του DNA, είναι εφικτό να επιτευχθεί καλή συντήρηση του DNA σε φυτικούς ιστούς ακόμη και σε όχι τόσο χαμηλές θερμοκρασίες υπό το μηδέν (Walters *et al.* 2006, Neubig *et al.* 2014). Προκειμένου να μειωθεί ο κίνδυνος αποικοδόμησης του DNA κατά τη μακροπρόθεσμη αποθήκευση φυτικών ιστών, συνιστάται να ακολουθούνται τα κάτωθι:

1. Θα πρέπει να διασφαλίζονται σταθερές συνθήκες αποθήκευσης και να αποφεύγονται οι διακυμάνσεις της θερμοκρασίας. Ως ένας γενικός κανόνας, όσο χαμηλότερη είναι η θερμοκρασία αποθήκευσης, τόσο πιο επιτυχής είναι η αποθήκευση. Κατά φθίνουσα σειρά προτίμησης η μακροχρόνια αποθήκευση κάτω από το σημείο υαλώδους μετάπτωσης, δηλαδή η κρυοσυντήρηση, είναι η πλέον συνιστώμενη μέθοδος, ακολουθούμενη από την αποθήκευση στους $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ και τέλος στους -20°C . Θερμοκρασίες μεταξύ $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ και $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ πρέπει να αποφεύγονται.
2. Οι επαναλαμβανόμενοι κύκλοι ψύξης και απόψυξης προκαλούν βλάβες στον φυτικό ιστό και στο DNA (βλ. Πλαίσια 6.1 και 6.2). Συνιστάται η αποθήκευση δειγμάτων φυτικού ιστού σε πολλά επιμέρους τμήματα, έτσι ώστε μόνο ένα τμήμα να αποψύχεται για κάθε απομόνωση DNA αντί της απόψυξης του συνόλου του αποθηκευμένου ιστού. Εάν είναι δυνατόν, επιμερίστε τα υποπολλαπλάσια τμήματα μεταξύ τουλάχιστον δύο συστημάτων αποθήκευσης, ώστε να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος απώλειας του συνόλου των τμημάτων του δείγματος σε περίπτωση βλάβης του εξοπλισμού.
3. Δεδομένου ότι οι περισσότερες διαδικασίες αποικοδόμησης του DNA εξαρτώνται από την παρουσία νερού, η ξήρανση των δειγμάτων (μέσω της λυοφιλοποίησης ή μέσω διοξειδίου του πυριτίου) πριν από την κατάψυξη, μπορεί να προσφέρει ένα επιπλέον επίπεδο προστασίας, ιδιαίτερα σε περίπτωση απόψυξης από δυσλειτουργία εξοπλισμού. Ειδικότερα, τα μη δύστροπα σπέρματα θα πρέπει να είναι αφυδατωμένα και συνιστάται να αποξηραίνονται στον αέρα για έως και μία εβδομάδα πριν από την αποθήκευση (Walters *et al.* 2006).
4. Εάν οι ανάλογοι πόροι είναι διαθέσιμοι, συνιστάται η αποθήκευση απομονωμένου DNA εκτός από τα δείγματα φυτικών ιστών, καθώς είναι πιο σταθερό από τον ιστό (Prendini *et al.* 2002). Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με την αποθήκευση δειγμάτων DNA, ανατρέξτε στο υποκεφάλαιο 6.2.2.3.

Πλαίσιο 6.1: Κύκλοι ψύξης-απόψυξης, Μέρος I

Όποια και αν είναι η προτιμητέα μέθοδος αποθήκευσης δειγμάτων φυτικού ιστού, οι επαναλαμβανόμενοι κύκλοι ψύξης-απόψυξης θα πρέπει να αποφεύγονται! Εκτός από την πιθανή άμεση συμβολή στην αποικοδόμηση του DNA (βλ. Πλαίσιο 6.2: Κύκλοι ψύξης-απόψυξης, Μέρος II στο υποκεφάλαιο 6.2.4.1), οι κύκλοι ψύξης-απόψυξης προκαλούν ρήξη των κυτταρικών μεμβρανών και οργανιδίων, εκθέτοντας το DNA σε αποικοδομητικά ένζυμα τα οποία αυξάνουν τον κίνδυνο ενζυμικής πέψης του DNA, όταν τα δείγματα αποψύχονται (Campbell *et al.* 2018).

6.2.2.3 Αποθήκευση απομονωμένου DNA

Οι ορθές συνθήκες αποθήκευσης διασφαλίζουν ότι η ποσότητα και η ακεραιότητα του απομονωμένου DNA θα διατηρηθεί στα κατάλληλα επίπεδα για ανάλυση. Αν και το DNA θεωρείται αρκετά σταθερό βιολογικό μακρομόριο, είναι αρκετά ευαίσθητο στην αποικοδόμηση με διάφορους μηχανισμούς. Λαμβάνοντας υπόψη ότι οι νουκλεάσες έχουν αδρανοποιηθεί κατά τη διαδικασία της απομόνωσης DNA, η χημική αποικοδόμηση αντιπροσωπεύει τη μεγαλύτερη απειλή για τη διατήρηση του DNA (Adams *et al.* 1999, Briggs 1999, Bada *et al.* 1999, Soltis and Soltis 1993, Thomas and Paabo 1994, Yagi *et al.* 1996). Επιπλέον, το DNA είναι ευαίσθητο σε υψηλές θερμοκρασίες και στην ιονίζουσα ακτινοβολία περιλαμβανομένων τμημάτων του υπεριώδους φάσματος, επομένως θα πρέπει να λαμβάνονται όλες οι προφυλάξεις ώστε να αποφεύγεται η έκθεση του σε αυτές τις συνθήκες (Prendini *et al.* 2002, Campbell *et al.* 2018).

Το προτιμότερο μέσο για την αποθήκευση DNA είναι τα υδατικά διαλύματα. Σε αυτά, οι κύριες αιτίες της αποικοδόμησης του DNA είναι η υδρολυτική διάσπαση, η αποαμίνωση, η απόσπαση πουρινών και πυριμιδινών και η οξειδωτική βλάβη (Briggs 1999, Bada *et al.* 1999, Thomas and Paabo 1994). Η υδρόλυση, η αποαμίνωση και η απόσπαση πουρινών και πυριμιδινών μπορούν να ανασταλούν αποθηκεύοντας το DNA σε αλκαλικά ρυθμιστικά διαλύματα (pH 8,0 - 9,0), καθώς αυτές οι διεργασίες αποδόμησης καταλύονται σε όξινες συνθήκες. Η οξειδωτική βλάβη ενισχύεται παρουσία μεταλλικών κατιόντων (Fe^{3+} , Cu^{2+} , κ.λπ.) μέσω αντίδρασης Fenton, με συγκεντρώσεις πάνω των 5 ppb να αρκούν για επιβλαβείς συνέπειες για το DNA. Για την απομάκρυνση των μετάλλων, συνιστάται η προσθήκη χηλικών παραγόντων όπως το αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA) εντός του διαλύματος αποθήκευσης DNA (Prendini *et al.* 2002).

6.2.2.3.1 Στρατηγικές αποθήκευσης DNA

Ανεξάρτητα από τον τρόπο αποθήκευσης, συνιστάται πάντοτε ο διαμοιρασμός κάθε δείγματος DNA σε επιμέρους μικρότερες ποσότητες - κλάσματα (aliquots), ώστε να υπάρχει ένα κλάσμα άμεσα διαθέσιμο για περαιτέρω αναλύσεις, ενώ η υπόλοιπη ποσότητα να βρίσκεται σε συνθήκες μακροχρόνιας αποθήκευσης. Η περίοδος για την οποία μπορεί να διατηρηθεί το DNA εξαρτάται τόσο από τις συνθήκες αποθήκευσης, όσο και από την ποσότητα, την ακεραιότητα και την καθαρότητα του εκάστοτε δείγματος (Πίνακας 6.1).

Παρόμοιοι κανόνες με αυτούς για την αποθήκευση φρέσκων φυτικών ιστών ισχύουν και για την αποθήκευση δειγμάτων απομονωμένου DNA – με την αποθήκευση σε υαλώδη κατάσταση, δηλαδή την αποθήκευση σε θερμοκρασίες κάτω από τη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης για διαλύματα νερού-βιολογικού πολυμερούς, να αποτελεί την ασφαλέστερη στρατηγική, ιδιαίτερα για μακροπρόθεσμη αποθήκευση (Campbell *et al.* 2018).

Παρόλο που έχει σημειωθεί κάποια πρόοδος στην αποθήκευση αποξηραμένων δειγμάτων DNA σε θερμοκρασία δωματίου, τόσο με τη μορφή εμπορικών συστημάτων όσο και με βάση εργαστηριακά πρωτόκολλα, η αποθήκευση λυοφιλοποιημένου DNA σε θερμοκρασία δωματίου είναι επίφοβη, ιδιαιτέρως για δείγματα με υψηλή περιεκτικότητα προσμείξεων στο απομονωμένο DNA (όπως τα δείγματα φυτικών ιστών) και για μεγάλες χρονικές περιόδους (Ivanova και Kuzmina 2013).

Πίνακας 6.1: Οι πιο διαδεδομένοι τρόποι αποθήκευσης δειγμάτων DNA. ΘΔ - θερμοκρασία δωματίου.

Στρατηγική αποθήκευσης	Συνθήκες	Διάλυμα αποθήκευσης	Περίοδος ¹
Βραχυπρόθεσμα	+ 2°C έως + 8°C	10mM Tris-HCl, 0.5mM EDTA, pH 8.5 – 9.0	εβδομάδες έως μήνες
Μεσοπρόθεσμα	-20 / -80°C	10mM Tris-HCl, 0.5mM EDTA, pH 8.5 – 9.0	χρόνια
Μακροπρόθεσμα	-80°C, κατακρήμνιση	Αιθανόλη	χρόνια έως δεκαετίες
Πολύ μακροπρόθεσμα	-196°C (υγρό άζωτο)	10mM Tris-HCl, 0.5mM EDTA, pH 8.5 – 9.0	δεκαετίες
Πολύ μακροπρόθεσμα	-136 έως -150°C (υπερκατάψυξη)	10mM Tris-HCl, 0.5mM EDTA, pH 8.5 – 9.0	δεκαετίες
Πολύ μακροπρόθεσμα	ΘΔ, αποξήρανση (απουσία υγρασίας)	ποικίλα ²	δεκαετίες ³

¹ Οι προαναφερόμενες περίοδοι αποτελούν εκτιμήσεις με βάση τις τιμές που αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία και την εμπειρία των εργαστηρίων που συμμετέχουν στο έργο LIFEGENMON.

² Οι περισσότερες προσεγγίσεις για την αποθήκευση δειγμάτων DNA σε λυοφιλοποιημένη μορφή περιλαμβάνουν τη χρήση προστατευτικών πλεγμάτων όπως η τρεχαλόζη ή η πολυβινυλική αλκοόλη (PVA). Η προστασία των λυοφιλοποιημένων δειγμάτων DNA από την ενυδάτωση και από θερμοκρασιακές διακυμάνσεις αποτελεί προϋπόθεση για να την αποφυγή υποβάθμισης τους.

³ Η απομάκρυνση του νερού θεωρητικά διασφαλίζει παρόμοια επίπεδα προστασίας έναντι της αποικοδόμησης του DNA με την κρυσταλλοποίηση, αλλά εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την πλήρη πρόληψη της ενυδάτωσης των αποξηραμένων δειγμάτων DNA, γεγονός που συχνά είναι δύσκολο να επιτευχθεί μακροπρόθεσμα.

Από εργαστηριακές δοκιμές που διεξήγαγε η Qiagen GmbH (κατασκευαστής εμπορικά διαθέσιμων προϊόντων απομόνωσης DNA/RNA), αναφέρει ότι το DNA υψηλού μοριακού βάρους μπορεί να αποθηκευτεί με ασφάλεια σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris-EDTA pH 8,5 για τουλάχιστον 16 χρόνια στους -20°C και τουλάχιστον για 8 χρόνια από + 2°C έως + 8°C, υπό την προϋπόθεση ότι το DNA είναι υψηλής καθαρότητας (απουσία δραστηριότητας νουκλεασών) (Hartmann *et al.* 2016). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι το DNA που χρησιμοποιήθηκε στις δοκιμές της Qiagen απομονώθηκε από δείγματα αίματος και ότι οι φυτικοί ιστοί είναι κατά γενική ομολογία πολύ πιο προβληματικοί όσον αφορά την απομάκρυνση προσμείξεων κατά τη διαδικασία απομόνωσης DNA. Το γεγονός αυτό θα πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη κατά τη διαδικασία επιλογής στρατηγικών αποθήκευσης.

Box 6.2: Κύκλοι ψύξης-απόψυξης, Μέρος II

Ανκαι είναι γενικά γνωστό στα εργαστήρια μοριακής γενετικής, οι πραγματικές επιπτώσεις των επαναλαμβανόμενων κύκλων ψύξης-απόψυξης στην ποιότητα του DNA, παραμένουν θέμα αμφισβήτησης. Στη μελέτη τους οι Schuster και Appleby (1983) ανέφεραν ότι οι επαναλαμβανόμενοι κύκλοι ψύξης-απόψυξης δεν προκαλούν υποβάθμιση του DNA, ασκώντας κριτική για τη χρήση ραδιενεργά σημασμένου DNA σε προηγούμενες μελέτες, καθώς η υποβάθμιση του ραδιενεργού σήματος θα μπορούσε να αποτελεί την πραγματική αιτία της διαφαινόμενης υποβάθμισης του DNA αντί του αριθμού των κύκλων ψύξης-απόψυξης. Καθώς όμως και στη μοριακή βιολογία ισχύει ότι «*το προνοείν και προλαμβάνειν κρείττον εστί του θεραπεύειν*», συνιστάται τα δείγματα DNA να διαμοιράζονται σε επιμέρους κλάσματα. Αυτό συνιστάται, προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η αποικοδόμηση, όχι μόνο λόγω επαναλαμβανόμενων κύκλων ψύξης-απόψυξης, αλλά και λόγω της χημικής αποικοδόμησης. Επίσης για να ελαχιστοποιηθεί η πιθανότητα επιμόλυνσης όλης της ποσότητας ενός δείγματος (Prendini *et al.* 2002, Campbell *et al.* 2018).

6.2.2.4 Αποθήκευση σπερμάτων για δοκιμές φυτρωτικότητας

Τα σπέρματα για δοκιμές φυτρωτικότητας στο πλαίσιο της ΓΠΔ θα πρέπει να συλλέγονται ώριμα, κατά τη διάρκεια ή λίγο πριν από τη φυσική διασπορά (Hay και Smith 2003). Εάν τα σπέρματα συλλεχθούν πριν την ωρίμανση ενδέχεται να χάσουν τη βιωσιμότητά τους και επομένως να καταστεί αδύνατη η διενέργεια δοκιμών φυτρωτικότητας (Pedrini *et. κ.λπ.* 2020, Vitis *et al.* 2020). Εξαίρεση αποτελεί η συλλογή «πράσινων σπερμάτων»

του γένους *Fraxinus* πριν την έναρξη του ληθάργου, αν - και μόνο αν - αυτά τα σπέρματα πρόκειται να χρησιμοποιηθούν άμεσα σε δοκιμή φυτρωτικότητας. Το δείγμα για δοκιμή φυτρωτικότητας, στο πλαίσιο της ΓΠΔ, λαμβάνεται από την επιφάνεια της γενετικής παρακολούθησης συλλέγοντας μικρές ποσότητες σπερμάτων με τυχαίο τρόπο από διαφορετικές θέσεις εντός της επιφάνειας ή από διαφορετικά τμήματα της κόμης (εάν οι τα σπέρματα/ οι κώνοι συλλέγονται απευθείας από δέντρα) και ακολουθεί η ανάμιξή τους για τον σχηματισμό ενός ομοιογενούς δείγματος. Εναλλακτικά, ένα μέρος των σπερμάτων τα οποία συλλέγονται από 20 δέντρα για αναλύσεις DNA μπορούν να αναμιχθούν και να χρησιμοποιηθούν για τη δοκιμή φυτρωτικότητας. Κάθε στάδιο της δοκιμής φυτρωτικότητας θα πρέπει να εκτελείται ακολουθώντας τις ενδεδειγμένες μεθόδους και τον ενδεδειγμένο εξοπλισμό σύμφωνα με τους κανονισμούς ISTA (2020, διαθέσιμο στην ιστοσελίδα https://www.seedtest.org/en/ista-rules-2019-_content---1--3410.html). Δεδομένου ότι τα αποτελέσματα των δοκιμών φυτρωτικότητας είναι ζωτικής σημασίας για τη ΓΠΔ, π.χ. για την εκτίμηση του πραγματικού ποσοστού ομομιξίας, αυτές θα πρέπει να εκτελούνται το ίδιο έτος/εποχή με τη συλλογή των σπερμάτων. Η αποθήκευση σπερμάτων για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα ενδέχεται να μειώσει δραστικά τη φυτρωτικότητα τους και να επηρεάσει τα αποτελέσματα της δοκιμής φυτρωτικότητας (GT) και της τοπογραφικής δοκιμής με τετραζόλιο (TT) (βιοχημική δοκιμή βιωσιμότητας), ιδιαίτερα σε δύστροπα είδη. Ως εκ τούτου, η δοκιμή φυτρωτικότητας θα πρέπει να διεξάγεται το συντομότερο δυνατόν μετά την παράδοση των σπερμάτων στο αρμόδιο εργαστήριο.

6.3 Δοκιμή φυτρωτικότητας σπερμάτων

Ο έλεγχος των σπερμάτων που συνίσταται στην εκτίμηση του βάρους σπερμάτων, της φυτρωτικότητας σπερμάτων (GT) και στην πραγματοποίηση των βιοχημικών δοκιμών βιωσιμότητας (TT), θα πρέπει να διεξάγεται σύμφωνα με τα πρωτόκολλα των Διεθνών Κανόνων για τις Δοκιμές Φυτρωτικότητας Σπερμάτων (ISTA, 2020, διαθέσιμα στο https://www.seedtest.org/en/ista-rules-2019-_content---1--3410.html). Κάθε μέγεθος δείγματος προέρχεται από ονομαστικό βάρος 1.000 σπερμάτων για κάθε δασοπονικό είδος το οποίο, σύμφωνα με τα διαθέσιμα στοιχεία, αναμένεται να είναι επαρκές για την πλειονότητα των δειγμάτων και των ειδών. Εξαιρέση αποτελούν τα είδη των γενών *Quercus* και *Prunus*, όπου το εξεταζόμενο μέγεθος δείγματος θα πρέπει να είναι 500 σπέρματα.

Οι μέθοδοι δοκιμής φυτρωτικότητας σπερμάτων για τα επτά στοχευμένα δασοπονικά είδη στο έργο LIFEGENMON παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.2. Για παράδειγμα στο πλαίσιο των δράσεων του έργου, διεξήχθη μόνο ο έλεγχος GT για την *Abies alba*, ενώ για την *Fagus sylvatica* πραγματοποιήθηκε μόνο η δοκιμή TT. Είναι δυνατό να διεξαχθούν και οι δύο τύποι δοκιμών (TT και GT) και για τα δύο είδη, ωστόσο η δοκιμή TT είναι σαφώς ταχύτερη.

Πίνακας 6.2: Τύπος δοκιμής που συνιστά ο ISTA (2004) για τα στοχευμένα δασοπονικά είδη του έργου LIFEGENMON.

Είδος	Τύπος δοκιμής που συνιστά ο ISTA:		Παρατηρήσεις
	GT - Δοκιμή φυτρωτικότητας	TT - Τοπογραφική δοκιμή του τετραζολίου	
<i>Abies alba</i> Mill.	GT		Πρόψυξη για 21 έως και 28 ημέρες για βλάστηση
<i>Fagus sylvatica</i> L.	TT		Εάν εφαρμόζεται GT: 24 εβδομάδες για βλάστηση / άρση του ληθάργου
<i>Fraxinus</i> spp.	TT		Εάν εφαρμόζεται GT: 9 μήνες στρωμάτωσης και έως 56 ημέρες για βλάστηση*
<i>Pinus nigra</i> J. F. Arnold	GT		Έως 21 ημέρες για βλάστηση
<i>Populus</i> spp.	GT		Έως 10 ημέρες για βλάστηση
<i>Prunus avium</i> (L.) L.	TT		Εάν εφαρμόζεται GT: Πρόψυξη 3-4 μηνών και έως 28 ημέρες για βλάστηση
<i>Quercus</i> spp.	GT		Έως 28 ημέρες για βλάστηση (συνιστάται προεργασία, συμβουλευτείτε σχετικά πρωτόκολλα

* σπέρματα φράξου (*Fraxinus excelsior* και *F. angustifolia*) τα οποία συλλέγονται πράσινα – πριν την ανάπτυξη πολλαπλού ληθάργου, φυτρώνουν άμεσα

6.3.1 Εξαγωγή σπερμάτων *Abies alba* για δοκιμή φυτρωτικότητας

Μετά τη συγκομιδή των κώνων:

- Οι κώνοι από μεμονωμένα δέντρα θα πρέπει να φυλάσσονται σε ξεχωριστά πλαστικά κιβώτια με ετικέτα.
- Το κάτω μέρος του κιβωτίου θα πρέπει να καλύπτεται από ένα δίχτυ για να αποτρέψει τη διαφυγή των σπερμάτων μέσω των οπών (βλ. Εικ. 6.1α).



Σχήμα 6.1: Κιβώτια για τη διατήρηση των κώνων ελάτης έως ότου ανοίξουν τα σπερματοβλαστικά λέπια τους και απελευθερωθούν τα σπέρματα (α και β). Ένα κόσκινο χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό των σπερμάτων ελάτης από τα υπόλοιπα μέρη των κώνων (γ) (Φωτογραφίες: Darius Kavaliauskas).

- Όλα τα κιβώτια με τους κώνους θα πρέπει να αποθηκεύονται σε καλά αεριζόμενο χώρο για μερικούς μήνες, έως ότου τα σπερματοβλαστικά λέπια των κώνων αρχίσουν να πέφτουν (Σχήμα 6.1β).
- Αφού οι κώνοι *Abies alba* απορρίψουν τα σπερματοβλαστικά λέπια τους, τα σπέρματα κάθε δέντρου θα πρέπει να καθαρίζονται ξεχωριστά (Σχήμα 6.1γ. κόσκινο για τον καθαρισμό σπερμάτων *Abies spp.* από λοιπά τμήματα του κώνου, πτερύγια κ.λπ.).

6.3.2 Προεργασία για δοκιμή φυτρωτικότητας σπερμάτων *Fagus sylvatica* και *Abies alba/A. borisii-regis*

- Έπειτα από τον καθαρισμό των σπερμάτων από υπολείμματα, 120 g μείγματος σπερμάτων για την ελάτη (*Abies spp.*) και 600 g για την οξυά (*Fagus sylvatica*), παρασκευασμένα χρησιμοποιώντας ίση ποσότητα από κάθε δέντρο, χρησιμοποιούνται στις περαιτέρω αναλύσεις. Τα άδεια σπέρματα δεν θα πρέπει να αφαιρούνται κατά τον καθαρισμό. Ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα του εξεταζόμενου δείγματος θα πρέπει να λαμβάνεται ως εργαστηριακό δείγμα.
- Όλες οι αναλύσεις θα πρέπει να διεξάγονται σύμφωνα με τα πρωτόκολλα ISTA (2020). Κάθε μέγεθος δείγματος προέρχεται από ονομαστικό βάρος 1.000 σπερμάτων για κάθε δασοπονικό είδος το οποίο, σύμφωνα με τα διαθέσιμα στοιχεία, αναμένεται να είναι επαρκές για την πλειονότητα των δειγμάτων.

Σημείωση: Για το σκοπό της ΓΠΔ συλλέγονται μόνο άρτια σπέρματα του υπό μελέτη είδους, επομένως δεν είναι απαραίτητος ο προσδιορισμός της καθαρότητας της σπορομερίδας, δεδομένου ότι η συλλογή πραγματοποιείται αποκλειστικά με σκοπό την ανάλυση του βάρους 1.000 σπερμάτων και τη δοκιμή φυτρωτικότητας (GT)/βιωσιμότητας (TT). Η ανάλυση καθαρότητας συνιστάται να διεξάγεται

μόνο στις περιπτώσεις ύπαρξης παράσιτων και ασθενειών ή ύπαρξης συγγενών ειδών και υβριδίων σε μίξη.

Πίνακας 6.3: Μεγέθη εξεταζόμενου δείγματος και δείγματος εργασίας σπερμάτων των στοχευμένων δασοπονικών ειδών, τροποποιημένα από ISTA (2020)

Δασοπονικό Είδος	Εξεταζόμενο δείγμα	Δείγμα εργασίας
<i>Abies alba</i>	240 g	120 g
<i>Fagus sylvatica</i>	1000 g	600 g
<i>Fraxinus</i> spp.	400 g	200 g
<i>Pinus nigra</i>	100 g	50 g
<i>Populus</i> spp.	5 g	2 g
<i>Prunus avium</i>	500 σπέρματα	500 σπέρματα
<i>Quercus</i> spp.	500 σπέρματα	500 σπέρματα

1. Προσδιορισμός βάρους

Ο προσδιορισμός του βάρους θα πρέπει να ακολουθεί τα πρωτόκολλα ISTA (2020).

Το δείγμα εργασίας θα πρέπει να αποτελείται από το πλήρες κλάσμα καθαρών σπερμάτων. Η μεταβολή της περιεχόμενης υγρασίας των δειγμάτων εργασίας θα πρέπει να αποφεύγεται κατά το δυνατόν, αποθηκεύοντας τα μόνο για μικρές περιόδους πριν την ανάλυση σε υγρασιοστεγείς συσκευασίες.

Καταμέτρηση επαναλήψεων: Από το δείγμα εργασίας καταμετρώνται τυχαία με το χέρι ή με αυτόματο καταμετρητή σπερμάτων, οκτώ επαναλήψεις των 100 σπερμάτων. Κάθε επανάληψη ζυγίζεται σε γραμμάρια με ακρίβεια τριών δεκαδικών ψηφίων.

Υπολογισμός και έκφραση των αποτελεσμάτων

- Εάν η καταμέτρηση πραγματοποιείται από αυτόματο καταμετρητή, το βάρος των 1.000 σπερμάτων υπολογίζεται από το βάρος ολόκληρου του δείγματος εργασίας.
- Εάν η καταμέτρηση πραγματοποιείται με επαναλήψεις, τότε το μέσο βάρος 1.000 σπερμάτων υπολογίζεται από το βάρος οκτώ ή περισσότερων επαναλήψεων.
- Το αποτέλεσμα εκφράζεται στον αριθμό των δεκαδικών ψηφίων που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό των μεμονωμένων ζυγίσεων σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\text{Βάρος 1,000 σπερμάτων (g)} = \frac{(\text{Άθροισμα 8 επαναλήψεων (g)} \times 10)}{8}$$

2. Δοκιμή φυτρωτικότητας

Οι δοκιμές φυτρωτικότητας (GT) θα πρέπει να ακολουθούν τα πρωτόκολλα ISTA (2020), λαμβάνοντας υπόψη την απλοποίηση που παρουσιάζεται παρακάτω.

Ποσοστό βλάστησης

Το ποσοστό βλάστησης υποδεικνύει την αναλογία των σπερμάτων που έχουν παράξει φυτάρια τα οποία χαρακτηρίζονται ως φυσιολογικά υπό τις συνθήκες και εντός της περιόδου που ορίζεται στον Πίνακα 6.4.

Οι βασικές δομές φυταρίων

Οι ακόλουθες δομές είναι απαραίτητες για τη συνεχιζόμενη ανάπτυξη ενός φυταρίου σε ένα ικανοποιητικό φυτό: ρίζα-ριζίδιο, βλαστικός άξονας, κοτυληδόνες, επικόρυφοι οφθαλμοί.

Κανονικά φυτάρια

Τα κανονικά φυτάρια έχουν τη δυνατότητα για συνεχή ανάπτυξη σε ικανοποιητικά φυτά όταν καλλιεργούνται σε έδαφος καλής ποιότητας και σε ευνοϊκές συνθήκες υγρασίας, θερμοκρασίας και φωτός. Για να ταξινομηθεί ως κανονικό, ένα φυτάριο θα πρέπει να κατατάσσεται σε μία από τις ακόλουθες κατηγορίες:

1. Άθικτα φυτάρια: φυτάρια με όλες τις βασικές δομές τους καλά αναπτυγμένες, πλήρη σε αναλογίες και υγιή.
2. Φυτάρια με ελαφρά ελαττώματα: φυτάρια τα οποία παρουσιάζουν ορισμένα ελαφρά ελαττώματα στις βασικές δομές τους, υπό την προϋπόθεση ότι παρουσιάζουν μια κατά τα άλλα ικανοποιητική και ισορροπημένη ανάπτυξη συγκρίσιμη με εκείνη των άθικτων φυταρίων της ίδιας δοκιμής.
3. Φυτάρια με δευτερογενή μόλυνση: φυτάρια τα οποία θα κατατάσσονταν στις κατηγορίες 1 ή 2, αλλά έχουν προσβληθεί από μύκητες ή βακτήρια εξωγενώς και ανεξαρτήτως από την κατάσταση των γονικών σπερμάτων.

Μη κανονικά φυτάρια

Τα μη κανονικά φυτάρια δεν παρουσιάζουν τυπική δυνατότητα ανάπτυξης όταν καλλιεργούνται σε έδαφος καλής ποιότητας και υπό ευνοϊκές συνθήκες υγρασίας, θερμοκρασίας και φωτός.

Τα ακόλουθα φυτάρια ταξινομούνται ως μη κανονικά:

1. Κατεστραμμένα εν πολλοίς φυτάρια: φυτάρια με έλλειψη κάποιας βασικής δομής ή σε μεγάλο βαθμό και ανεπανόρθωτα κατεστραμμένα, ώστε δεν αναμένεται να έχουν ισορροπημένη ανάπτυξη.
2. Παραμορφωμένα φυτάρια: φυτάρια με αδύναμη ανάπτυξη ή διαταραχές στη φυσιολογία τους, ή φυτάρια στα οποία βασικές δομές έχουν παραμορφωθεί ή έχουν ασύμμετρη ανάπτυξη.
3. Φυτάρια υπό μερική αποσύνθεση: φυτάρια με οποιαδήποτε από τις βασικές δομές τους σε μεγάλο βαθμό προσβεβλημένες ή αποσυντεθειμένες, ως αποτέλεσμα πρωτογενούς μόλυνσης η οποία δεν επιτρέπει τη φυσιολογική τους ανάπτυξη.

Πολύσπερμες ενότητες

Ενότητες σπερμάτων ικανές να παράγουν περισσότερα από ένα φυτάρια.

Μη φυτρωμένα σπέρματα

Τα σπέρματα τα οποία δεν φύτευσαν έως το τέλος της περιόδου δοκιμής φυτρωτικότητας όπου δοκιμάστηκαν υπό τις συνθήκες που αναφέρονται στον πίνακα 6.4, ταξινομούνται ως εξής:

1. Σκληρά σπέρματα: σπέρματα που παραμένουν σκληρά στο τέλος της περιόδου δοκιμής, επειδή δεν έχουν απορροφήσει νερό.
2. Φρέσκα σπέρματα: όλα τα σπέρματα πλην των σκληρών σπερμάτων, τα οποία δεν έχουν βλαστήσει υπό τις συνθήκες της δοκιμής φυτρωτικότητας, αλλά παραμένουν καθαρά και συμπαγή και έχουν την εν δυνάμει δυνατότητα να εξελιχθούν σε κανονικά φυτά.
3. Νεκρά σπέρματα: σπέρματα τα οποία στο τέλος της περιόδου δοκιμής δεν είναι ούτε σκληρά ούτε φρέσκα και δεν έχουν αναπτύξει κανένα τμήμα ενός φυταρίου.
4. Άλλες κατηγορίες: σε ορισμένες περιπτώσεις, τα άδεια και τα μη φυτρωμένα σπέρματα μπορούν να κατηγοριοποιηθούν περαιτέρω σύμφωνα με τις κατηγορίες που περιγράφονται στους κανόνες ISTA 5.2.7.A.

Τα μη φυτρωμένα σπέρματα θα πρέπει να εξετάζονται και το ποσοστό κενών σπερμάτων να καταγράφεται, καθώς η τιμή αυτή χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό του ποσοστού πλήρων σπερμάτων, μία παράμετρο η οποία αποτελεί επαληθευτή προχωρημένου επιπέδου για τον δείκτη «φυσική επιλογή». Ως εκ τούτου, δε θα πρέπει να πραγματοποιείται απόρριψη των κενών σπερμάτων πριν την διεξαγωγή της δοκιμής φυτρωτικότητας (ή της βιοχημικής δοκιμής βιωσιμότητας), εκτός και αν η εκτίμηση του ποσοστού κενών σπερμάτων πραγματοποιείται ως μεμονωμένο πείραμα. Ωστόσο αυτή η στρατηγική αυξάνει τις απαιτήσεις σε φόρτο εργασίας και αριθμό

σπερμάτων για τις δοκιμές. Το ποσοστό των κενών σπερμάτων υπολογίζεται με τον ίδιο τρόπο όπως και το ποσοστό βλάστησης (βλ. «Υπολογισμός και έκφραση των αποτελεσμάτων» παρακάτω και ενότητα 6.5.5.1.2).

Υλικά

Όπως αναφέρεται στον Πίνακα 6.4, το χαρτί ή η άμμος χρησιμοποιούνται συνήθως ως υποστρώματα. Το φυτόχωμα ή τα τεχνητά κομπόστ δεν συνιστώνται ως πρωτεύοντα υποστρώματα δοκιμής εκτός μερικών ειδικών περιπτώσεων.

Δείγμα εργασίας

Τετρακόσια σπέρματα σε επιμέρους κλάσματα των 100 σπερμάτων λαμβάνονται τυχαία από το δείγμα καθαρών σπερμάτων και τοποθετούνται ώστε να απέχουν ομοιόμορφα και επαρκώς κεχωρισμένα στο υγρό υπόστρωμα. Οι επαναλήψεις μπορούν να χωριστούν σε δευτερεύοντα τμήματα των 50 ή 25 σπερμάτων ανάλογα με το μέγεθος των σπερμάτων και το μέγεθος του χώρου που απαιτείται να υπάρχει μεταξύ τους.

Οι πολύσπερμες ενότητες δεν διασπώνται για τη δοκιμή φυτρωτικότητας, αλλά δοκιμάζονται ως μεμονωμένα σπέρματα.

Διάρκεια της δοκιμής

Η διάρκεια της δοκιμής για μεμονωμένα είδη δίνεται στον Πίνακα 6.4. Το χρονικό διάστημα που απαιτείται για την άρση του ληθάργου πριν ή κατά τη διάρκεια της δοκιμής ISTA δεν περιλαμβάνεται στην περίοδο δοκιμής.

Αξιολόγηση

Προκειμένου να πραγματοποιηθεί η αξιολόγηση της φυτρωτικότητας, οι βασικές δομές θα πρέπει να έχουν αναπτυχθεί επαρκώς ώστε να επιτρέπουν την ανίχνευση τυχόν ανωμαλιών.

Εάν δείγματα τα οποία δοκιμάζονται σε χαρτί παράγουν φυτάρια τα οποία δεν είναι εύκολο να αξιολογηθούν, η δοκιμή θα πρέπει να επαναλαμβάνεται σε άμμο ή έδαφος καλής ποιότητας στη θερμοκρασία που αναφέρεται στον Πίνακα 6.4 και σε ευνοϊκές συνθήκες υγρασίας και φωτός.

Στο τέλος της δοκιμής φυτρωτικότητας, τα σπέρματα τα οποία δεν έχουν βλαστήσει θα πρέπει να ταξινομηθούν ως φρέσκα. Η αξιολόγηση για την ανίχνευση άδειων ή κατεστραμμένων από έντομα σπερμάτων μπορεί να διενεργηθεί πριν από τη δοκιμή φυτρωτικότητας.

Οι πολύσπερμες ενότητες σπερμάτων υπολογίζονται ως μεμονωμένες μονάδες και το αποτέλεσμα της δοκιμής δείχνει το ποσοστό των μονάδων που έχουν παραγάγει τουλάχιστον ένα κανονικό φυτάριο. Είναι δυνατό επίσης να προσδιοριστεί ο αριθμός των κανονικών φυταρίων που παράγονται από 100 μονάδες σπερμάτων ή ο αριθμός μονάδων σπερμάτων που έχουν παραγάγει ένα, δύο ή περισσότερα από δύο κανονικά φυτά.

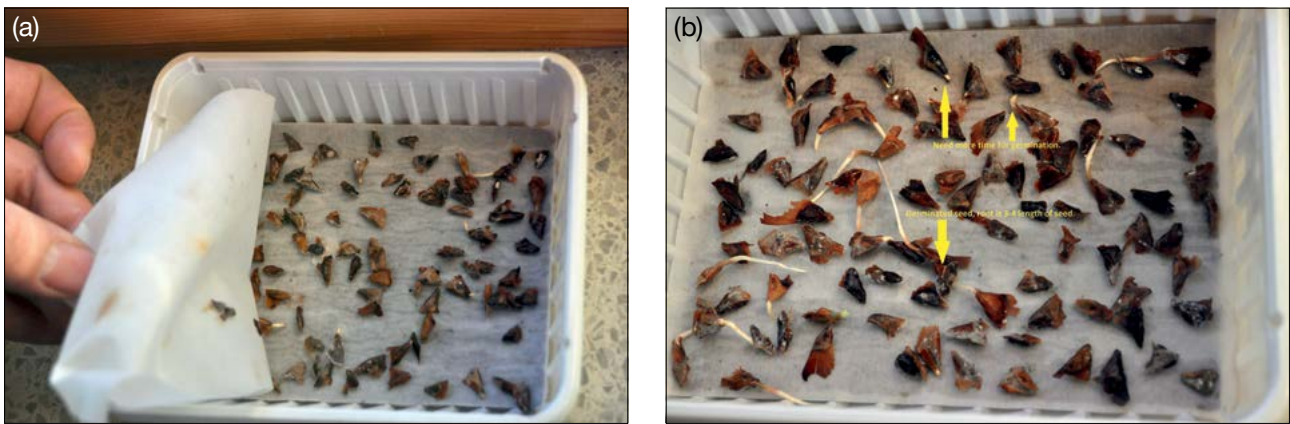
Υπολογισμός και έκφραση των αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ποσοστό επί του συνολικού αριθμού. Όταν τέσσερις επαναλήψεις 100 σπερμάτων μιας δοκιμής βρίσκονται εντός του μέγιστου ανεκτού εύρους, ο μέσος όρος αντιπροσωπεύει το ποσοστό φυτρωτικότητας που θα πρέπει να αναφερθεί στο τροποποιημένο πιστοποιητικό, βάσει του ISTA. Το μέσο ποσοστό στρογγυλοποιείται στον πλησιέστερο ακέραιο αριθμό.

Ο πίνακας 6.4 «Μέθοδοι βλάστησης» δείχνει τα συνιστώμενα υποστρώματα, τη διάρκεια της δοκιμής και τις προτεινόμενες πρόσθετες εργασίες για δείγματα σε λήθαργο:

- Υποστρώματα - Η ακολουθία εναλλακτικών υποστρωμάτων είναι η ίδια και δεν υποδηλώνει καμία προτίμηση: TP, BP, S. Το υπόστρωμα BP καθώς και το υπόστρωμα TP μπορούν να αντικατασταθούν από υπόστρωμα PP (πτυχωτό χαρτί).
- Θερμοκρασία - Η ακολουθία εναλλακτικών θερμοκρασιών είναι η ίδια σε όλη τη διάρκεια και δεν δείχνει καμία προτίμηση: εναλλασσόμενες θερμοκρασίες, υψηλότερες πρώτες - σταθερές θερμοκρασίες, υψηλότερες πρώτες.

- Πρώτη καταμέτρηση - Ο χρόνος για την πρώτη καταμέτρηση είναι κατά προσέγγιση και αναφέρεται στην εναλλακτική με την υψηλότερη θερμοκρασία στα υποστρώματα χαρτιού. Εάν επιλεγεί εναλλακτική λύση χαμηλότερης θερμοκρασίας ή όταν η δοκιμή γίνεται σε άμμο, η πρώτη μέτρηση ενδέχεται να χρειαστεί να καθυστερήσει. Για μια δοκιμή στην άμμο με τελική μέτρηση μετά από 7-10 (14) ημέρες, η πρώτη μέτρηση μπορεί να παραλειφθεί εντελώς.
- Φως - Ο φωτισμός συνιστάται γενικά για την καλύτερη ανάπτυξη φυταρίων. Εάν σε ορισμένες περιπτώσεις απαιτείται φως για την προώθηση της βλάστησης των σπερμάτων σε λήθαργο ή αντιθέτως, αν το φως μπορεί να έχει ανασταλτικό ρόλο στη βλάστηση και τα υποστρώματα πρέπει να διατηρούνται στο σκοτάδι, αυτό περιγράφεται στην τελευταία στήλη.



Σχήμα 6.2: (α) Κυτίο με σπέρματα (BP – σπέρματα μεταξύ των χαρτιών), (β) Παραδείγματα φυτρωμένων σπερμάτων *Abies alba*. (Φωτογραφίες: Darius Kavaliauskas)

Ειδικά για τα είδη του γένους *Abies*: Για τη δοκιμή φυτρωτικότητας στην *Abies alba* χρησιμοποιούνται τέσσερις επαναλήψεις των 100 σπερμάτων ανά επανάληψη (συνολικά 400 σπέρματα). Η άρση του ληθάργου διαρκεί 21 ημέρες σε συνθήκες ψύξης στους 3-5°C. Το υπόστρωμα σύμφωνα με τον ISTA (2020) είναι χαρτί κάτω από τα σπέρματα (υπόστρωμα TP), ωστόσο, για την *Abies alba* το υπόστρωμα μπορεί να αποτελείται και από φύλλα χαρτιού εκατέρωθεν των σπερμάτων (υπόστρωμα BP) (προαιρετικά) (Σχήμα 6.2α). Ένα επιπλέον χαρτί κυτταρίνης μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να διατηρεί το νερό / υγρασία για τα σπέρματα. Όλες οι επαναλήψεις θα πρέπει να διατηρούνται στους θαλάμους βλάστησης για 28 ημέρες (η διάρκεια μπορεί να παραταθεί έως και δύο εβδομάδες). Χρησιμοποιούνται δύο προγράμματα θερμοκρασίας: 16 ώρες στους 20 °C και 8 ώρες στους 30 °C (επαναλαμβάνεται κάθε μέρα κατά τη διάρκεια όλων των δοκιμών φυτρωτικότητας). Η πρώτη καταμέτρηση των σπερμάτων που βλάστησαν πραγματοποιείται την έβδομη ημέρα, όπου μετρώνται τα σπέρματα ανά επανάληψη τα οποία φέρουν ριζίδιο με μήκος τρεις-τέσσερις φορές το μήκος του σπέρματος (Σχήμα 6.2β). Τα φυτρωμένα σπέρματα καταμετρώνται κάθε επτά ημέρες έως το πέρας της δοκιμής.

Τα αποτελέσματα δίνονται ως ποσοστά (μέσος όρος 4 επαναλήψεων): ποσοστό κανονικών φυταρίων, μη κανονικών φυταρίων, σκληρών σπερμάτων, φρέσκων σπερμάτων και νεκρών σπερμάτων. Τα υπόλοιπα σπέρματα τα οποία δεν βλαστάνουν κατά τη διάρκεια της δοκιμής θα πρέπει να διαρρηγνύονται (τομή με νυστέρι) και να αξιολογείται ο λόγος για τον οποίο δεν βλάστησαν.

Πίνακας 6.4: Μέθοδοι βλάστησης (Για ορισμένα είδη τα οποία αναφέρονται στη έκτη στήλη, μία δεύτερη δοκιμή (με ή χωρίς προ-ψύξη) είναι αναγκαία).

Δασοπονικό Είδος	Συστάσεις για:				Επιπρόσθετες οδηγίες, συμπεριλαμβανομένων προτεινόμενων μέτρων για την άρση του ληθάργου
	Υπόστρωμα	Θερμοκρασία °C	Πρώτη καταμέτρηση (ημέρες)	Τελική καταμέτρηση (ημέρες)	
<i>Abies alba</i>	TP / BP	20°C/16h + 30°C/8h	7	28	Πρόψυξη 21 μέρες στους 3-5 3-5°C
<i>Fagus sylvatica</i>	TP	3°C/16h + 5°C/8h	-	-	1. Η διάρκεια της δοκιμής εξαρτάται από την παρουσία ληθάργου και σε μια ακραία περίπτωση μπορεί να απαιτούνται περίπου 24 εβδομάδες 2. Προτείνεται διεξαγωγή ΤΤ (δοκιμή τετραζολίου)
<i>Pinus nigra</i>	TP	20°C/16h + 30°C/8h	7	21, (14)	
<i>Fraxinus spp.</i>	TP	20°C/16h + 30°C/8h	14	56	1. Έκθεση των σπερμάτων για 2 μήνες στους 20°C και στη συνέχεια 7 μήνες στους 3-5°C. 2. Προτείνεται διεξαγωγή ΤΤ (δοκιμή τετραζολίου)
<i>Prunus avium</i>	S	20°C/16h + 30°C/8h	7	28	1. Προ - ψύξη σπερμάτων για 3-4 μήνες στους 3-5°C. 2. Προτείνεται διεξαγωγή ΤΤ (δοκιμή τετραζολίου)
<i>Populus spp.</i>	TP	20°C/16h + 30°C-8h	3	10	
<i>Quercus spp.</i>	TS, (S)	20°C/24 h	7	28	Εμβάπτιση των σπερμάτων για έως και 48 ώρες και τομή στο άκρο τους για την αφαίρεση του περικαρπίου

Οι συντομογραφίες έχουν τις ακόλουθες έννοιες:

- TP - σπέρματα επάνω σε χαρτί
- BP - φύλλα χαρτιού εκατέρωθεν των σπερμάτων
- S - άμμος
- TS - σπέρματα επί της άμμου
- ΤΤ - τοπογραφική δοκιμή τετραζολίου

6.3.3 Βιοχημική Δοκιμή Βιωσιμότητας - Τοπογραφική Δοκιμή του Τετραζολίου

Προετοιμασία και επεξεργασία των σπερμάτων

Τα σπέρματα θα πρέπει να υποστούν επεξεργασία προκειμένου να διευκολυνθεί η διείσδυση του διαλύματος τετραζολίου. Στη συνέχεια τα επεξεργασμένα σπέρματα ή έμβρυα εμβαπτίζονται στο διάλυμα τετραζολίου υπό τη θερμοκρασία και για την χρονική περίοδο που περιγράφεται στους κανόνες ISTA. Τέλος το διάλυμα απορρίπτεται και τα σπέρματα εκπλένονται με νερό και εξετάζονται.

Κατά την εξέταση, κάθε σπέρμα αξιολογείται ως βιώσιμο ή μη-βιώσιμο με βάση τα πρότυπα χρώσης και την ακεραιότητα του ιστού.

Ειδικές οδηγίες για την προετοιμασία, την επεξεργασία και την αξιολόγηση κάθε εγκεκριμένου είδους δίνονται στα πρωτόκολλα ISTA (2020) και στον πίνακα 6.5.

Ειδικά για τη *Fagus sylvatica*: Τέσσερις επαναλήψεις των 100 σπερμάτων ανά επανάληψη χρησιμοποιούνται για τη δοκιμή τετραζολίου (συνολικά 400 σπέρματα). Το περικάρπιο θα πρέπει να αφαιρείται από όλα τα σπέρματα και στη συνέχεια αυτά θα πρέπει να εμβαπτίζονται σε νερό για 18 ώρες στους 20 °C. Έπειτα αφαιρείται το περισπέρμιο και τα σπέρματα εμβαπτίζονται σε διάλυμα τετραζολίου

1% για \approx 10-18 ώρες στους 30 °C. Μετά τη χρώση, ανοίγονται οι κοτυληδόνες και αξιολογούνται τα σπέρματα. Η μέγιστη επιτρεπόμενη επιφάνεια μη εμποτισμένου με χρώμα, υγρού ή νεκρωτικού ιστού είναι: η άκρη του ριζιδίου, 1/3 της απώτερης περιοχής των κοτυληδόνων εάν είναι επιφανειακή.

Τα αποτελέσματα δίνονται ως ποσοστό των βιώσιμων σπερμάτων, των μη βιώσιμων σπερμάτων (π.χ. σπέρματα τα οποία φέρουν προσβολές εντόμων ή δεν χρωματίστηκαν κατά τη διάρκεια της δοκιμής ΤΤ) και των κενών σπερμάτων.

Ο Πίνακας 6.5 παρουσιάζει τον ορισμό των διαδικασιών για την προ-ενυδάτωση (τύπος και χρόνος), προετοιμασία των προ-ενυδατωμένων σπερμάτων πριν από την χρώση, χρώση (συγκέντρωση του διαλύματος και χρόνος) και προετοιμασία της αξιολόγησης σύμφωνα με τα πρότυπα χρώσης. Ο χρόνος χρώσης που υποδεικνύεται στη τέταρτη στήλη ενδείκνυται για θερμοκρασία 30 °C. Συνήθως όλα τα σπέρματα με ένα πλήρως χρωματισμένο έμβρυο και εκείνα με μη χρωματισμένα ή νεκρωτικά μέρη όπως σημειώνεται στην έκτη στήλη είναι βιώσιμα. Για ορισμένα είδη, το ενδοσπέρμιο (που περιλαμβάνει πέραν του ενδοσπερμίου, το περισπέρμιο και τον ιστό του γαμετόφυτου), θα πρέπει επίσης να έχει χρωματιστεί πλήρως.

Πίνακας 6.5: Οδηγίες για δοκιμές τετραζολίου

Δασοπονικό Είδος	Προ-ενυδάτωση στους 20°C			Χρώση			Αξιολόγηση	
	Τύπος	Ελάχ. χρόνος (ώρες)	Προετοιμασία πριν από τη χρώση	Ποσοστό διαλύματος	Βέλτιστος χρόνος (ώρες) στους 30°C	Προετοιμασία για αξιολόγηση και τμήμα ιστού προς αξιολόγηση	Μέγιστη επιτρεπόμενη επιφάνεια μη χρωματισμένου, με έλλειψη σπαργής ή νεκρωτικού ιστού	Παρατηρήσεις
<i>Abies spp.</i>	W	18 2. Κατά μήκος τομή δίπλα από το έμβρυο	1. Εγκάρσια τομή και στα δύο άκρα για το άνοιγμα της κοιλότητας του εμβρύου	1	18-24	1. Κατακόρυφη τομή δια μέσου του ενδοσπερμίου, ώστε να εκτεθεί το έμβρυο, αφαίρεση του περισπερμίου	Μικρή επιφανειακή νέκρωση στο απώτερο άκρο του ενδοσπερμίου	Παλαιά και αφυδατωμένα σπέρματα ενδέχεται να παράσχουν εγκυρότερα αποτελέσματα εάν εμβαπτιστούν για 48 ώρες σε νερό, ενώ η προσθήκη μυκητοκτόνου μπορεί να διευκολύνει την αξιολόγηση
			1	12-18	2. Έκθεση του εμβρύου, αφαίρεση του περισπερμίου.	Καθόλου, περιλαμβανομένου του ενδοσπερμίου		
	Προετοιμασία αφυδατωμένων σπερμάτων		1. Εγκάρσια τομή και στα δύο άκρα της εμβρυακής κοιλότητας * και εφαρμογή σε σπέρματα εμποτισμένα σε TZ, 3x με χαμηλή πίεση		1	18	1. Κατακόρυφη τομή δια μέσου του ενδοσπερμίου και εκθέστε το έμβρυο, αφαίρεση του περισπερμίου	Καθόλου, εκτός από τη μικρή επιφανειακή νέκρωση στο εξωτερικό μέρος του ενδοσπερμίου, το οποίο δε βρίσκεται σε επαφή με την εμβρυϊκή κοιλότητα
		2. Κατά μήκος τομή δίπλα στο έμβρυο		1	12	2. Έκθεση του εμβρύου, αφαίρεση του περισπερμίου		

Δασοπονικό Είδος	Προ-ενυδάτωση στους 20°C		Χρώση			Αξιολόγηση		
	Τύπος	Ελάχ. χρόνος (ώρες)	Προετοιμασία πριν από τη χρώση	Ποσοστό διαλύματος	Βέλτιστος χρόνος (ώρες) στους 30°C	Προετοιμασία για αξιολόγηση και τμήμα ιστού προς αξιολόγηση	Μέγιστη επιτρεπόμενη επιφάνεια μη χρωματισμένου, με έλλειψη σπαργής ή νεκρωτικού ιστού	Παρατηρήσεις
Fagus spp.	Αφαίρεση περικαρπίου*		1. Αφαίρεση περικαρπίου	1, 0,5	10-12, 15-18	1. Άνοιγμα κοτυληδόνων	Άκρη ριζιδίου, 1/3 της απώτερης επιφάνειας των κοτυληδόνων εάν είναι επιφανειακή	*Το περικάρπιο των πολύ αφυδατωμένων σπερμάτων είναι πιο εύκολο να αφαιρεθεί μετά από εμβάπτιση σε νερό για μερικές ώρες
	W	18						
	Αφαίρεση περικαρπίου των αφυδατωμένων σπερμάτων. *		Αφαίρεση περισπερμίου	1	16-24	18	-	Άκρη ριζιδίου, 1/3 της απώτερης επιφάνειας των κοτυληδόνων εάν είναι επιφανειακή
Fraxinus spp.	Αφαίρεση περικαρπίου*		Τομή επί των δύο άκρων του περισπερμίου, ώστε να είναι ορατά τα δύο άκρα του ενδοσπερμίου	1	18-24*	Έκθεση εμβρύου με διαχωρισμό του ενδοσπερμίου σε δύο μέρη.	Καθόλου, εκτός από ελαφρά νέκρωση στο ενδοσπέρμιο μακριά από το έμβρυο	*Πρόσφατα συλλεγμένα σπέρματα χρειάζονται μόνο 8-10 ώρες
	W	18						
	Αφαίρεση περικαρπίου των αφυδατωμένων σπερμάτων. *		Μικρή τομή και στις δύο πλευρές, ώστε να ανοίξει η εμβρυακή κοιλότητα.	1	18 *	Έκθεση εμβρύου με διαχωρισμό του ενδοσπερμίου σε δύο μέρη	Καθόλου, εκτός από ελαφρά νέκρωση στο ενδοσπέρμιο μακριά από το έμβρυο	*Πρόσφατα συλλεγμένα σπέρματα χρειάζονται μόνο 8 ώρες
Pinus nigra	Προετοιμασία αφυδατωμένων σπερμάτων		Εγκάρσια τομή στο 1/3 του απώτερου άκρου του ενδοσπερμίου, για το άνοιγμα της εμβρυακής κοιλότητας.	1	18	Εξαγωγή του εμβρύου και του ενδοσπερμίου από το περισπέρμιο.	Καθόλου, συμπεριλαμβανομένου του ενδοσπερμίου, εκτός από ελαφρά επιφανειακή νέκρωση στο εξωτερικό μέρος του ενδοσπερμίου, το οποίο δε βρίσκεται σε επαφή με την εμβρυακή κοιλότητα	Έμβρυα μικρότερα από το 1/3 της εμβρυακής κοιλότητας δεν είναι βιώσιμα

Δασοπονικό Είδος	Προ-ενυδάτωση στους 20°C		Χρώση			Αξιολόγηση		
	Τύπος	Ελάχ. χρόνος (ώρες)	Προετοιμασία πριν από τη χρώση	Ποσοστό διαλύματος	Βέλτιστος χρόνος (ώρες) στους 30°C	Προετοιμασία για αξιολόγηση και τμήμα ιστού προς αξιολόγηση	Μέγιστη επιτρεπόμενη επιφάνεια μη χρωματισμένου, με έλλειψη σπαργής ή νεκρωτικού ιστού	Παρατηρήσεις
<i>Prunus spp.</i>	Θραύση του πυρήνα και απόσπαση ενός μικρού τμήματος του απώτερου άκρου της κοτυληδόνας ή χάραξη του σπέρματος		Αφαίρεση του περισπερμίου, εμβάπτιση σε νερό και αλλαγή του νερού κάθε ώρα για τουλάχιστον πέντε ώρες	1, 0,5	8-12, 12-18	Άνοιγμα κοτυληδόνων	Άκρη ριζιδίου, 1/3 της απώτερης επιφάνειας των κοτυληδόνων εάν είναι επιφανειακή	*Τα είδη που φέρουν μεγάλα σπέρματα χρειάζονται μεγαλύτερο χρόνο χρώσης (24 ώρες)
	W	18						
	Θραύση του πυρήνα							
	W	18						
	Αλλαγή του νερού εμβάπτισης εάν είναι απαραίτητο (εάν έχει οσμή πικρού αμυγδάλου)		Αφαίρεση του περισπερμίου**	1	18	Άνοιγμα κοτυληδόνων	Άκρη ριζιδίου, 1/3 της απώτερης επιφάνειας των κοτυληδόνων εάν είναι επιφανειακή	*Τα είδη που φέρουν μεγάλα σπέρματα χρειάζονται μεγαλύτερο χρόνο χρώσης (24 ώρες), ενώ για το άνοιγμα των κοτυληδόνων χρειάζεται προσοχή στα είδη: <i>Prunus persica</i> , <i>Prunus domestica</i> .

Οι συντομογραφίες έχουν τις ακόλουθες έννοιες:

W - νερό

BP+W - βραδεία έκθεση σε υγρασία ακολουθούμενη από τουλάχιστον 2-3 ώρες εμβάπτιση σε νερό ώστε να επιτευχθεί πλήρης απορρόφηση από όλα τα σπέρματα.

6.4 Αναλύσεις DNA

6.4.1 Απομόνωση DNA

Η επιτυχία όλων των μοριακών γενετικών αναλύσεων εξαρτάται άμεσα από την ποιότητα και την ποσότητα του DNA. Ως εκ τούτου, θα πρέπει να δίνεται μεγάλη προσοχή στη διαδικασία εκχύλισης και απομόνωσης του DNA για να διασφαλιστεί ότι η ποιότητα και η ποσότητα του απομονωμένου DNA βρίσκεται στο επίπεδο που απαιτείται για την επιτυχή ολοκλήρωση των μεταγενέστερων αναλύσεων.

Στόχος του κεφαλαίου δεν είναι η αξιολόγηση των υφιστάμενων πρωτοκόλλων απομόνωσης DNA από φυτικούς ιστούς – υπάρχει πληθώρα διαθέσιμων πρωτοκόλλων – αλλά η παρουσίαση των προσεγγίσεων οι οποίες ακολουθήθηκαν ή δοκιμάστηκαν στα Εργαστήρια των εταίρων του έργου LIFEGENMON.

DNA επαρκούς ποιότητας και ποσότητας μπορεί να απομονωθεί επιτυχώς με τη χρήση εμπορικών προϊόντων απομόνωσης DNA αλλά και με παραδοσιακά πρωτόκολλα με βάση διαλύματα τα οποία παρασκευάζονται στο εργαστήριο.

6.4.1.1 Ποσότητα φυτικού ιστού για την απομόνωση DNA

Η βέλτιστη ποσότητα φυτικού ιστού για απομόνωση DNA εξαρτάται από τη διαδικασία εκχύλισης και απομόνωσης. Συνιστάται η χρήση των ποσοτήτων που προτείνονται από το εμπορικό προϊόν απομόνωσης DNA ή από τους συγγραφείς των παραδοσιακών πρωτοκόλλων απομόνωσης DNA. Αντίθετα με τη γενικώς αναμενόμενη προσδοκία, η χρήση μεγαλύτερων ποσοτήτων φυτικού ιστού από τις συνιστώμενες ενδέχεται να

έχει αρνητικές επιπτώσεις στην ποσότητα και ιδιαίτερα στην ποιότητα (καθαρότητα) του απομονωμένου DNA. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η χρήση περισσότερου υλικού μπορεί να δώσει καλύτερα αποτελέσματα, ωστόσο αυτό θα πρέπει αρχικά να ελεγχθεί με δοκιμή σε μικρό αριθμό δειγμάτων, καθώς τα αποτελέσματα εξαρτώνται από το δασοπονικό είδος και τον τύπο του ιστού που χρησιμοποιείται.

Η ζύγιση του ιστού κάθε δείγματος ενδέχεται να είναι πολύ χρονοβόρα, ιδιαίτερα εάν επεξεργάζεται μεγάλος αριθμός δειγμάτων κάθε φορά. Για τη μείωση του φόρτου και του χρόνου που απαιτείται για την ολοκλήρωση αυτής της εργασίας, μπορούν να χρησιμοποιηθούν απλοποιημένες προσεγγίσεις (βλ. Πλαίσιο 6.3: «Εναλλακτικές μονάδες» μέτρησης της μάζας φυτικού ιστού για την απομόνωση DNA).

Box 6.3: «Εναλλακτικές μονάδες» μέτρησης της μάζας φυτικού ιστού για απομόνωση DNA

1. Σε ένα τυχαίο υποσύνολο δειγμάτων (10-15) μετρήστε τον αριθμό των «εναλλακτικών μονάδων» που αντιστοιχούν στη συνιστώμενη ποσότητα (μάζα) φυτικού ιστού που θα χρησιμοποιηθεί για καθένα από τα δείγματα δοκιμής. Παραδείγματα «εναλλακτικών μονάδων»: α) κωνοφόρα: αριθμός βελονών, β) πλατύφυλλα: αριθμός δίσκων ίσης διαμέτρου αποσπασμένοι από φύλλα μέσω ενός εργαλείου διάτρησης οπών, γ) οφθαλμοί: αριθμός οφθαλμών.



Σχήμα 6.3: (α) Αποκοπή δίσκων από αποξηραμένα φύλλα οξυάς, με χρήση εργαλείου διάτρησης οπών. (β) Ένας αριθμός δίσκων οι οποίοι αντιστοιχούν στην απαιτούμενη μάζα φυτικού υλικού προστίθενται σε μικροφυγοκεντρικούς σωλήνες για απομόνωση DNA, αντί ζύγισης όλων των δειγμάτων. (Φωτογραφίες: Mark Walter)

- Υπολογίστε τον μέσο αριθμό “εναλλακτικών μονάδων” οι οποίες αντιστοιχούν στη συνιστώμενη μάζα φυτικού ιστού.
- Χρησιμοποιήστε τον μέσο αριθμό “μονάδων” αντί της ζύγισης όλων των δειγμάτων προς ανάλυση. Βεβαιωθείτε ότι επιλέγετε πάντα συγκρίσιμες μονάδες - βελόνες και φύλλα περίπου του ίδιου μεγέθους. Λάβετε επίσης υπόψη την ηλικία των φυτών που αναλύονται και το επίπεδο ωριμότητας του ιστού που χρησιμοποιείται - τα φύλλα νεαρών φυτών ή τα όχι πλήρως ώριμα φύλλα είναι λεπτότερα από τα φύλλα ώριμων δέντρων, επομένως απαιτούνται περισσότερες “μονάδες” για να συγκεντρωθεί η απαιτούμενη μάζα. Προσδιορίστε αυτήν την τιμή για κάθε δασοπονικό είδος, ηλικιακή ομάδα και τύπο ιστού ξεχωριστά.

Η χρήση τυποποιημένης ποσότητας ιστού ελαχιστοποιεί τη μεταβλητότητα στην ποσότητα και στην καθαρότητα του απομονωμένου DNA των δειγμάτων.

6.4.1.2 Θραύση του φυτικού ιστού

Η θραύση του ιστού είναι ζωτικής σημασίας για την επιτυχή εκχύλιση και απομόνωση DNA από φυτικούς ιστούς. Όσο πιο λεπτόκοκκα είναι τα σωματίδια του ιστού, τόσο καλύτερη είναι η διάχυση των αντιδραστηρίων στον ιστό. Διαφορετικές μέθοδοι για τη θραύση φυτικών ιστών συνοψίζονται στον Πίνακα 6.6.

Πίνακας 6.6 Μέθοδοι θραύσης φυτικού ιστού. Χειρωνακτικά- απαιτείται η χρήση γουδιού με γουδοχέρι ή μικροφυγοκεντρικού σωλήνα 1,5 / 2,0 ml με μικρο-γουδοχέρι. Θραύση με τη χρήση σφαιριδίων / μύλου άλεσης. Ρυθμιστικό διάλυμα – αφορά το πρώτο ρυθμιστικό διάλυμα του πρωτοκόλλου απομόνωσης το οποίο σταθεροποιεί το DNA και αναστέλλει την ενζυμική (νουκλεολυτική) δραστηριότητα.

Κατάσταση ιστού	Ρυθμιστικό διάλυμα	Χειρωνακτικά	Σφαιρίδια/ Μύλος	Σημειώσεις
Φρέσκος	+	+	-	
Φρέσκος	-	+	-	1
Φρέσκος	+	-	+	2
Κατεψυγμένος (υγρό N ₂)	-	+	-	
Κατεψυγμένος (υγρό N ₂)	-	-	+	
Αποξηραμένος	-	-	+	
Αποξηραμένος	-	+	-	3

1. Δε συνιστάται, καθώς κατά τη διάρκεια της διάσπασης, οι μεμβράνες των κυττάρων και των οργάνων διαρρηγνύονται, εκθέτοντας τα νουκλεϊκά οξέα στις νουκλεάσες.
2. Η κίνηση των σφαιριδίων εν μέσω του ρυθμιστικού διαλύματος προκαλεί αύξηση της θερμοκρασίας λόγω τριβής και τη δημιουργία ελκτικών δυνάμεων οι οποίες δύνανται να κατακερματίσουν το DNA.
3. Εάν εφαρμόζεται χειρωνακτική θραύση αποξηραμένου φυτικού ιστού, θα πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή για την αποφυγή διασταυρούμενης μόλυνσης μεταξύ των δειγμάτων, καθώς η διασπορά κονιοποιημένων αποξηραμένων σωματιδίων ιστού μπορεί να είναι δύσκολο να ελεγχθεί σε ανοιχτά συστήματα.

Γενικά, συνιστάται η χρήση σφαιριδίων ή παρόμοιου μηχανοποιημένου εξοπλισμού θραύσης αντί χειροκίνητης διάσπασης του φυτικού ιστού για τους ακόλουθους λόγους: α) είναι πιο αποδοτική καθώς επιτρέπει την ταυτόχρονη επεξεργασία πολλών δειγμάτων – έως 192 δείγματα όταν γίνεται η χρήση πλακών 96 θέσεων β) επιτρέπει πιο ομοιόμορφες συνθήκες θραύσης, λιγότερη διακύμανση μεταξύ δειγμάτων και μεταξύ επαναλήψεων της διαδικασίας.

Η χρήση λυοφιλοποιημένου ή κατεψυγμένου σε υγρό άζωτο ιστού θα πρέπει να προκρίνεται έναντι του φρέσκου φυτικού ιστού. Κατά τη θραύση ιστού κατεψυγμένου σε υγρό άζωτο, θα πρέπει να λαμβάνονται μέτρα για την αποφυγή αύξησης της θερμοκρασίας και να χρησιμοποιούνται εξοπλισμός / αναλώσιμα κατάλληλα για εξαιρετικά χαμηλές θερμοκρασίες.

6.3.1.3 Πρωτόκολλα εκχύλισης και απομόνωσης DNA

Τα πρωτόκολλα εκχύλισης και απομόνωσης DNA τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στο πλαίσιο του έργου LIFEGENMON, ή έχουν δοκιμαστεί επιτυχώς για μεγάλο χρονικό διάστημα και για πολλά δασικά είδη από τα εργαστήρια των εταιρών του έργου, παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.7. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι υπάρχει πληθώρα πρωτοκόλλων απομόνωσης DNA από φυτικούς ιστούς τα οποία αποδίδουν ικανοποιητική ποσότητα και ποιότητα DNA, τόσο με τη μορφή των εμπορικά διαθέσιμων προϊόντων, αλλά και ως παραδοσιακά εργαστηριακά πρωτόκολλα.

Τα περισσότερα παραδοσιακά πρωτόκολλα απομόνωσης DNA φυτικού ιστού βασίζονται, είτε στο πρωτόκολλο CTAB το οποίο περιγράφηκε για πρώτη φορά από τους Doyle και Doyle (1987), είτε στο πρωτόκολλο SDS το οποίο περιγράφηκε για πρώτη φορά από τους από τους Dellaporta *et al.* (1983). Διάφορες τροποποιήσεις και εφαρμογές των προαναφερθέντων πρωτοκόλλων εξετάστηκαν και συνοψίστηκαν από τους Demeke και Jenkins (2010) και Nishiguchi *et al.* (2002).

Τα εμπορικά προϊόντα απομόνωσης DNA φυτικού ιστού που είναι διαθέσιμα στο εμπόριο και είναι αξιόπιστα, είναι πολλά. Ιδίως, τα Εργαστήρια Δασικής Γενετικής του ΑΠΘ και του SFI, βασίζονται σε τέτοια εμπορικά προϊόντα με πολύ καλά αποτελέσματα.

Τόσο τα εργαστηριακά πρωτόκολλα, όσο και το εμπορικά προϊόντα απομόνωσης DNA έχουν πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα. Η επιλογή ενός πρωτοκόλλου εκχύλισης και απομόνωσης DNA θα εξαρτηθεί τελικά από

τις προτιμήσεις του εκάστοτε εργαστηρίου. Συνιστάται εργαστήρια μοριακής γενετικής που επιθυμούν να συμμετάσχουν στη ΓΠΔ να συνεχίσουν να χρησιμοποιούν τα πρωτόκολλα απομόνωσης DNA με τα οποία είναι εξοικειωμένο το προσωπικό τους και τα οποία δίνουν σταθερά αξιόπιστα αποτελέσματα.

Πίνακας 6.4.1.3.1: Πρωτόκολλα απομόνωσης DNA από φυτικούς ιστούς τα οποία χρησιμοποιούνται από τα εργαστήρια που συμμετέχουν στο έργο LIFE GENMON. AWG - Βαυαρικό Γραφείο Δασικής Γενετικής, ΑΠΘ - Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, SFI - Σλοβενικό Δασικό Ινστιτούτο, LN2 - υγρό άζωτο.

Εργαστήριο	Προετοιμασία δειγμάτων	Θραύση ιστού	Εκχύλισης και απομόνωση DNA
AWG	αποξήρανση, διοξείδιο του πυριτίου (silica gel)	σφαιρίδια άλεσης, αποξηραμένος ιστός	τροποποιημένο πρωτόκολλο CTAB
ΑΠΘ	κατάψυξη	χειρωνακτικά, κατάψυξη ιστού με LN ₂	Macherey-Nagel, NucleoSpin Plant II
SFI	αποξήρανση, λυοφιλοποίηση	σφαιρίδια άλεσης, αποξηραμένος ιστός	Qiagen, DNeasy Plant 96

6.3.1.4 Ποσότητα, καθαρότητα και ακεραιότητα του DNA

Ανεξαρτήτως του πρωτοκόλλου εκχύλισης και απομόνωσης DNA, είναι σημαντικό να πραγματοποιείται εκτίμηση της ποσότητας και ποιότητας του απομονωμένου DNA. Αυτό το βήμα είναι ιδιαίτερα χρήσιμο κατά τη δοκιμή ενός νέου πρωτοκόλλου, αλλά θα πρέπει να διεξάγεται τακτικά σε τουλάχιστον ένα υποσύνολο των δειγμάτων κάθε πειράματος απομόνωσης DNA και κατά προτίμηση σε όλα τα δείγματα. Μέσω αυτής της διαδικασίας είναι εφικτή η τυποποίηση των συγκεντρώσεων DNA, γεγονός που διευκολύνει σε μεγάλο βαθμό τις μεταγενέστερες αναλύσεις (Guichoux *et al.* 2011). Μία ευρέως εφαρμοσμένη μέθοδος για τον προσδιορισμό της ποσότητας και καθαρότητας του DNA είναι η φασματοφωτομετρική ανάλυση, κατά την οποία μετράται η απορρόφηση φωτός από ένα διάλυμα στα μήκη κύματος 230 nm, 260 nm και 280 nm. Το DNA παρουσιάζει μέγιστο απορρόφησης στα 260 nm, ενώ η απορρόφηση στα μήκη κύματος 230 και 280 nm καταγράφεται για την εκτίμηση της παρουσίας υπολειμματικών προσμείξεων υπολογίζοντας τους λόγους απορρόφησης 260 nm/230 nm και 260 nm/280 nm (βλέπε Πίνακα 6.8 για λεπτομέρειες). Ως ένας πρακτικός κανόνας, συχνά στοχεύεται η απομόνωση περίπου 100 ng/μl DNA, ωστόσο οι τελικές συγκεντρώσεις ενδέχεται να διαφέρουν ανάλογα με τον τύπο του ιστού. Η ακρίβεια της μέτρησης της καθαρότητας του DNA μέσω της φασματοφωτομετρίας ποικίλει ανάλογα με την συγκέντρωση του διαλύματος DNA, καθώς οι μετρήσεις των λόγων 260/280 και 260/230 παρουσιάζουν υψηλά επίπεδα παραλλακτικότητας σε συγκεντρώσεις DNA μικρότερες των 50 ng/μl. Ως εκ τούτου προτείνεται η λήψη τουλάχιστον τριών επαναληπτικών μετρήσεων (Koetsier και Cantor 2019). Επιπλέον οι μετρήσεις απορρόφησης φωτός είναι ευαίσθητες στο pH του διαλύματος, με τα όξινα διαλύματα DNA γενικά να δίνουν χαμηλότερες τιμές του λόγου A260/280, ενώ στα βασικά διαλύματα DNA ο ίδιος λόγος συνήθως υπερεκτιμάται (Wilfinger *et al.* 1997).

Εκτός από την ποσότητα και την καθαρότητα του DNA, συνιστάται επίσης η αξιολόγηση της ακεραιότητας του απομονωμένου DNA. Αυτή μπορεί να εκτιμηθεί με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης 1%w/v. Το αποτέλεσμα ενός επιτυχημένου πειράματος απομόνωσης DNA υψηλής ποιότητας εμφανίζεται στην πηκτή ως μία έντονη ζώνη DNA μεγέθους άνω των 10 kbp με ξεκάθαρο περίγραμμα και με περιορισμένη μόνο επιφάνεια που φέρει όψη νέφους.

Πίνακας: 6.8: Επεξήγηση τιμών των λόγων απορρόφησης 260/280 nm και 260/230 nm για δείγματα απομονωμένου DNA.

Λόγος απορρόφησης	Λόγος απορρόφησης για καθαρό DNA	Χαμηλή τιμή λόγου απορρόφησης	Υψηλή τιμή λόγου απορρόφησης
260/280 nm	~ 1,8	Πρωτεϊνικές μολύνσεις	Υψηλή συγκέντρωση RNA (> 15% των συνολικών νουκλεϊκών οξέων)
		Φαιολικές ενώσεις (κατάλοιπα από απομόνωση DNA ή από φυτικούς ιστούς – πολυφαινόλες)	
260/230 nm	2,0 – 2,2	Πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις DNA	Διαφορετική συγκέντρωση EDTA στο τυφλό δείγμα και το δείγμα απομονωμένου DNA μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα αναλογίες A260/230 > 3,0
		Πολυσακχαρίτες (κοινό πρόβλημα στους φυτικούς ιστούς)	
		Φαινόλες (κατάλοιπα από απομόνωση DNA ή από φυτικούς ιστούς - πολυφαινόλες)	
		Υπολειμματικά χαοτροπικά άλατα (όπως η γουανιδίνη, η οποία χρησιμοποιείται συνήθως σε εμπορικά προϊόντα απομόνωσης DNA με στήλη)	

6.4.2 Γενετικοί δείκτες

6.4.2.1 Επιλογή γενετικών δεικτών

Παρά την εισαγωγή νέων τεχνολογιών, οι μικροδορυφόροι εξακολουθούν να είναι ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος δείκτης σε πληθυσμιακές γενετικές αναλύσεις φυσικών πληθυσμών. Λόγω του υψηλού ρυθμού μεταλλάξεων που παρουσιάζουν (Whittaker *et al.* 2003), οι μικροδορυφόροι αποτελούν εξαιρετικούς δείκτες για τη μελέτη της γενετικής εκτροπής και της ροής γονιδίων (Selkoe και Toonen 2006). Ωστόσο, είναι γνωστό ότι οι μικροδορυφόροι παρουσιάζουν τεχνικά σφάλματα όπως ο ανεπαρκής πολλαπλασιασμός του ενός από τα δύο αλληλόμορφα που οδηγεί στη μη ενίσχυση του (allelic dropout) και τα μηδενικά (null) αλληλόμορφα (Flores-Rentería και Krohn 2013, Oddou-Muratorio *et al.* 2009). Παρά το γεγονός ότι υπάρχουν διαθέσιμα εξειδικευμένα λογισμικά για την εκτίμηση της παρουσίας τεχνικών σφαλμάτων, σπάνια τα συμπεράσματα που προκύπτουν από αυτά είναι απόλυτα συμβατά μεταξύ τους. Επομένως, παρουσιάζουν ένα ζήτημα απώλειας ακρίβειας. Ένας τρόπος βελτίωσης των δυσμενών επιπτώσεων αυτών των σφαλμάτων πριν από την έναρξη ενός έργου γενετικής παρακολούθησης, είναι ο έλεγχος των προτεινόμενων δεικτών σε πειράματα μικρής κλίμακας. Αν και αυτό αυξάνει σημαντικά το κόστος της πρώτης αξιολόγησης, τα οφέλη στην αξιοπιστία των εκτιμήσεων ενδεχομένως αξίζουν τον κόπο.

Ένας άλλος τύπος γενετικών δεικτών που προτείνεται για τη γενετική παρακολούθηση είναι οι απλοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNP). Τα ουδέτερα SNP παρέχουν πιο αξιόπιστες εκτιμήσεις των δημογραφικών στατιστικών σε σύγκριση με τους μικροδορυφόρους, καθώς βρίσκονται διασκορπισμένα σε πολλαπλά χρωμοσώματα και συνέχειες αλληλουχίας (contigs), επιτρέποντας στους ερευνητές να πραγματοποιήσουν μια πιο αντιπροσωπευτική δειγματοληψία του γονιδιώματος. Τα SNP που βρίσκονται σε περιοχές γονιδίων επιτρέπουν, εκτός από τη χρήση τους στις δημογραφικές εκτιμήσεις, τη μελέτη του δείκτη «επιλογή» μέσω της χρήσης των μοριακών δεδομένων για την ανίχνευση έκτοπων γονιδιακών θέσεων (Brousseau *et al.* 2016, Csilléry *et al.* 2014, Roschanski *et al.* 2016). Για ορισμένα δασοπονικά είδη, υπάρχουν δείκτες SSR δημοσιευμένοι στη διεθνή βιβλιογραφία οι οποίοι βρίσκονται σε σύνδεση με κωδικοποιούμενες περιοχές του γονιδιώματος (EST-SSR). Ωστόσο, ο μικρός αριθμός γονιδιακών θέσεων (συνήθως 10-20 θέσεις) που χρησιμοποιούνται στις περισσότερες μελέτες γενετικής πληθυσμών, δεν παρέχει επαρκή στατιστική ισχύ για την ανίχνευση έκτοπων SSR γονιδιακών θέσεων. Τα τελευταία χρόνια έχει αρχίσει να γίνεται ρουτίνα η χρήση σε πληθώρα μελετών γενετικής πληθυσμών μεγάλων συνόλων δεικτών SNP τα οποία λαμβάνονται μέσω σύγχρονων τεχνικών όπως η αλληλούχηση RAD (RAD-seq), η γενοτύπηση μέσω αλληλούχησης (genotyping by sequencing) ή ακόμα και η αλληλούχηση εξωνίων (exome sequencing) (Benestan *et al.* 2015, Tyrmi *et al.* 2020). Ωστόσο, για το προσεχές μέλλον, η γενοτύπηση μικρών συνόλων SNP όπως αυτά που προκύπτουν από την μέθοδο KASP (Csilléry *et al.*

2014, Roschanski *et al.* 2016) αναμένεται να αποτελέσει μία πιο οικονομικά εφικτή εναλλακτική για τη γενετική παρακολούθηση των δασικών πληθυσμών. Το μειονέκτημα αυτών των συνόλων SNP μικρής κλίμακας, αποτελεί το γεγονός ότι είναι επιρρεπή στο σφάλμα μεροληπτικής ταξινόμησης (ascertainment bias). Αυτό είναι το είδος μεροληψίας το οποίο προκύπτει λόγω μεγάλης γενετικής απόστασης μεταξύ των ατόμων που χρησιμοποιήθηκαν για την εύρεση των γονιδιακών θέσεων και των δειγμάτων που γενοτυπούνται (Albrechtsen *et al.* 2010). Για τους σκοπούς της γενετικής παρακολούθησης μιας συστάδας, αυτό δεν είναι απαραίτητα προβληματικό, υπό την προϋπόθεση ότι το ποσοστό SNP το οποίο δεν επηρεάζεται (δηλαδή οι πολυμορφικές γονιδιακές θέσεις) παραμένει αρκετά μεγάλο για ακριβείς εκτιμήσεις των δημογραφικών παραμέτρων. Παρ' όλα αυτά, θα πρέπει να δίδεται προσοχή σε οποιεσδήποτε συγκρίσεις μεταξύ πληθυσμών που προέρχονται από διαφορετικές περιοχές ή / και από διαφορετική εξελικτική γενεαλογική καταγωγή, ως μέρος μιας ολοκληρωμένης δραστηριότητας γενετικής παρακολούθησης, ειδικά εάν ο στόχος είναι η εκτίμηση της κατάστασης διατήρησής τους. Σε αυτήν την περίπτωση, οι παράμετροι ποικιλότητας που έχουν υπολογιστεί, ενδέχεται να παρουσιάζουν μεροληψία, οδηγώντας τους δασοδιαχειριστές σε ενδεχομένως εσφαλμένες αποφάσεις.

Σε βάθος χρόνου, αυτοί οι περιορισμοί αναμένεται να καταστούν λιγότερο σημαντικοί, καθώς η γενετική παρακολούθηση θα μεταβεί στις πιο ισχυρές μεθόδους δειγματοληψίας του γονιδιώματος οι οποίες αναφέρθηκαν παραπάνω, αν και αξίζει να σημειωθεί πως ούτε αυτές είναι πλήρως ελεύθερες από φαινόμενα μεροληψίας (Lowry *et al.* 2017). Η μακροχρόνια αποθήκευση DNA των αρχικών δειγματοληψιών, πιθανότατα αποτελεί την καλύτερη ευκαιρία για τη διενέργεια αξιόπιστων συγκρίσεων με νέα δείγματα στο μέλλον.

6.4.2.2 Μικροδορυφορικοί δείκτες (SSRs)

6.4.2.2.1 Επιλογή κατάλληλων μικροδορυφορικών δεικτών (SSRs)

Αναζητήστε τη διαθέσιμη επιστημονική βιβλιογραφία για διαθέσιμους SSR δείκτες και συμβουλευτείτε συναδέλφους από άλλα εργαστήρια οι οποίοι έχουν εμπειρία στη χρήση SSR για το εν λόγω είδος. Κατά την επιλογή κατάλληλων δεικτών SSR από τη βιβλιογραφία ή την ανάπτυξη νέων, συνιστάται να λαμβάνονται υπόψη τα ακόλουθα:

- Οι SSR με τέλεια μοτίβα επανάληψης θα πρέπει να προτιμώνται από εκείνους με ατελείς επαναλήψεις, καθώς στους τελευταίους δεν είναι σαφής η ισοδυναμία μεταξύ ανιχνευόμενου μήκους αλληλομόρφων και αλληλουχίας – δηλαδή πολλαπλά αλληλόμορφα του ίδιου μεγέθους ενδέχεται να φέρουν διαφορετική αλληλουχία νουκλεοτιδίων (Estoup *et al.* 1995). Αυτές οι διαφορές δεν ανιχνεύονται από την ανάλυση ενισχυμένων τμημάτων (fragment analysis) και οδηγούν στην καταγραφή χαμηλότερων τιμών παρατηρούμενου πολυμορφισμού (έναντι των πραγματικών τιμών) στους SSR με ατελείς επαναλήψεις (Urquhart *et al.* 1994, Estoup *et al.* 2001, Gusmão *et al.* 2006, Guichoux *et al.* 2011).
- Το μήκος του μοτίβου επανάληψης SSR κυμαίνεται συνήθως από 1 έως 6 νουκλεοτίδια. Οι SSR με μοτίβο επανάληψης μήκους δύο νουκλεοτιδίων (δινουκλεοτιδικοί) είναι οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι και δεδομένου ότι συνήθως παρουσιάζουν μικρότερα αλληλομορφικά εύρη, είναι ευκολότερο να συνδυαστούν μαζί με άλλους SSR δείκτες σε μία πολλαπλή PCR (multiplex). Ωστόσο, οι δινουκλεοτιδικοί SSR είναι συχνά πιο επιρρεπείς σε τεχνικά σφάλματα όπως η εμφάνιση πολλαπλών κορυφών (stutter bands) (Chambers και MacAvoy 2000), δυσχεραίνοντας την καταγραφή των αλληλομόρφων (Levinson και Gutman 1987, Meldgaard και Morling 1997). Οι SSR με μεγαλύτερα μοτίβα επανάληψης φέρεται να είναι πολύ λιγότερο επιρρεπείς στην εμφάνιση πολλαπλών κορυφών (stuttering) (Edwards *et al.* 1991, Flores-Rentería και Krohn 2013) και συχνά προτιμώνται για εφαρμογές όπως η εγκληματολογική έρευνα και η ταυτοποίηση γονέων (Kiron *et al.* 2000, Cipriani *et al.* 2008).
- Η επιλογή των γονιδιακών θέσεων SSR με επαρκή αριθμό επαναλήψεων είναι απαραίτητη για να διασφαλιστεί η εύρεση πολυμορφισμών. Ωστόσο, οι SSR με πολλές επαναλήψεις ενδέχεται να φέρουν ορισμένα ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά, όπως αυξημένη πιθανότητα ανεπαρκούς πολλαπλασιασμού του ενός από τα δύο αλληλόμορφα που οδηγεί στη μη ενίσχυση του (allelic dropout) (Kiron *et al.* 2000, Buchan *et al.* 2005) και παρουσία πολλαπλών κορυφών (stuttering) (Hoffman και Amos 2005). Ένας ενδιάμεσος

αριθμός επαναλήψεων αναμένεται να είναι ιδανικός, καθώς αντιπροσωπεύει έναν καλό συμβιβασμό μεταξύ της διατήρησης επαρκούς επιπέδου πολυμορφισμού και αποφυγής ορισμένων μειονεκτημάτων που σχετίζονται με πολύ υψηλούς ρυθμούς μεταλλάξεων. Για βέλτιστα αποτελέσματα, οι Van Ashc *et al.* (2010) προτείνουν τη χρήση γονιδιακών θέσεων SSR με 12 έως 16 επαναλήψεις.

- Κατά το στάδιο της επιλογής SSR δεικτών από τη διεθνή βιβλιογραφία, επιλέξτε αυτούς με αναφερόμενη συχνότητα μηδενικών (null) αλληλομόρφων όχι μεγαλύτερη από 10% ή ακόμη μικρότερη (Oddou-Muratorio *et al.* 2009).
- Εάν υπάρχουν διαθέσιμοι γενετικοί χάρτες σύνδεσης, επιλέξτε γονιδιακές θέσεις SSR από όσο το δυνατόν περισσότερα διαφορετικά χρωμοσώματα.
- Επικεντρωθείτε στους δείκτες SSR οι οποίοι έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς σε όσο το δυνατόν μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων και σε δείγματα από διαφορετικές περιοχές του γεωγραφικού εύρους κατανομής των ειδών, καθώς αυτό θα ελαχιστοποιήσει την πιθανότητα εμφάνισης σφάλματος μεροληπτικής ταξινόμησης (ascertainment bias).
- Εάν η γενετική παρακολούθηση ενός δασοπονικού είδους λαμβάνει χώρα σε μια περιοχή όπου αναμένεται η παρουσία διειδικών υβριδίων, βεβαιωθείτε ότι έχετε επιλέξει δείκτες οι οποίοι έχουν δοκιμαστεί επιτυχώς (επιτυχής πολλαπλασιασμός DNA) για τη δυνατότητα μεταφοράς μεταξύ των ειδών που υβριδίζουν. Συνιστάται η διενέργεια δοκιμών σε δείγματα και των δύο ειδών για τον έλεγχο της απόδοσης των SSR που θα χρησιμοποιηθούν. Η έλλειψη ανιχνεύσιμων αλληλομόρφων ή η παρουσία υψηλών ποσοστών μηδενικών αλληλομόρφων υποδηλώνουν προβλήματα στην πρόσδεση-υβριδισμό (annealing) των εκκινητών (μεταλλάξεις στις περιοχές πρόσδεσης εκκινητών που πλαισιώνουν τον μικροδορυφόρο σε ένα από τα είδη). Αυτές οι γονιδιακές θέσεις SSR θα πρέπει να αποφεύγονται ή να επανασχεδιάζονται οι εκκινητές τους.
- Δεδομένου ότι είναι επιθυμητό να συνδυάζονται όσο το δυνατόν περισσότεροι δείκτες SSR σε μία πολλαπλή (multiplex) αντίδραση PCR, θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι θερμοκρασίες υβριδισμού (annealing) των εκκινητών και τα αλληλομορφικά εύρη των γονιδιακών θέσεων. Οι δείκτες με επικαλυπτόμενα αλληλομορφικά εύρη θα πρέπει να επισημαίνονται με διαφορετικά φθορίζοντα μόρια ή να ενισχύονται μέσω PCR και να αναλύονται σε ξεχωριστές αντιδράσεις. Ομοίως, δεν συνιστάται οι θερμοκρασίες αποδιάταξης (T_m) των εκκινητών στην ίδια πολλαπλή PCR να διαφέρουν, περισσότερο από 2-3°C και πάντως όχι περισσότερο από 5°C (Butler *et al.* 2005a, Guichoux *et al.* 2011, Hill *et al.* 2009).
- Ο συνολικός αριθμός των SSR που θα χρησιμοποιηθούν εξαρτάται από το ερευνητικό ερώτημα, τους διαθέσιμους πόρους και τα χαρακτηριστικά των μεμονωμένων SSR δεικτών (βαθμός πολυμορφισμού). Συνήθως χρησιμοποιούνται 10-25 SSR σε μελέτες γενετικής πληθυσμών.
- Προτείνεται η αρχική επιλογή ενός μεγαλύτερου αριθμού πιθανών δεικτών SSR, καθώς υπάρχει πάντα η περίπτωση αποτυχίας ορισμένων από αυτούς.

6.4.2.2.2 PCR

Η ενίσχυση των δεικτών SSR πραγματοποιείται κατά προτίμηση μέσω πολλαπλής (multiplex) PCR (Chamberlain *et al.* 1988, Edwards και Gibbs 1994), καθώς αυτή η προσέγγιση αυξάνει σημαντικά την παραγωγικότητα και ταυτόχρονα μειώνει το κόστος και τον φόρτο εργασίας ανά δείγμα (Elnifro *et al.* 2000, Lederer *et al.* 2000, Galan *et al.* 2003, Renshaw *et al.* 2006).

Η αξιοποίηση της τεχνικής της πολλαπλής PCR πραγματοποιείται με σκοπό τον συνδυασμό του επιθυμητού αριθμού δεικτών SSR (συνήθως 10 - 25) σε όσο το δυνατόν λιγότερες αντιδράσεις PCR, με κάθε δείκτη να φέρει ένα δεδομένο φθορίζον μόριο. Η πολλαπλή PCR είναι μια ευαίσθητη τεχνική και πολλές μεταβλητές θα πρέπει να ληφθούν υπόψη για την ανάπτυξη αποτελεσματικών και αξιόπιστων πολλαπλών παράλληλων αντιδράσεων (Guichoux *et al.* 2011), ξεκινώντας από την επιλογή ή την ανάπτυξη των εκκινητών. Εξειδικευμένα εμπορικά

διαθέσιμα προϊόντα (όπως το κυτίο Qiagen Multiplex PCR, το KAPA Biosystems KAPA2G Fast Multiplex Mix και άλλα) διευκολύνουν σημαντικά τη βελτιστοποίηση των πολλαπλών PCR.

Τα αλληλομορφικά εύρη των δεικτών οι οποίοι επισημαίνονται με το ίδιο φθορίζον μόριο δε θα πρέπει να επικαλύπτονται. Δείκτες με επικαλυπτόμενα αλληλομορφικά εύρη είναι εφικτό να ενισχυθούν παράλληλα στην ίδια πολλαπλή αντίδραση PCR, αν και μόνο αν φέρουν διαφορετικά φθορίζοντα μόρια. Ο αριθμός και ο τύπος διαφορετικών φθορίζοντων μορίων (διαφορετικά χρώματα εκπεμπόμενου φθορισμού) που μπορούν να χρησιμοποιηθούν εξαρτάται από την πλατφόρμα τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης. Αυτά συνήθως κυμαίνονται από 4 έως 6, εκ των οποίων ένα κανάλι χρώματος αντιστοιχεί πάντα στο εσωτερικό πρότυπο κορυφών γνωστού μοριακού βάρους.

Οι θερμοκρασίες υβριδισμού των χρησιμοποιούμενων εκκινητών θα πρέπει να είναι υψηλές, ιδανικά 58°C ή υψηλότερες και να μη διαφέρουν υπερβολικά μεταξύ των ζευγών εκκινητών (Butler *et al.* 2005, Hill *et al.* 2009, Qiagen 2010).

Για να διασφαλιστεί η επιτυχής παράλληλη ενίσχυση διαφορετικών δεικτών SSR, είναι απαραίτητο να ελεγχθούν οι εκκινητές για πιθανό σχηματισμό δευτεροταγών δομών, σχηματισμό διμερών μορίων των εκκινητών και αλληλεπιδράσεων με άλλους εκκινητές στην πολλαπλή αντίδραση PCR (Vallone και Butler 2004, van Asch *et al.* 2010). Έχουν αναπτυχθεί ειδικά λογισμικά τα οποία είναι ελεύθερα διαθέσιμα, όπως το Multiplex Manager v1.2 (Holleley και Geerts 2009), για να υποβοηθήσουν το σχεδιασμό μιας βέλτιστης λύσης η οποία βασίζεται στα χαρακτηριστικά των δεικτών.

Η χρήση της κατάλληλης ποσότητας του DNA εκμαγείου που προστίθεται σε κάθε αντίδραση PCR είναι υψηλής σημασίας και θα πρέπει να είναι τυποποιημένη. Αν και η χρήση πολύ μικρής ποσότητας DNA μπορεί να επηρεάσει την ένταση του σήματος, να προκαλέσει ανισορροπία σήματος από-δείκτη-σε-δείκτη ή και απώλεια αλληλομόρφων, συνήθως η χρήση μεγάλης ποσότητας DNA επιφέρει περισσότερα προβλήματα (Livingstone *et al.* 2009, Guichoux *et al.* 2011). Υπερβολικές ποσότητες DNA μπορεί να οδηγήσουν σε εκτός κλίμακας τιμές του σήματος φθορισμού με αποτέλεσμα την εμφάνιση φασματικής αλληλεπικάλυψης χρωμάτων του εκπεμπόμενου φθορισμού (φαινόμενο pull-up), ανισορροπία σήματος μεταξύ δεικτών, διχαλωτές κορυφές αλληλομόρφων και ενισχυμένη εμφάνιση πολλαπλών κορυφών (Kline *et al.* 2005). Η συνιστώμενη συγκέντρωση DNA εκμαγείου στο τελικό διάλυμα πολλαπλής PCR κυμαίνεται μεταξύ 0,5 έως 4,0 ng/μl.

Η βέλτιστη θερμοκρασία υβριδισμού για την πολλαπλή PCR καθορίζεται εμπειρικά. Προτείνεται η χρήση της T_m (θερμοκρασία αποδιάταξης των εκκινητών) του ζεύγους εκκινητών με τη χαμηλότερη T_m ως σημείο εκκίνησης. Οι θερμοκυκλοποιητές PCR με λειτουργία διαβαθμισμένης θερμοκρασίας (gradient) επιταχύνουν σημαντικά το στάδιο βελτιστοποίησης της θερμοκρασίας υβριδισμού, καθώς επιτρέπουν τη δοκιμή έως και έξι διαφορετικών θερμοκρασιών ταυτόχρονα.

Συνιστάται ο έλεγχος και η επικύρωση της καλής λειτουργίας κάθε δείκτη μεμονωμένα, μέσω ξεχωριστών απλών αντιδράσεων PCR σε ένα σύνολο αντιπροσωπευτικών δειγμάτων, ειδικά όταν χρησιμοποιούνται νέοι σχεδιασμένοι εκκινητές. Ιδανικά, τα δείγματα που χρησιμοποιούνται για αυτές τις δοκιμές θα πρέπει να είναι αντιπροσωπευτικά της γενετικής ποικιλότητας (συμπερίληψη πολλαπλών πληθυσμών) των μελετώμενων ειδών (ή πληθυσμών), προκειμένου να αποφευχθούν μεταγενέστερα προβλήματα τα οποία σχετίζονται με το σφάλμα μεροληπτικής ταξινόμησης και για να εντοπισθούν όσο το δυνατόν περισσότερα διαφορετικά αλληλόμορφα. Δείκτες SSR οι οποίοι εμφανίζουν υψηλά ποσοστά μηδενικών αλληλομόρφων, παρουσία πολλαπλών κορυφών, διχαλωτών κορυφών ή/και άλλων προβλημάτων σε υπερβολικό βαθμό, θα πρέπει να απορρίπτονται ή να δοκιμάζονται εκ νέου έπειτα από τον σχεδιασμό νέων εκκινητών στο στάδιο της απλής PCR (Guichoux *et al.* 2011). Στη συνέχεια, οι δείκτες που ενισχύονται επιτυχώς στις μεμονωμένες αντιδράσεις, δοκιμάζονται μέσω πολλαπλής PCR για το ίδιο σύνολο δειγμάτων. Τέλος, τα αποτελέσματα της γενοτύπησης βάσει των απλών και των πολλαπλών αντιδράσεων θα πρέπει να συγκρίνονται για την περαιτέρω βελτιστοποίηση των πολλαπλών PCR (ενδέχεται να απαιτηθεί η απόρριψη συγκεκριμένων δεικτών).

Ακόμα κι αν η απόδοση των δεικτών στις μεμονωμένες αντιδράσεις PCR είναι ικανοποιητική, αρκετές φορές η ενίσχυση των ίδιων δεικτών στο πλαίσιο μίας πολλαπλής αντίδρασης PCR ενδέχεται να αποτυγχάνει. Παρακάτω παρατίθενται τα πιο συνήθη αίτια αποτυχίας και προτάσεις σχετικά με τον τρόπο αντιμετώπισής τους.

- α. Η **ανισορροπία σήματος από-δείκτη-σε-δείκτη είναι** το αποτέλεσμα της ετερογενούς αποτελεσματικότητας ενίσχυσης διαφορετικών γονιδιακών θέσεων στην ίδια πολλαπλή PCR, με αποτέλεσμα διαφορετικές εντάσεις σήματος φθορισμού μεταξύ δεικτών. Οι σύγχρονες πλατφόρμες ανίχνευσης φέρουν αισθητήρες μεγάλου δυναμικού εύρους, επιτρέποντας την αξιόπιστη ανίχνευση σημάτων σημαντικά διαφορετικής έντασης. Παρ' όλα αυτά, όσο πιο ομοιόμορφο είναι το σήμα, τόσο πιο αξιόπιστη και απλή αναμένεται να είναι η αυτόματη ανάγνωση του ηλεκτροφερογράμματος. Ένας κοινό αίτιο για την εμφάνιση της ανισορροπίας σήματος από-δείκτη-σε-δείκτη είναι οι διαφορές στην T_m των εκκινητών. Το πρόβλημα αυτό είναι δυνατόν να επιλυθεί μέσω της χρήσης πρωτοκόλλων PCR μειούμενης θερμοκρασίας υβριδοποίησης (touch-down PCR) (Rithidech και Dunn 2003, Renshaw *et al.* 2006). Εάν η T_m δεν αποτελεί το αίτιο της παρατηρούμενης ανισορροπίας, τότε η προσαρμογή των συγκεντρώσεων των εκκινητών μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εξισορρόπηση της έντασης των σημάτων. Η συγκέντρωση εκκινητών με ασθενές σήμα θα πρέπει να αυξηθεί, ενώ αντίθετα η συγκέντρωση εκκινητών με ισχυρό σήμα θα πρέπει να μειωθεί.
- β. Η εμφάνιση **πολλαπλών κορυφών (stuttering)** είναι ένα σύνθετο φαινόμενο το οποίο εκδηλώνεται με την εμφάνιση ενισχυμένων PCR προϊόντων τα οποία διαφέρουν κατά μία ή περισσότερες επαναλήψεις από το πραγματικό αλληλόμορφο και οφείλεται στην ολίσθηση της DNA πολυμεράσης (DNA polymerase slippage) (Levinson και Gutman 1987, Meldgaard και Morling 1997). Συνήθως οι επιπλέον κορυφές είναι μικρότερου μεγέθους από την πραγματική κορυφή (η οποία αντιστοιχεί στο πραγματικό αλληλόμορφο). Έχουν προταθεί διάφορες προσεγγίσεις για τον περιορισμό του φαινομένου: (i) μείωση της θερμοκρασίας αποδιάταξης στους 83°C (Olejniczak και Krzyzosiak 2006), (ii) πρόσθετα διαλύματα στην PCR όπως αλβουμίνη (bovine serum albumin), φορμαμίδιο ή διμεθυλοσουλφοξείδιο (dimethyl sulfoxide), (iii) χρήση εξειδικευμένων εμπορικά διαθέσιμων προϊόντων πολλαπλής PCR ή / και τροποποιημένες πολυμεράσες νέας γενιάς (Fazekas *et al.* 2010), (iv) τροποποίηση εκκινητών με συμπερίληψη τμήματος της μικροδορυφορικής περιοχής (Flores - Rentería και Whipple 2011) και (v) χρήση SSR με μήκος μοτίβου επανάληψης μεγαλύτερο από δύο νουκλεοτίδια. Κατά γενική ομολογία, η εμφάνιση πολλαπλών κορυφών χαμηλής ή μέτριας έντασης δεν αποτελεί ιδιαίτερο πρόβλημα για την ακριβή καταγραφή των αλληλομόρφων και των μεγεθών τους, αλλά ενδέχεται να απαιτεί περισσότερη προσπάθεια με τη μορφή του χειροκίνητου ελέγχου των αυτόματα καταγεγραμμένων αποτελεσμάτων.
- γ. **Διχαλωτές κορυφές (κορυφές N-1)**. Οι διχαλωτές κορυφές προκαλούνται από μερική προσθήκη αδενίνης στα προϊόντα PCR από την *Taq* πολυμεράση, έχοντας ως αποτέλεσμα διπλές κορυφές – μία κορυφή για τα πιστά αντίγραφα του πρότυπου τμήματος DNA και μια επιπλέον κορυφή, μεγαλύτερη κατά ένα ζεύγος βάσεων, η οποία αντιστοιχεί στα προϊόντα PCR τα οποία φέρουν μία επιπλέον αδενίνη. Η ύπαρξη διχαλωτών κορυφών δύναται να περιπλέξει την ορθή καταγραφή των αλληλομόρφων με αυτόματα μέσα, ιδιαίτερος για ετεροζυγώτες γενοτύπους με αλληλόμορφα παραπλήσιου μεγέθους. Η πλήρης προσθήκη αδενινών και συνεπώς η μείωση της έντασης σχηματισμού διχαλωτών κορυφών μπορεί να επιτευχθεί μέσω: (i) μείωσης της ποσότητας του DNA εκμαγείου έως τα 10 ng (Lederer *et al.* 2000, Butler 2005b), (ii) μείωσης της συγκέντρωσης των εκκινητών, (iii) μείωσης του αριθμού των κύκλων PCR, ή (iv) χρησιμοποιώντας άλλους τύπους DNA πολυμεράσης (Hu 1993, Vallone *et al.* 2008).
- δ. **Διμερή μόρια εκκινητών και άλλες ψευδείς ζώνες**. Διάφορα τεχνικά σφάλματα μπορούν να εκδηλωθούν σε μία πολλαπλή αντίδραση PCR, ως αποτέλεσμα της συμπληρωματικότητας των αζωτούχων βάσεων αλληλουχιών των εκκινητών ενός δείκτη ή μεταξύ εκκινητών διαφορετικών δεικτών (Brownie *et al.* 1997, Hill *et al.* 2009). Τεχνικά σφάλματα με τη μορφή επιπρόσθετων ζωνών δύνανται να προκύψουν λόγω μη εξειδικευμένης πρόσδεσης-υβριδισμού των εκκινητών ή λόγω της ενίσχυσης ψευδογονιδίων. Η αυστηροποίηση των συνθηκών PCR (αύξηση της θερμοκρασίας υβριδισμού, συντόμευση του σταδίου του υβριδισμού), ενδέχεται να μειώσουν τη συχνότητα εμφάνισης αυτών των φαινομένων, ωστόσο ο ορθός σχεδιασμός των εκκινητών και της πολλαπλής PCR αποτελούν την καλύτερη εγγύηση κατά του σχηματισμού τους. Εάν τα τεχνικά σφάλματα δεν παρεμβαίνουν στην καταγραφή των αλληλομόρφων, μπορούν απλώς

να παραλειφθούν κατά τη διάρκεια της ανάλυσης, αλλά μερικές φορές αυτοί οι δείκτες είναι καλύτερο να απορρίπτονται από την πολλαπλή PCR ή να επανασχεδιάζονται οι εκκινητές τους (Guichoux *et al.* 2011).

Αν και τα δημοσιευμένα πρωτόκολλα πολλαπλών αντιδράσεων SSR δεικτών αποτελούν ένα καλό σημείο εκκίνησης, οι συνθήκες διεξαγωγής της PCR που αναφέρονται, σπάνια παράγουν τα βέλτιστα αποτελέσματα. Είναι αναμενόμενο ότι πριν την εφαρμογή αναλύσεων πολλαπλών SSR δεικτών σε συνήθη βάση για μεγάλο αριθμό δειγμάτων, θα πρέπει πρώτα να προηγηθεί τουλάχιστον κάποιο βασικό επίπεδο βελτιστοποίησης.

6.4.2.2.3 Ανάλυση ενισχυμένων τμημάτων (Fragment analysis)

Η ανάλυση ενισχυμένων τμημάτων αποτελεί το επόμενο στάδιο έπειτα από τη διεξαγωγή PCR, τον επακόλουθο διαχωρισμό και την ανίχνευση των ενισχυμένων μέσω της PCR, τμημάτων (αμπλικονίων) σε μια αυτοματοποιημένη πλατφόρμα τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης υψηλής ευκρίνειας (γνωστής ως sequencer ή ως γενετικός αναλυτής). Περιλαμβάνει την ανάλυση των ακατέργαστων δεδομένων, δηλαδή την καταγραφή του μεγέθους αλληλομόρφων και την ομαδοποίηση αλληλομόρφων παραπλήσιου μεγέθους (± 0.5 bp) σε ένα αλληλόμορφο (binning). Εκτός εάν σημειώνεται διαφορετικά, οι πληροφορίες που αναφέρονται παρακάτω βασίζονται στα εγχειρίδια χρήστη και πρωτόκολλα ανάλυσης των κατασκευαστών (Applied Biosystems / Thermo Fisher Scientific 2010, 2014) των συστημάτων ηλεκτροφόρησης, καθώς και στα πρωτόκολλα και στην εμπειρική γνώση των εργαστηρίων που συμμετέχουν στο έργο LIFEGENMON.

α. Αραίωση δειγμάτων PCR

Οι σύγχρονοι γενετικοί αναλυτές φέρουν εξαιρετικά ευαίσθητους αισθητήρες ανίχνευσης φθορισμού, που συχνά απαιτούν τη μείωση της συγκέντρωσης των επισημασμένων με φθορίζοντα μόρια ενισχυμένων τμημάτων PCR ώστε η ένταση φθορισμού να βρίσκεται εντός του συνιστώμενου εύρους ανίχνευσης. Η υπερφόρτωση δειγμάτων σε αυτές τις συσκευές θα πρέπει να αποφεύγεται, καθώς επηρεάζει την ένταση και την ευκρίνεια του σήματος, ενώ ενδέχεται να οδηγήσει και σε απόφραξη των τριχοειδών. Το επίπεδο αραίωσης εξαρτάται από την ευαισθησία και το εύρος ανίχνευσης του γενετικού αναλυτή, την αποτελεσματικότητα και τον αριθμό κύκλων ενίσχυσης PCR των δεικτών SSR και των φθορίζοντων μορίων τα οποία χρησιμοποιούνται και θα πρέπει να προσδιοριστεί εμπειρικά για κάθε πολλαπλή PCR. Ως γενικός κανόνας, αναφέρεται η απαίτηση για έως και 100πλάσιες αραιώσεις. Οι αραιώσεις θα πρέπει να βελτιστοποιηθούν έτσι ώστε η μέση αναλογία έντασης δείγματος προς εσωτερικό πρότυπο κορυφών γνωστού μοριακού βάρους να κυμαίνεται μεταξύ 3:1 και 1:1. Τα PCR δείγματα μπορούν να αραιωθούν σε φορμαμίδιο ή νερό κατάλληλο για εφαρμογές μοριακής βιολογίας (νερό το οποίο δεν εμπεριέχει νουκλεϊικά οξέα και DNAσες / RNAσες). Τα αραιωμένα δείγματα θα πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία το συντομότερο δυνατό και να μην εκτίθενται στο φως, προκειμένου να αποφευχθεί ο εκφυλισμός των φθορίζοντων μορίων.

β. Αποδιάταξη αλυσίδων αραιωμένων PCR δειγμάτων

Η αποδιάταξη των αλυσίδων των ενισχυμένων μέσω PCR δειγμάτων είναι απαραίτητη, καθώς μόνο μονόκλινα τμήματα DNA (ssDNA) μετακινούνται αξιόπιστα με βάση το μοριακό βάρος τους στην ηλεκτροφόρηση. Τα αραιωμένα PCR δείγματα συνδυάζονται με ένα εσωτερικό πρότυπο τμημάτων DNA γνωστού μοριακού βάρους μέσα σε φορμαμίδιο που αποτελεί ενισχυτή της αντίδρασης και επωάζονται στους 95°C για 3-5 λεπτά ώστε να επιτευχθεί πλήρης αποδιάταξη των δίκλωνων ενισχυμένων τμημάτων DNA (dsDNA). Στο εμπόριο διατίθενται διάφορα πρότυπα τμημάτων DNA γνωστού μοριακού βάρους, τα οποία καλύπτουν διαφορετικά εύρη τμημάτων DNA. Για την επιλογή ενός προτύπου θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ολόκληρο το εύρος μεγεθών (μοριακού βάρους) αλληλομόρφων των αναλυθέντων δεικτών SSR. Συνιστάται η συμμόρφωση με τις οδηγίες του κατασκευαστή σχετικά με προτεινόμενες αναλογίες σύστασης του μείγματος αποδιάταξης, π.χ. φορμαμίδιο, δείγμα και πρότυπο τμημάτων DNA. Αν το φορμαμίδιο έρθει σε επαφή με νερό υδρολύεται σε φορμικό (μεθανικό) οξύ και ανιόν φορμικού οξέος, με αποτέλεσμα την εξασθένηση της αποδιατακτικής του ιδιότητας. Επιπλέον, τα ανιόντα του φορμικού οξέος μετακινούνται προς τα τριχοειδή κατά τη διάρκεια της ηλεκτροκινητικής έγχυσης προκαλώντας απώλεια έντασης σήματος. Το φορμαμίδιο θα πρέπει να φυλάσσεται στους -20°C και να αποφεύγεται η χρήση του μετά το πέρας δύο κύκλων ψύξης / απόψυξης. Συνιστάται να

προετοιμάζονται κλάσματα φορمامιδίου ώστε να αποφεύγεται η υποβάθμισή του. Μετά την μεταχείριση με σκοπό την αποδιάταξη των δίκλωνων αλυσίδων DNA, τα προϊόντα της PCR θα πρέπει να αναλύονται άμεσα, καθώς η ένταση του σήματος εξασθενεί με την αποθήκευση. Τα αποδιαταγμένα δείγματα δεν θα πρέπει να αποθηκεύονται για περισσότερο από: 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου, πέντε ημέρες στους 2-8 °C ή μια εβδομάδα στους -20 °C.

γ. Τριχοειδής ηλεκτροφόρηση

Στις περισσότερες σύγχρονες πλατφόρμες ανίχνευσης ο ηλεκτροφορητικός διαχωρισμός του DNA είναι σε μεγάλο βαθμό αυτοματοποιημένος και απαιτεί ελάχιστη παρέμβαση από το προσωπικό, πέραν της φόρτωσης των πλακών με τα αποδιαταγμένα δείγματα, τη μεταφόρτωση ή τη δημιουργία του καταλόγου δειγμάτων, καθώς και την επιλογή του κατάλληλου πρωτοκόλλου. Ομοίως, το λογισμικό που παρέχεται με τους γενετικούς αναλυτές, συνοδεύεται από πρωτόκολλα βελτιστοποιημένα για διαφορετικούς τύπους αναλύσεων. Ανάλογα με τον γενετικό αναλυτή που χρησιμοποιείται, είναι συνήθως δυνατή κάποια σχετική βελτιστοποίηση των συνθηκών έγχυσης και επεξεργασίας του δείγματος (χρόνος έγχυσης και λειτουργίας, έγχυση και τάση λειτουργίας), η οποία μπορεί να βελτιώσει την ποιότητα των αποτελεσμάτων, την ακρίβεια μεταξύ διαφορετικών πειραμάτων ή / και την απόδοση.

Ο χρόνος έγχυσης επηρεάζει την ένταση και την ευκρίνεια του σήματος. Η αύξηση του χρόνου έγχυσης ενδέχεται να βελτιώσει την ένταση του σήματος για δείγματα με χαμηλή συγκέντρωση προϊόντος PCR, αλλά οι μεγαλύτεροι χρόνοι έγχυσης μειώνουν επίσης την ευκρίνεια, οδηγώντας σε μειωμένη αναλογία ύψους προς πλάτος κορυφής. Η αύξηση της τάσης έγχυσης επηρεάζει την ένταση του σήματος αλλά δεν επηρεάζει σημαντικά την ευκρίνεια. Ωστόσο, προτιμώνται χαμηλότερες τάσεις για να διασφαλιστεί καλύτερη ακρίβεια του χρονισμού έγχυσης και συνεπώς επαναληψιμότητας στη φόρτωση δείγματος, μεταξύ διαφορετικών δειγμάτων και πειραμάτων.

Οποιοσδήποτε αλλαγές στις συνθήκες ηλεκτροφόρησης θα πρέπει να λαμβάνουν υπόψη το εύρος του μήκους τμημάτων DNA (αλληλομορφικά εύρη των αναλυθέντων δεικτών SSR και του εσωτερικού προτύπου τμημάτων DNA γνωστού μεγέθους) και την απαιτούμενη ευκρίνεια. Τις περισσότερες φορές, η βελτιστοποίηση των χρόνων ηλεκτροφόρησης πραγματοποιείται με σκοπό την αύξηση της διεκπαιρευτικής ικανότητας. Ο βέλτιστος χρόνος ηλεκτροφόρησης για μια δεδομένη τάση λειτουργίας θα πρέπει να προσδιορίζεται μέσω δοκιμών. Ο χρόνος εκτέλεσης της ηλεκτροφόρησης θα πρέπει να είναι περίπου 10% μεγαλύτερος από τον χρόνο μετακίνησης του μεγαλύτερου τμήματος DNA. Γενικά, για τον ακριβή προσδιορισμό του μεγέθους των ενισχυμένων τμημάτων και τη δημιουργία πρότυπης καμπύλης του μοριακού βάρους θα πρέπει να περιλαμβάνονται στην ηλεκτροφόρηση δυο πρότυπα τμήματα με μικρότερο μοριακό βάρος και δυο πρότυπα τμήματα με μεγαλύτερο μοριακό βάρος των μελετώμενων τμημάτων. Παρόλο που η αύξηση της τάσης της ηλεκτροφόρησης μειώνει το χρόνο διεξαγωγής της μετακίνησης των ζωνών, υπάρχει η πιθανότητα μη αποδοτικού διαχωρισμού των τμημάτων DNA και μείωσης της ευκρίνειας.

δ. Καταγραφή και ομαδοποίηση αλληλομόρφων

Μετά την σύνθεση των πρωτογενών δεδομένων από τους γενετικούς αναλυτές, οι παραγόμενοι γενότυποι πρέπει να αναγνωστούν. Η ανάγνωση των γενοτύπων αποτελείται από δύο διαδοχικά βήματα: την καταγραφή του πραγματικού μεγέθους των αλληλομόρφων (εκφρασμένο ως το πραγματικό (ακατέργαστο) ανιχνευμένο μέγεθος-μοριακό βάρος του εκάστοτε ενισχυμένου τμήματος σε δεκαδικά ψηφία) και την ομαδοποίηση (binning) (κατανομή των πραγματικών μεγεθών αλληλομόρφων σε διακριτές ακέραιες μονάδες, που διαφέρουν μεταξύ τους απόσταση ίση με το μέγεθος του μοτίβου επανάληψης του δείκτη) (Idury και Cardon 1997).

Η καταγραφή των αλληλομόρφων περιλαμβάνει την αναγνώριση των κορυφών στο ηλεκτροφερόγραμμα οι οποίες αντιστοιχούν στα αλληλόμορφα και τον προσδιορισμό του πραγματικού τους μεγέθους (μήκους σε ζεύγη βάσεων). Τα λογισμικά που παρέχονται με τα συστήματα τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης, π.χ. Peak Scanner, MSA και GeneMapper από τις Applied Biosystems / Thermo Fisher Scientific, GenomeLab (Beckman Coulter / Sciex), καθώς και λογισμικό τρίτων κατασκευαστών, π.χ. Geneious (Biomatters Ltd.), επιτρέπουν υψηλό επίπεδο αυτοματοποίησης της καταγραφής των αλληλομόρφων και συνήθως είναι ικανά να αντιμετωπίσουν

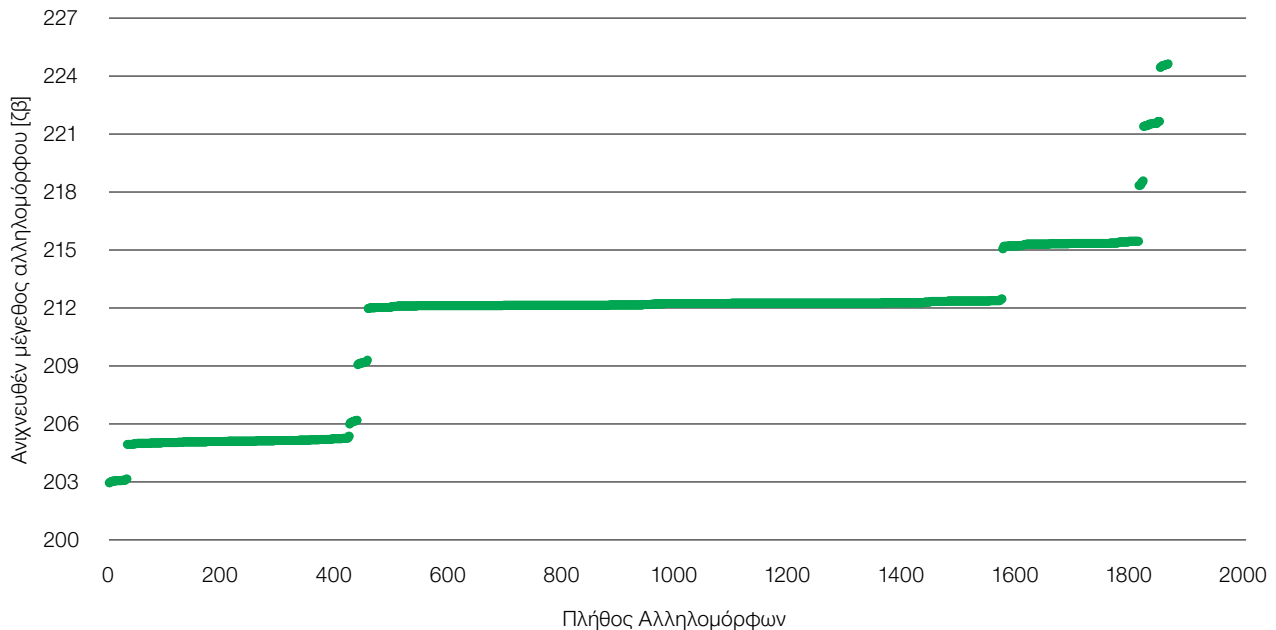
πολλά συνήθη προβλήματα, όπως η εμφάνιση πολλαπλών κορυφών, ο υπερβολικός θόρυβος στο επίπεδο αναφοράς, οι κατακόρυφες αυξήσεις σήματος ως αποτέλεσμα υπολειμμάτων ή μικροφουσαλίδων και οι κορυφές εκτός κλίμακας (Guichoux *et al.* 2011). Ωστόσο, ανάλογα με την ποιότητα των αποτελεσμάτων, η καταγραφή αλληλομόρφων ενδέχεται να απαιτεί ως ένα βαθμό χειροκίνητη επεξεργασία. Καθώς η χειροκίνητη επεξεργασία μπορεί να είναι κοπιαστική και εξ ορισμού εισάγει ένα επίπεδο υποκειμενικότητας και σφάλματος, είναι σημαντικό να επιλέγονται δείκτες με καλή απόδοση και να βελτιστοποιούνται οι πολλαπλές αντιδράσεις PCR στον υψηλότερο δυνατό βαθμό (Scandura *et al.* 2006, Guichoux *et al.* 2011). Επιπλέον, όσον αφορά τη χειροκίνητη επεξεργασία, προτείνεται η εφαρμογή των ίδιων κανόνων με αδιάλειπτη συνέπεια, τόσο μεταξύ δεικτών, όσο και μεταξύ δειγμάτων και ερευνητικών έργων.

Η ομαδοποίηση (binning), ως το επόμενο βήμα της γενοτύπησης, είναι κρίσιμης σημασίας, καθώς ασυνέπειες και αυθαίρετες αποφάσεις σχετικά με την ομαδοποίηση των αλληλομόρφων έχουν αναφερθεί ως σημαντική αιτία σφάλματος γενοτύπησης στους δείκτες SSR (Ewen *et al.* 2000, Weeks *et al.* 2002, Morin *et al.* 2010). Πολλά προγράμματα λογισμικού τα οποία έχουν αναπτυχθεί από τους κατασκευαστές συστημάτων τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης ή από τρίτους κατασκευαστές, επιτρέπουν τον αυτόματο σχηματισμό των ομάδων. Ωστόσο, συνιστάται οι ομάδες (bins) να ελέγχονται – δηλαδή η ορθότητα τους να επαληθεύεται χειροκίνητα – και εάν είναι απαραίτητο, να προσαρμόζονται κατά την αρχική φάση καταχώρησης των ομάδων, πριν την επακόλουθη ανάλυση. Τα ακατέργαστα δεδομένα, με τις ακριβείς τιμές μεγέθους των αλληλομόρφων, συνιστάται να αποθηκεύονται για μελλοντική αναφορά, καθώς και για συγκρίσεις. Ένας εύκολος, γρήγορος και αποτελεσματικός τρόπος για την εύρεση του εύρους των ομάδων είναι ο σχεδιασμός διαγραμμάτων κατανομής των ακατέργαστων μεγεθών των αλληλομόρφων (Σχήμα 6.4). Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την εξαγωγή των τιμών τιμές μεγέθους των τμημάτων DNA σε ένα υπολογιστικό φύλλο, την ταξινόμηση των τιμών κατά το μέγεθός τους και τη δημιουργία διαγραμμάτων διασποράς του αθροιστικού συνόλου δεδομένων μεγέθους αλληλομόρφων για κάθε δείκτη (Jayashree *et al.* 2006, Guichoux *et al.* 2011). Οι ομάδες μπορούν στη συνέχεια να καταχωρηθούν γύρω από αυτές τις κατανομές μεγέθους σε σημεία όπου παρατηρούνται διακριτές διακοπές στις κλάσεις μεγέθους. Τα διαγράμματα κατανομής μεγέθους αλληλομόρφων μπορούν να εξυπηρετήσουν διάφορους επιπλέον σκοπούς:

- α. Παρέχουν ένα χρήσιμο οπτικό βοήθημα για τον άμεσο εντοπισμό αλληλομόρφων που αποκλίνουν από την αναμενόμενη περιοδικότητα των επαναλήψεων, δηλαδή «αλληλόμορφα που προέρχονται από μετάλλαξη» ή «μη αναμενόμενα αλληλόμορφα εντός του αναμενόμενου εύρους (off-ladder variants)». Όταν ανιχνεύονται off-ladder αλληλόμορφα, θα πρέπει να πραγματοποιείται χειροκίνητος έλεγχος για να προσδιοριστεί εάν το off-ladder μέγεθος είναι αληθές ή ίσως είναι το αποτέλεσμα ασυνεπούς καταγραφής αλληλομόρφων στην περίπτωση εμφάνισης πολλαπλών κορυφών, διχαλωτών κορυφών ή άλλων ψευδών κορυφών. Σε τέτοιες περιπτώσεις, συνιστάται η εκτέλεση απλής PCR υπό βέλτιστες συνθήκες για τον έλεγχο παραγωγής off-ladder ενισχυμένων τμημάτων και υπό τις δεδομένες συνθήκες. Εάν τα ίδια ενισχυμένα τμήματα παράγονται και στην απλή PCR και αν ένα τέτοιο μεταλλαγμένο ενισχυμένο τμήμα επιβεβαιωθεί σε πολλά διαφορετικά άτομα, τότε είναι πιθανό ότι το αποτελεί ένα αληθές αλληλόμορφο και θα πρέπει να θεωρηθεί ως ένα μοναδικό, μεταλλαγμένο αλληλόμορφο το οποίο σχηματίζει τη δική του ομάδα (bin).
- β. Επιτρέπουν την αναγνώριση της «παρέκκλισης αλληλομόρφου» (allelic drift), ενός φαινομένου το οποίο έχει ως αποτέλεσμα η ανιχνευόμενη απόσταση μεταξύ γειτονικών αλληλομόρφων να διαφέρει ελαφρώς από το αναμενόμενο μήκος επανάληψης - για τους δινουκλεοτιδικούς SSR, αυτή η απόσταση μπορεί να κυμαίνεται μεταξύ 1,8 έως 2,2 ζεύγη βάσεων (bp) (Amos *et al.* 2007). Επιπλέον, η απόσταση μεταξύ γειτονικών αλληλομόρφων μπορεί να μεταβάλλεται κατά το μήκος της αλληλομορφικής κλίμακας.
- γ. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον εντοπισμό μεταβολών των ανιχνευόμενων μεγεθών αλληλομόρφων λόγω δυσλειτουργίας εξοπλισμού ή φθοράς και υποβαθμισμένων αναλώσιμων. Σε αυτές τις περιπτώσεις, τα διαγράμματα κατανομής μεγέθους αλληλομόρφων σε συνδυασμό με την ανάλυση πρότυπων δειγμάτων θα πρέπει πάντα να λαμβάνονται υπόψη όταν εισάγονται τυχόν αλλαγές στην ανάλυση (αλλαγή φθοριζόντων μορίων, αλλαγή πολυμεράσης, αλλαγές στα πρωτόκολλα PCR ή στη σύνθεση μείγματος PCR, στα αντιδραστήρια ηλεκτροφόρησης (πολυμερές και τύπος τριχοειδούς) ή στις συνθήκες ηλεκτροφόρησης, καθώς αυτοί οι παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν το ανιχνευθέν μέγεθος των ενισχυμένων τμημάτων

DNA (Hartzell *et al.* 2003, Sgueglia *et al.* 2003, Hahn *et al.* 2001, Ghosh *et al.* 1997). Εάν εντοπιστούν μετατοπίσεις στα ανιχνευόμενα μεγέθη αλληλομόρφων λόγω εισαγόμενων αλλαγών, οι ομάδες θα πρέπει να προσαρμόζονται ανάλογα.

- δ. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μέρος του ελέγχου ακεραιότητας δεδομένων για τον εντοπισμό τιμών μεγέθους αλληλομόρφων εκτός των αναμενόμενων ορίων (βλέπε υποκεφάλαιο 6.5.4.1).



Σχήμα 6.4: Κατανομή μεγέθους ενισχυμένων τμημάτων 1864 αλληλομόρφων για τον δείκτη τριουκλεοτιδικής επανάληψης Aag01 σε δείγματα *Abies alba* Mill. Τα περισσότερα αλληλόμορφα ακολουθούν την αναμενόμενη περιοδικότητα των 3 bp, εκτός από το αλληλόμορφο στο μέγεθος των 206 bp, όπου εντοπίστηκαν δύο παραλλαγές - η αναμενόμενη παραλλαγή 206 bp και μια off-ladder παραλλαγή 205 bp, η οποία στον συγκεκριμένο πληθυσμό αντιπροσωπεύει ένα από τα πιο συχνά αλληλόμορφα. Ο χειροκίνητος έλεγχος αποκάλυψε ότι η παρουσία τόσο των αναμενόμενων αλληλομόρφων όσο και των off-ladder παραλλαγών τους, δεν ήταν αποτέλεσμα ασυνεπούς καταγραφής αλληλομόρφων, καθώς ο Aag01 είναι δείκτης «καλής συμπεριφοράς» χωρίς διχαλωτές κορυφές και μόνο με χαμηλής έντασης πολλαπλές κορυφές. Επιπροσθέτως, ταυτοποιήθηκαν αρκετά άτομα τα οποία φέρουν και τα δύο αλληλόμορφα, την παραλλαγή 205 bp και την 206 bp, ενώ η παρουσία και των δύο παραλλαγών εντοπίστηκε επίσης σε δέντρα αναπαραγωγικής ηλικίας, σπέρματα και στη φυσική αναγέννηση διάφορων ηλικιών. Σε αυτή τη περίπτωση, η παραλλαγή των 205 bp καταχωρήθηκε ως ένα μοναδικό νέο (προϊόν μετάλλαξης) αλληλόμορφο, ξεχωριστό από το αλληλόμορφο των 206 bp.

6.4.2.3 Δείκτες Απλού Νουκλεοτιδικού Πολυμορφισμού (SNPs)

6.4.2.3.1 Επιλογή κατάλληλων δεικτών SNP

Αναζητήστε τη διαθέσιμη επιστημονική βιβλιογραφία για διαθέσιμα SNP και συμβουλευτείτε συναδέλφους από άλλα εργαστήρια οι οποίοι έχουν εμπειρία στη χρήση της εκάστοτε πλατφόρμας γενотύπησης για το εν λόγω είδος. Κατά την επιλογή κατάλληλων γονιδιακών θέσεων SNP από τη βιβλιογραφία ή την ανάπτυξη νέων, συνιστάται να λαμβάνονται υπόψη τα ακόλουθα κριτήρια:

- Εάν υπάρχουν διαθέσιμοι γενετικοί χάρτες σύνδεσης, επιλέξτε γονιδιακές θέσεις SNP από όσο το δυνατόν περισσότερα διαφορετικά χρωμοσώματα και κατά το δυνατόν πιο απομακρυσμένους σε χαρτογραφική απόσταση στην περίπτωση που βρίσκονται στο ίδιο χρωμόσωμα.
- Επικεντρωθείτε στα SNP τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς σε όσο το δυνατόν μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων και σε δείγματα από διαφορετικά μέρη του γεωγραφικού εύρους κατανομής των ειδών, καθώς

αυτό θα ελαχιστοποιήσει την πιθανότητα εμφάνισης σφάλματος μεροληπτικής ταξινόμησης (ascertainment bias). Η ίδια συμβουλή ισχύει και σχετικά με τα δείγματα αναφοράς που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη ενός νέου συνόλου SNP.

- Εάν η γενετική παρακολούθηση ενός δασοπονικού είδους λαμβάνει χώρα σε μια περιοχή όπου αναμένεται η παρουσία διειδικών υβριδίων, βεβαιωθείτε ότι έχετε επιλέξει δείκτες οι οποίοι έχουν δοκιμαστεί επιτυχώς για τη δυνατότητα μεταφοράς μεταξύ των ειδών που υβριδίζουν. Συνιστάται η διενέργεια δοκιμών σε δείγματα και των δύο ειδών για τον έλεγχο της απόδοσης των SNP που θα χρησιμοποιηθούν.
- Αναλόγως με το ερευνητικό ερώτημα, είτε SNP τα οποία βρίσκονται σε σύνδεση με γονίδια είτε ουδέτερα SNP μπορεί να είναι καταλληλότερα.
- Προτείνεται η επιλογή ενός μεγαλύτερου αριθμού SNP από τον αναμενόμενα αναγκαίο αριθμό γονιδιακών θέσεων, καθώς πολλά από αυτά ενδέχεται να απορριφθούν λόγω ελλειψουσών τιμών, έλλειψης ποικιλότητας (χαμηλή συχνότητα εναλλακτικού αλληλομόρφου) ή σφάλματος μεροληπτικής ταξινόμησης.
- Ο συνολικός αριθμός των SNP που θα χρησιμοποιηθούν εξαρτάται από το ερευνητικό ερώτημα και τους διαθέσιμους πόρους. Για παράδειγμα, περίπου 180 μη συνδεδεμένα SNP αναμένεται να είναι επαρκή για ακριβείς εκτιμήσεις του αποτελεσματικού μεγέθους πληθυσμού (Waples και Do 2010).
- Εάν ο αριθμός των διαθέσιμων SNP δεν επαρκεί για τη διερεύνηση της ερευνητικής υπόθεσης και δεν υπάρχει η οικονομική δυνατότητα για την ανάπτυξη ενός μεγαλύτερου αριθμού SNP, εξετάστε το ενδεχόμενο να χρησιμοποιήσετε SNP τα οποία έχουν ανιχνευθεί σε φυλογενετικά συγγενικά είδη. Ωστόσο, αναμένετε υψηλά ποσοστά αποτυχίας.
- Αν και το ποσοστό επιτυχούς μεταφοράς SNP μεταξύ πλατφορμών γενотύπησης είναι γενικά υψηλό, αναμένετε κάποια απώλεια πολυμορφισμού (Semagn *et al.* 2014).
- Στην περίπτωση χρήσης πλατφορμών γενотύπησης υψηλής διεκπαιρευτικής ικανότητας (π.χ. γενотύπηση μέσω αλληλούχησης RAD-seq), βεβαιωθείτε ότι διαθέτετε τους υπολογιστικούς πόρους για την ανάλυση των δεδομένων.

6.4.2.3.2 Απαιτήσεις DNA για ανάλυση δεικτών SNP

Οι απαιτήσεις DNA για την ανάλυση των δεικτών SNP θα εξαρτηθούν από την προσέγγιση γενотύπησης ή / και τον εκάστοτε φορέα παροχής υπηρεσιών. Όσον αφορά στην ποιότητα, απαιτούνται εκχυλίσματα γονιδιωματικού DNA υψηλής καθαρότητας και ακεραιότητας. Για να εξασφαλιστούν τα βέλτιστα αποτελέσματα, τα εκχυλίσματα DNA θα πρέπει να έχουν αναλογίες απορρόφησης UV A260/A280 > 1,8 και A260/A230 1,8 - 2,0. Ανατρέξτε στο υποκεφάλαιο 6.4.1.4 για μία πιο λεπτομερή εξήγηση της αξιολόγησης της ποιότητας του DNA.

Η ανάλυση γενετικών δεικτών SNP μπορεί να διεξαχθεί στο εργαστήριο ή μέσω ανάθεσης σε εξωτερικό πάροχο και οι τιμές ποσότητας DNA που παρουσιάζονται παρακάτω θα πρέπει να χρησιμεύουν ως γενικές οδηγίες, καθώς οι απαιτούμενες ποσότητες ποικίλουν ανάλογα με τον τύπο ανάλυσης και τον πάροχο υπηρεσιών.

Για ανάλυση SNP υψηλής διεκπαιρευτικής ικανότητας (HTS), όπως αλληλούχηση RAD, απαιτείται συνολική ποσότητα περίπου 3 μg DNA σε συγκεντρώσεις 50 - 100 ng/μl.

Για ανάλυση SNP μέσω της τεχνικής KASP (Kompetitive Allele Specific PCR) η απαιτούμενη ποσότητα DNA εξαρτάται τόσο από το μέγεθος του γονιδιώματος του εκάστοτε οργανισμού, όσο και από τον αριθμό των δεικτών SNP που αναμένεται να γενотυπηθούν. Απαιτούνται περίπου 10 ng DNA ανά δείκτη SNP για γονιδιώματα εύρους 2 - 3,5 Gbp. Για την ανάλυση 200 δεικτών SNP της *Abies alba*, είδος το οποίο φέρει γονιδίωμα 30 Gbp, αυτό μεταφράζεται σε 20 μg DNA. Επειδή αρκετές φορές είναι δύσκολο να εκχυλιστούν τέτοιες ποσότητες DNA, μπορεί να πραγματοποιηθεί ενίσχυση πλήρους γονιδιώματος (WGA) πριν από την KASP προκειμένου να εξασφαλιστεί επαρκής ποσότητα DNA εκμαγείου, αν και αυτό το στάδιο προ-ενίσχυσης ενδέχεται να αυξήσει το ποσοστό εσφαλμένης καταγραφής αλληλομόρφων. Για γονιδιώματα 2 - 3,5 Gbp περίπου 50 ng γονιδιωματικού

DNA επαρκούν για ανάλυση KASP 500 – 1000 SNP έπειτα από προ-στάδιο ενίσχυσης πλήρους γονιδιώματος (WGA) μέσω της τεχνικής προενίσχυσης με επέκταση εκκινητών (PEP).

6.5 Αναλύσεις δεδομένων

6.5.1 Θεωρητικό υπόβαθρο

Η γενετική παρακολούθηση των δασών (ΓΠΔ) στοχεύει στην εκτίμηση της ικανότητας ενός δασικού πληθυσμού να επιβιώνει, να αναπαράγεται και να διαιωνίζεται υπό ταχείες περιβαλλοντικές μεταβολές σε μακροπρόθεσμη κλίμακα (Fussi *et al.* 2016). Τρεις δείκτες, η (1) «επιλογή», (2) η «γενετική ποικιλότητα» και (3) η «ροή γονιδίων / σύστημα συζεύξεως», παρακολουθούνται βάσει ενός συνόλου επαληθευτών. Για να πραγματοποιηθεί αυτό, θα πρέπει να συλλέγονται / παράγονται και να αναλύονται δεδομένα πεδίου, εργαστηρίου και μοριακών δεικτών για την τακτική αξιολόγηση των επαληθευτών των τριών προαναφερθέντων δεικτών. Οι διαδικασίες συλλογής / παραγωγής και ανάλυσης δεδομένων πρέπει να είναι τυποποιημένες και τα δεδομένα να είναι διαθέσιμα ώστε να είναι εφικτές οι συγκρίσεις σε βάθος χρόνου.

Προκειμένου να είναι δυνατές οι συγκρίσεις αποτελεσμάτων από δείγματα μεταξύ χρονικών διαστημάτων, θα πρέπει να χρησιμοποιείται το ίδιο σύνολο γενετικών δεικτών (π.χ. μικροδορυφόροι - nSSR, απλοί πολυμορφισμοί νουκλεοτιδίου – SNP) για την αξιολόγηση των επαληθευτών. Με την ταχεία εξέλιξη της τεχνολογίας και την αύξηση των διαθέσιμων δεικτών, αποτελεί συνετή πρακτική η αποθήκευση δειγμάτων ιστού με σκοπό τη γενετική ανάλυση σε μεταγενέστερο χρόνο για τη διενέργεια αξιόπιστων συγκρίσεων με πιο πρόσφατα δείγματα. Ως ένα επιπρόσθετο όφελος, η ύπαρξη τυποποιημένων δεδομένων από πολυάριθμες επιφάνειες ΓΠΔ για το ίδιο δασοπονικό είδος επιτρέπει τη διενέργεια συγκρίσεων οι οποίες υποδεικνύουν εάν ένας συγκεκριμένος πληθυσμός εμφανίζεται σε καλύτερη ή χειρότερη κατάσταση από τους άλλους.

Αυτό το κεφάλαιο περιγράφει τις διαδικασίες απόκτησης και αξιολόγησης δεδομένων, συμπεριλαμβανομένων των: (α) τύπων δεδομένων (πεδίου, μοριακών), (β) φιλτράρισμα δεδομένων, (γ) ανάλυση δεδομένων (εργαλεία εντολών με βάση την γλώσσα προγραμματισμού ανοικτού κώδικα R, λογισμικά γενετικής ανάλυσης κ.λπ.) και ερμηνεία τιμών, καθώς και (δ) αποθήκευση - διαχείριση δεδομένων. Για τη διασφάλιση μακροπρόθεσμα συγκρίσιμων δεδομένων, είναι υψίστης σημασίας η χρήση τυποποιημένων πρωτοκόλλων και διαδικασιών, όπως πραγματοποιήθηκε και στο έργο LIFEGENMON.

6.5.2 Βάση δεδομένων

Οι βάσεις δεδομένων είναι σύνολα δεδομένων τα οποία βρίσκονται καταχωρημένα σε πίνακες και σειρές, παρόμοιους με ένα λογιστικό φύλλο του λογισμικού Microsoft Excel ή άλλων παρόμοιων λογισμικών, αλλά διασυνδεδεμένων με σχέσεις. Οι πίνακες έχουν τη δική τους προκαθορισμένη δομή που διασφαλίζει ότι τα δεδομένα είναι στη σωστή μορφή και στη σωστή θέση. Ο χρήστης εισάγει δεδομένα στη βάση δεδομένων με συστηματικό και μεθοδευμένο τρόπο μέσω ηλεκτρονικών εντύπων. Έπειτα, η βάση δεδομένων επιτρέπει στο χρήστη να ανακτά τα σωστά δεδομένα γρήγορα και εύκολα. Σε αντίθεση με το Microsoft Excel, οι πίνακες βάσεων δεδομένων έχουν συνήθως πολύ αυστηρούς κανόνες σχετικά με το είδος των δεδομένων και τον τρόπο εισαγωγής τους. Το γεγονός αυτό αποτελεί μία σημαντική δικλείδα ασφαλείας η οποία αποτρέπει την εισαγωγή εσφαλμένων δεδομένων από τον χρήστη. Αυτά δεν είναι τα μόνα λάθη που μπορούν να αποφευχθούν χρησιμοποιώντας μια βάση δεδομένων. Για παράδειγμα οι Ziemann *et al.* (2016) έδειξαν μέσω προγραμματικής σάρωσης κορυφαίων περιοδικών γονιδιωματικής, ότι περίπου το ένα πέμπτο των εργασιών με συμπληρωματικούς καταλόγους γονιδίων που προέκυψαν κατόπιν χρήσης του λογισμικού Excel, περιείχε λανθασμένες μετατροπές ονομάτων γονιδίων.

5.5.2.1 Βάση δεδομένων LIFEGENMON

Στο πλαίσιο της ΓΠΔ συγκεντρώνονται πολλοί διαφορετικοί τύποι δεδομένων π.χ. γενετικά, φαινολογικά, μετεωρολογικά δεδομένα και άλλα δεδομένα πεδίου. Μια βάση δεδομένων η οποία περιέχει όλους αυτούς τους τύπους δεδομένων επιτρέπει τον ευκολότερο και ταχύτερο εντοπισμό χρονικών μεταβολών και ερμηνείας των αποτελεσμάτων. Υπάρχουν πολλές δυνατότητες σχετικά με την επιλογή βάσης δεδομένων. Στο έργο LIFEGENMON δοκιμάστηκαν δύο συστήματα διαχείρισης βάσεων δεδομένων: το Open Foris και μια αυτόνομη βάση δεδομένων PostgreSQL. Το υποκείμενο σχήμα βάσης δεδομένων και για τις δύο ήταν το ίδιο (Σχήμα 6.5). Το σχήμα βάσης δεδομένων βασίστηκε στις οδηγίες, οι οποίες αποτελούν μέρος αυτού του οδηγού χρήσης και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πρότυπο για την αναδημιουργία της βάσης δεδομένων.

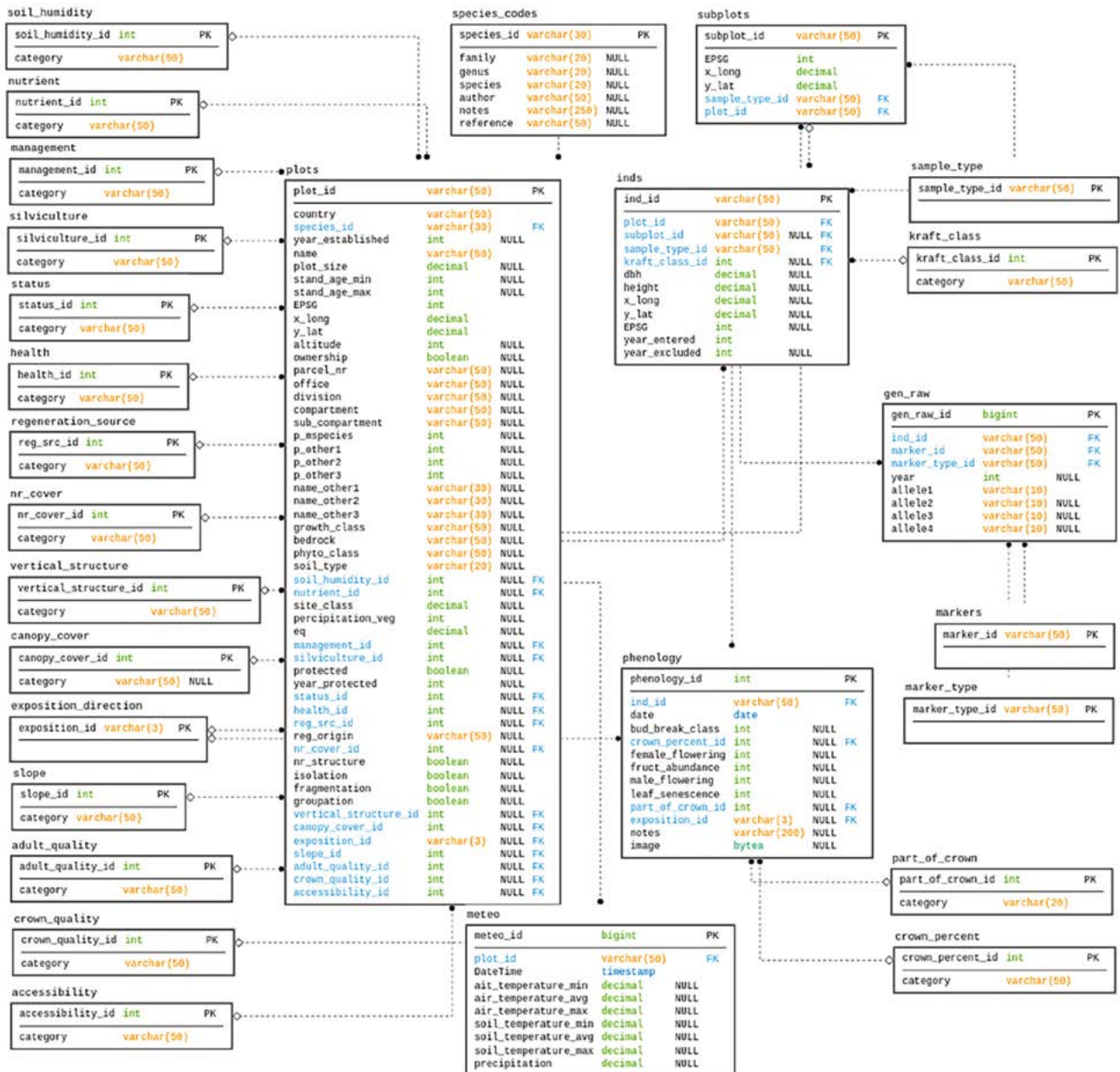
Open Foris

Το Open Foris είναι ένα δωρεάν διαθέσιμο σύνολο εργαλείων λογισμικού ανοιχτού κώδικα που επιτρέπει την ευέλικτη και αποδοτική συλλογή, ανάλυση και αναφορά δεδομένων. Το Open Foris Collect είναι το κύριο σημείο εισόδου για δεδομένα που συλλέγονται στο πεδίο. Παρέχει έναν γρήγορο, εύκολο και ευέλικτο τρόπο για τη δημιουργία ενός εντύπου καταγραφής στοιχείων με μια φιλική προς το χρήστη διεπαφή. Το εργαλείο Collect μπορεί να διαχειριστεί δεδομένα πολλαπλών τύπων και σύνθετους κανόνες επικύρωσης εντός ενός πολύγλωσσου περιβάλλοντος. Χάρη στη φιλική προς το χρήστη διεπαφή, αποτελεί μια αποτελεσματική λύση ανοιχτού κώδικα για ερευνητικά έργα με περιορισμένη οικονομική ευχέρεια όσον αφορά την επαγγελματική διαχείριση βάσεων δεδομένων. Το Open Foris διαθέτει επίσης το εργαλείο Calc, εντός του οποίου είναι εφικτή η συγγραφή κειμένων εντολών στη γλώσσα R και η διενέργεια αυτοματοποιημένων υπολογισμών. Το Open Foris είναι, βάσει προεπιλογής, βασισμένο σε βάση δεδομένων SQLite ή PostgreSQL. Ωστόσο, τα δεδομένα αποθηκεύονται σε δυαδική μορφή. Αυτό σημαίνει ότι δεν είναι άμεσα προσβάσιμα με ερωτήματα – εντολές SQL (απαιτείται μετατροπή σε άλλες μορφές), ενώ είναι επίσης αργό σε ορισμένες περιπτώσεις, ειδικά όταν εισάγεται μεγάλος όγκος δεδομένων σε πίνακες, όπως π.χ. γενετικά δεδομένα.

PostgreSQL

Το PostgreSQL είναι ένα ελεύθερο σχεσιακό σύστημα διαχείρισης βάσεων δεδομένων, ανοιχτού κώδικα. Το PostgreSQL έχει μακρά ιστορία ανάπτυξης και έχει αποκτήσει ισχυρή φήμη για αξιοπιστία, λειτουργική πληρότητα και απόδοση. Σε σύγκριση με το Open Foris, τα κύρια οφέλη που προσφέρει είναι η καλύτερη απόδοση, η σταθερότητα και οι απεριόριστες δυνατότητες για έλεγχο χρηστών, η εκτεταμένη δυνατότητα παραμετροποίησης και η αλληλεπίδραση με διάφορες γλώσσες προγραμματισμού, π.χ. με δημοφιλείς γλώσσες για ανάλυση δεδομένων όπως η γλώσσα R και η Python. Στο πλαίσιο του έργου LIFEGENMON αναπτύχθηκε μια εφαρμογή στη γλώσσα R (*easyRprogen*) για την προβολή και ανάλυση των αποτελεσμάτων από δεδομένα ΓΠΔ (βλέπε υποκεφάλαιο 6.5.4.4 για το εργαλείο γραμμής εντολών στην R). Διαπιστώθηκε ότι προς το παρόν το μόνο μικρό πλεονέκτημα του Open Foris σε σύγκριση με το αυτόνομο PostgreSQL είναι το περιβάλλον διεπαφής χρήστη που εμπεριέχεται.

Στο μέλλον, μέσω του Open Foris θα μπορούσε να αλλαχθεί ο τρόπος αποθήκευσης των δεδομένων και μια βάση δεδομένων PostgreSQL συνδεδεμένη με το περιβάλλον εργασίας χρήστη στο Open Foris θα μπορούσε να αποτελέσει μια πολύ ελκυστική επιλογή. Ωστόσο προς το παρόν συνιστάται η χρήση μόνο του PostgreSQL και - αν είναι αναγκαία - η ανάπτυξη μιας διεπαφής χρήστη που ταιριάζει καλύτερα στις ανάγκες της ΓΠΔ.



Σχήμα. 6.5: Σχηματικό διάγραμμα του σχεδιασμού της βάσης δεδομένων. Στους πίνακες η πρώτη στήλη αντιπροσωπεύει ονόματα στηλών, η δεύτερη στήλη είναι ο επιτρεπόμενος τύπος δεδομένων, π.χ. int, NULL (αυτό το πεδίο μπορεί να παραλειφθεί κατά την εισαγωγή δεδομένων), PK - πρωτεύον κλειδί, FK - ξένο κλειδί.

6.5.3 Ανάλυση δεδομένων πεδίου

Οι πιθανοί επαληθευτές του δείκτη «επιλογή» σε ένα πληθυσμό μπορούν να αξιολογηθούν μέσω μεταβολών στα δημογραφικά στοιχεία του πληθυσμού, όπως τα ποσοστά θνησιμότητας, η αφθονία των ατόμων τα οποία προέκυψαν μέσω της φυσικής αναγέννησης, η αναλογία φύλων και η κατανομή ηλικιακών κλάσεων. Αυτοί οι δημογραφικοί παράγοντες επηρεάζονται από την αναπαραγωγική επιτυχία και την ικανότητα μιας ομάδας (cohort) να προσαρμόζεται σε καταπονήσεις όπως οι περιβαλλοντικές μεταβολές, οι ασθένειες και η βόσκηση - επομένως αντικατοπτρίζουν τις φυσικές επιλεκτικές πιέσεις που επιδρούν στον πληθυσμό. Ο δείκτης «επιλογή» μπορεί επίσης να αξιολογηθεί μέσω της φαινολογίας της ανθοφορίας. Η φαινολογία της ανθοφορίας έχει αποδειχθεί ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αρμοστικότητα αναπαραγωγής των ατόμων (Munguia-Rosas *et al.* 2011), επομένως και στις στρατηγικές προσαρμογής οι οποίες επηρεάζονται από εξελικτικές δυνάμεις (Kudo 2006).

6.5.3.1 Έλεγχος ακεραιότητας δεδομένων πεδίου

Τα δέντρα αξιολογούνται επί του πεδίου για μία πλειάδα επαληθευτών και επιπλέον πληροφοριών, όπως η θνησιμότητα, η αφθονία φυσικής αναγέννησης, η στηθαία διάμετρος και η κατανομή κλάσεων ύψους, καθώς και τα φαινολογικά μοτίβα (περιλαμβανομένης της έκπτυξης οφθαλμών, της ανθοφορίας και του φθινοπωρινού μαρασμού). Η επιτόπια αυτοψία των γνωρισμάτων αυτών παρουσιάζει προκλήσεις από την άποψη της συλλογής δεδομένων. Κατ' αρχήν τα σφάλματα παρατήρησης και πρωτοκόλλου προστίθενται στη φυσική παραλλακτικότητα των φαινοτυπικών δεδομένων λόγω της παραλλακτικότητας εντός των ειδών και των μικροκλιματικών επιδράσεων και δύνανται να προσθέσουν αβεβαιότητα μίας έως- δύο εβδομάδων στις παρατηρούμενες τιμές (Schaber και Badeck 2002). Μπορούν επίσης να οδηγήσουν σε αναληθείς παρατηρήσεις που είναι απρόσμενες για μια δεδομένη μέθοδο, όπως ασυνήθιστα υψηλές καταγραφές διαμέτρου ή ύψους δέντρου. Είναι επομένως απαραίτητο, σε πρώτη φάση, οι ερευνητές να προχωρούν με προσοχή κατά τη διεξαγωγή της ανάλυσης και της σύγκρισης δεδομένων και επίσης τα δεδομένα να ελέγχονται αυστηρά μόλις συλλεχθούν για τυχόν πιθανά σφάλματα που θα μπορούσαν να θέσουν σε κίνδυνο την ακεραιότητά τους. Ένας τρόπος για να διασφαλιστεί η ακεραιότητα πολλαπλών τύπων δεδομένων και διαφορετικών πρωτοκόλλων όπως στη περίπτωση της ΓΠΔ είναι η χρήση ενός συστήματος βάσης δεδομένων (βλέπε υποκεφάλαιο 6.5.2.1 Βάση δεδομένων LIFEGENMON).

Οι ακραίες τιμές δεδομένων (outliers) είναι παρατηρήσεις οι οποίες βρίσκονται πολύ έξω από το αναμενόμενο εύρος ή από την κατανομή των συλλεγόμενων δεδομένων. Οι ακραίες τιμές ενδέχεται να είναι δείκτες εσφαλμένης συλλογής / επισήμανσης δεδομένων και ως εκ τούτου, η παρουσία τους θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη πριν από την ανάλυση δεδομένων. Η προσεκτική αφαίρεση των ακραίων τιμών έχει αποδειχθεί ότι είναι μια αποτελεσματική μέθοδος για τη βελτίωση της αξιοπιστίας των φαινολογικών δεδομένων χρονοσειρών (Linkosalo *et al.* 1996). Σε γενικές γραμμές, ένας απλός τρόπος για την αφαίρεση των ακραίων τιμών από τα δεδομένα είναι μέσω της διάγνωσης γραφήματος με οπτικοποίηση των δεδομένων σε ένα θηκόγραμμα. Σε ένα κλασικό θηκόγραμμα οποιαδήποτε τιμή μικρότερη ή μεγαλύτερη από 1,5 φορές το ενδοτεταρτημοριακό εύρος των τιμών του δείγματος θεωρείται ως ακραία και σημειώνεται γραφικά με ένα σημείο έξω από τα όρια του θηκογράμματος. Όταν τα δεδομένα ακολουθούν κανονική κατανομή, μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί μια προσέγγιση z-τιμών. Σε αυτή την περίπτωση, οι παρατηρηθείσες τιμές μετατρέπονται σε z-τιμές:

$$z_i = \frac{x_i - \bar{x}}{s}$$

όπου z_i = κανονικοποιημένη z-τιμή, x_i = παρατηρηθείσα τιμή, \bar{x} = μέσος όρος, s = τυπική απόκλιση δείγματος.

Οι τιμές θεωρούνται ακραίες εάν η αντίστοιχη z-τιμή είναι μεγαλύτερη από ένα δεδομένο όριο, π.χ. περισσότερες από 3 τυπικές αποκλίσεις από το μέσο όρο, όπως εφαρμόστηκε από τους Gerard *et al.* (2020). Μια δοκιμή δυσαρμονίας με παρόμοια προσέγγιση η οποία επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε κανονικά δεδομένα, παρουσιάζεται από τον King (1953): ένα στατιστικό στοιχείο δοκιμής T_i υπολογίζεται συγκρίνοντας την περίσσεια μιας ακραίας παρατήρησης από την πλησιέστερη παρατήρηση στο συνολικό εύρος τιμών και εάν το T_i υπερβαίνει μια κρίσιμη τιμή (περιγράφεται λεπτομερώς από τους Barnett και Lewis 1978). Αυτή η δοκιμή εφαρμόστηκε επιτυχώς από τους Linkosalo *et al.* (1996). Η εσφαλμένη καταχώρηση του μήνα παρατήρησης (ένα σφάλμα πρωτοκόλλου εφαρμογής όπου ο μήνας παρατήρησης έχει εισαχθεί εσφαλμένα), μπορεί επίσης να εντοπιστεί αξιόπιστα, μέσω του κανόνα των καταλοίπων 30 ημερών (που ισχύει ανεξαρτήτως της κατανομής), λόγω της υψηλής απόκλισης αυτών των τιμών (Schaber και Badeck 2002). Η χρήση μίας από αυτές τις προσεγγίσεις ή ενός συνδυασμού αυτών, αναμένεται να επιτρέψει τον εντοπισμό και τη διόρθωση ή την αφαίρεση των ακραίων τιμών.

Τέλος, η εμπειρία του ερευνητή είναι επίσης ένας σημαντικός παράγοντας για το φιλτράρισμα των ακραίων τιμών οι οποίες δεν είναι ρεαλιστικές (αλλά μπορεί να εξακολουθούν να βρίσκονται εντός ενός δεδομένου προτύπου (μοντέλου) κατανομής και ως εκ τούτου να μην αφαιρεθούν μέσω της ανίχνευσης ακραίων τιμών), όπως ασυνήθιστα υψηλές διαμέτρους δέντρων για ένα δεδομένο δασοπονικό είδος. Δεδομένου ότι η φαινολογία περιγράφει φαινόμενα με φυσική και διαδοχική πρόοδο (π.χ. έκπτυξη οφθαλμών πριν από την

ανθοφορία, η οποία επίσης συμβαίνει πριν από τον φθινοπωρινό μαρασμό), τα δεδομένα θα πρέπει επιπλέον να ελέγχονται με βάση τη λογική αυτή για να διασφαλιστεί ότι η μέτρηση αυτών των μεταβλητών ακολουθεί μία εύλογη σειρά.

6.5.3.2 Ανάλυση δεδομένων πεδίου

6.5.3.2.1 Επαληθευτές

Στη ΓΠΔ, οι επαληθευτές του δείκτη «επιλογή» μετρώνται σε διάφορα χρονικά σημεία καθόλη τη διάρκεια του έτους για μια περίοδο πολλών ετών, ιδιαίτερα όσον αφορά το προχωρημένο επίπεδο ΓΠΔ. Για τους περισσότερους από τους επαληθευτές, μέσες τιμές στο επίπεδο του πληθυσμού μπορούν να υπολογιστούν για διαφορετικές χρονικές περιόδους. Σε γενικές γραμμές, οι επαληθευτές μπορούν να συγκριθούν μεταξύ ετών και πληθυσμών μέσω διάφορων παραμετρικών και μη παραμετρικών στατιστικών προσεγγίσεων, ανάλογα με τον τύπο της εξαρτημένης μεταβλητής. Για επαληθευτές, οι οποίοι είναι αριθμητικές μεταβλητές, η μέση τιμή στο επίπεδο του πληθυσμού συγκρίνεται για διαφορετικά χρονικά σημεία (έτη) χρησιμοποιώντας πρότυπα γραμμικής παλινδρόμησης ή γραμμικά πρότυπα μεικτών επιδράσεων (όπου μία τυχαία επίδραση είναι εφικτό να οριστεί, γεγονός σημαντικό όταν πραγματοποιούνται παρατηρήσεις / μετρήσεις στα ίδια αντικείμενα). Για επαληθευτές, όπου η αξιολόγηση πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας κλάσεις, είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί η διατάξιμη (ordinal) παλινδρόμηση (π.χ. πρότυπο clogit στην R όπου ορίζονται τυχαίες επιδράσεις), ή η δοκιμή Kruskal Wallis. Τα δεδομένα καταμέτρησης ακολουθούν συνήθως την κατανομή Poisson. Επομένως, για επαληθευτές καταμέτρησης δεδομένων, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση η παλινδρόμηση Poisson (γενικευμένα γραμμικά πρότυπα ή γενικευμένα πρότυπα μεικτών επιδράσεων Poisson).

6.5.3.2.1.1 Θνησιμότητα / Επιβίωση

Θεωρητικό υπόβαθρο

Η θνησιμότητα / επιβίωση αφορά τον αριθμό των δέντρων που έχουν νεκρωθεί σε σύγκριση με το επίπεδο αναφοράς (και την προηγούμενη εκτίμηση). Μια αλλαγή στη θνησιμότητα ή την επιβίωση (θνησιμότητα = 1 - επιβίωση) υποδηλώνει μια υποκείμενη πίεση επιλογής, δηλαδή αφανισμό όταν αυξάνεται η τιμή της θνησιμότητας. Ως εκ τούτου αποτελεί ένα σημαντικό δείκτη πιθανών επιλεκτικών πιέσεων που ασκούνται σε έναν πληθυσμό και οδηγούν ορισμένα άτομα σε θάνατο, καθώς τα επιζώντα δέντρα φέρουν πιθανώς κάποια προσαρμοστική απόκριση σε μια τέτοια πίεση.

Υπολογισμός

Ο ρυθμός θνησιμότητας υπολογίζεται με την ακόλουθη εξίσωση:

$$m = 1 - \left(\frac{N_1}{N_0} \right)^{1/t}$$

όπου N_0 και N_1 είναι ο αριθμός των καταμετρημένων δέντρων στην αρχή και στο τέλος αντιστοίχως του διαστήματος απογραφής και t είναι το εύρος του διαστήματος απογραφής σε έτη. Ο ρυθμός θνησιμότητας, όπως υπολογίζεται σύμφωνα με αυτήν την εξίσωση, είναι ο ετήσιος ρυθμός θνησιμότητας και είναι σταθερός, γεγονός που σημαίνει ότι ερμηνεύεται ως ο μέσος ετήσιος ρυθμός θνησιμότητας για εκείνη τη δεκαετία. Παραλείποντας τον εκθέτη, λαμβάνεται ο ρυθμός θνησιμότητας δεκαετίας.

Εάν τα αρχικά δέντρα χρειαστεί να αντικατασταθούν για λόγους διαχείρισης, η θνησιμότητα μπορεί επίσης να εκφραστεί ως ο απόλυτος αριθμός νεκρών δέντρων ανά 50 δέντρα σε περίοδο 10 ετών, υπολογιζόμενος αφαιρώντας τα εναπομείναντα ζωντανά δέντρα από τα αρχικώς επισημασμένα δέντρα:

$$\text{Θνησιμότητα} = N_0 - N_1$$

όπου N_0 είναι ο αρχικός αριθμός δέντρων και N_t είναι ο αριθμός δέντρων που παραμένουν ζωντανά. Εάν κάποιο από τα αρχικά 50 δέντρα έχει υλοτομηθεί για λόγους διαχείρισης της συστάδας, το δέντρο αντικατάστασης θα πρέπει να συμπεριληφθεί τόσο στον αρχικό αριθμό δέντρων όσο και στα εναπομείναντα δέντρα. Τα δέντρα που έχουν υλοτομηθεί στο πλαίσιο διαχειριστικών επεμβάσεων δεν θεωρούνται νεκρά δέντρα. Ο αρχικός αριθμός δέντρων σε κάθε δεκαετές διάστημα θα πρέπει να είναι 50 (βλέπε υποκεφάλαιο 3.4.2 Αντικατάσταση δένδρων).

Η διαφορά στη θνησιμότητα μεταξύ των απογραφών περιγράφεται χρησιμοποιώντας έναν δείκτη αλυσίδας και τον ρυθμό ανάπτυξης, όπου η τιμή της θνησιμότητας στην απογραφή c συγκρίνεται πάντα με τη θνησιμότητα στην απογραφή $c - 1$.

6.5.3.2.1.2 Αφθονία Φυσικής Αναγέννησης (ΦΑ)

Θεωρητικό υπόβαθρο

Μία πληθώρα φυσικών παραγόντων συμβάλλουν στη θνησιμότητα, συμπεριλαμβανομένων της γήρανσης, της βόσκησης και των ασθενειών, σε συνδυασμό με τις ανθρώπινες δραστηριότητες όπως οι υλοτομίες. Επομένως, η μακροπρόθεσμη επιβίωση μιας δασικής επιφάνειας βασίζεται στην αέναη ανανέωση των δέντρων που την απαρτίζουν μέσω της εγκατάστασης νέων φυταρίων. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί μέσω της φυσικής ή της τεχνητής αναγέννησης ή ενός συνδυασμού και των δύο. Στην τεχνητή αναγέννηση τα φυτάρια καλλιεργούνται μακριά από το δάσος, σε φυτώρια και μεταφυτεύονται στο δάσος στην κατάλληλη ηλικία. Μέσω της φυσικής αναγέννησης, το δασικό απόθεμα ανανεώνεται με δέντρα τα οποία προκύπτουν από σπέρματα που πέφτουν και βλαστάνουν *in situ*. Η αφθονία των δέντρων που προκύπτουν μέσω της φυσικής αναγέννησης είναι επομένως ενδεικτική των υποκείμενων πιέσεων επιλογής που επηρεάζουν την αναπαραγωγική επιτυχία, τα ποσοστά επιβίωσης των φυταρίων και τα ποσοστά θνησιμότητας των ενήλικων δέντρων (επηρεάζοντας το απόθεμα από το οποίο μπορούν να αναγεννηθούν τα δάση). Η αφθονία αναγέννησης ορίζεται ως ο αριθμός φυταρίων ανά μονάδα έκτασης.

Υπολογισμός

Στο βασικό επίπεδο, η αφθονία ΦΑ αξιολογείται με βάση την άποψη εμπειρογνομόνων, ως προς το εάν υπάρχει επαρκής ποσότητα ΦΑ στην επιφάνεια ΓΠΔ. Στο τυπικό και το προχωρημένο επίπεδο υπολογίζεται καταμετρώντας όλα τα φυτάρια, σε είκοσι υποεπιφάνειες του 1 m^2 μετά από διαφορετικά συμβάντα καρποφορίας, σύμφωνα με τις Κατευθυντήριες Οδηγίες για κάθε δασοπονικό είδος. Όπως και η θνησιμότητα, αυτή είναι μια αξιολόγηση σε επίπεδο πληθυσμού η οποία μπορεί να συγκριθεί ποιοτικά μεταξύ χρονικών περιόδων / ηλικιακών ομάδων πληθυσμού.

Στο βασικό επίπεδο, η μεταβολή της αφθονίας ΦΑ μεταξύ ετών περιγράφεται βάσει της άποψης εμπειρογνομόνων. Στο τυπικό επίπεδο η αφθονία ΦΑ κατά το έτος t στο αρχικό σύνολο υποεπιφανειών ΦΑ συγκρίνεται με την αφθονία κατά το έτος $t + 6$ στο δεύτερο σύνολο υποεπιφανειών ΦΑ, όταν το επόμενο αξιολογούμενο συμβάν καρποφορίας λαμβάνει χώρα έξι χρόνια μετά. Και στα δύο σύνολα υποεπιφανειών ΦΑ, ο αριθμός των φυταρίων καταμετράται ξανά έπειτα από πέντε έτη (κατά το έτος $t + 5$ για το πρώτο σύνολο και κατά το έτος $t + 11$ για το δεύτερο σύνολο). Ομοίως, η αφθονία των φυταρίων πέντε ετών συγκρίνεται μεταξύ των δύο συνόλων. Η ανάλυση αυτών των δεδομένων καταμέτρησης θα πρέπει να διεξάγεται με τη χρήση ενός προτύπου κατάλληλου για μεταβλητές διακριτής φύσης, όπως η παλινδρόμηση Poisson. Στο προχωρημένο επίπεδο, τα φυτάρια κάθε συνόλου υποεπιφανειών ΦΑ καταμετρώνται έπειτα από 10 και 15 έτη. Η ανάλυση πραγματοποιείται ομοίως με την ανάλυση στο τυπικό επίπεδο συγκρίνοντας την αφθονία ΦΑ της ίδιας ηλικίας.

6.5.3.2.1.3 Ανθοφορία

Θεωρητικό υπόβαθρο

Η φαινολογία της ανθοφορίας ορίζεται ως η μελέτη του χρονοδιαγράμματος της ανάπτυξης αρσενικών και θηλυκών ανθέων μέσω της καταγραφής των διάφορων φαινοφάσεων (Ducci *et al.* 2012). Η φαινολογία της

ανθοφορίας είναι ένας παράγοντας καίριας σημασίας, καθώς επηρεάζει την αρμοστικότητα αναπαραγωγής των δέντρων, μέσω της ανταλλαγής γονιδίων μεταξύ των γενοτύπων καθορίζοντας με αυτόν τον τρόπο τη γενετική ποικιλότητα της σποροπαραγωγής και την επιτυχία επιβίωσης των παραγόμενων φυταρίων (Alizoti *et al.* 2010).

Υπολογισμός

Μέσω τω098ν φαινολογικών παρατηρήσεων καταγράφεται η αφθονία ανθοφορίας / ποσοστό δέντρων σε ανθοφορία στο επίπεδο της συστάδας (βασικό επίπεδο ΓΠΔ) και στο επίπεδο μεμονωμένων δέντρων (τυπικό επίπεδο ΓΠΔ), καθώς και οι φάσεις ανάπτυξης (φαινοφάσεις) αρσενικών και θηλυκών ανθέων, από το στάδιο των ανθοφόρων οφθαλμών σε λήθαργο έως το στάδιο πλήρως ανεπτυγμένων ανθέων / κωνίσκων / στροβίλων (προχωρημένο επίπεδο ΓΠΔ). Τα δεδομένα χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της αφθονίας ανθοφορίας και του ποσοστού δέντρων σε ανθοφορία (βασικό και τυπικό επίπεδο ΓΠΔ). Επιπρόσθετα δεδομένα (προχωρημένο επίπεδο ΓΠΔ) χρησιμοποιούνται για την κατασκευή φαινογραμμάτων τα οποία υποδεικνύουν το χρονικό σημείο εκκίνησης, τη διάρκεια, το πέρας και τον συγχρονισμό του φαινομένου και των φαινοφάσεών του. Τα δεδομένα αναλύονται μέσω παραμετρικών ή μη-παραμετρικών στατιστικών μεθόδων με σκοπό την εκτίμηση της στατιστικής σημαντικότητας των φαινολογικών διαφορών μεταξύ μεμονωμένων δέντρων εντός ενός πληθυσμού ή μεταξύ πληθυσμών. Οποιοδήποτε λογισμικό το οποίο επιτρέπει τη διενέργεια παραμετρικών και μη-παραμετρικών στατιστικών αναλύσεων (όπως SPSS, R) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση των φαινολογικών δεδομένων ανθοφορίας

6.5.3.21.4 Καρποφορία

Θεωρητικό υπόβαθρο

Η ένταση και η περιοδικότητα της καρποφορίας μεταξύ διαδοχικών ετών πληροκαρπίας είναι ιδιαίτερες για κάθε είδος και ποικίλλουν ανάλογα με τις καιρικές συνθήκες, τη διαθεσιμότητα πόρων, την παρουσία επικονιαστών στην περίπτωση ανεμόγαμων ειδών, καθώς και τον γενετικό έλεγχο (Mund *et al.* 2010 και αναφορές εντός). Η έναρξη της καρποφορίας είναι επίσης σημαντικό στοιχείο το οποίο υποδεικνύει την αναπαραγωγική ωριμότητα του δέντρου καθώς αποτελεί ένδειξη ότι όλοι οι ενεργειακοί πόροι που μέχρι εκείνη τη στιγμή είχαν διατεθεί στην βλαστική ανάπτυξη και άμυνα, είναι πλέον διαθέσιμοι για την αναπαραγωγή (Seifert και Müller-Starck 2009).

Υπολογισμός

Οι φαινολογικές παρατηρήσεις λαμβάνουν υπόψη την περιοδικότητα και την ένταση της καρποφορίας. Τα δεδομένα συλλέγονται σε επίπεδο συστάδας (βασικό επίπεδο ΓΠΔ) και ανά δέντρο (προχωρημένο επίπεδο ΓΠΔ) και αναλύονται χρησιμοποιώντας παραμετρικές και μη παραμετρικές στατιστικές μεθόδους με σκοπό την εκτίμηση της στατιστικής σημαντικότητας των φαινολογικών διαφορών μεταξύ μεμονωμένων δέντρων εντός ενός πληθυσμού ή μεταξύ πληθυσμών. Οποιοδήποτε λογισμικό το οποίο επιτρέπει τη διενέργεια παραμετρικών και μη-παραμετρικών στατιστικών αναλύσεων (όπως SPSS, R) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση των δεδομένων καρποφορίας.

6.5.3.2.2 Επιπλέον Πληροφορίες

6.5.3.2.2.1 Νέκρωση κόμης (αφορά το φράξο, *Fraxinus excelsior*)

Θεωρητικό υπόβαθρο

Η νέκρωση της κόμης αποτελεί μία επιπλέον πληροφορία η οποία αξιολογείται μόνο στη ΓΠΔ του ευρωπαϊκού φράξου (*Fraxinus excelsior*). Ο αιτιώδης παράγοντας της νέκρωσης της κόμης στον *F. excelsior* είναι το μυκητιακό παθογόνο *Hymenoscyphus fraxineus*. Τα συμπτώματα της νόσου εμφανίστηκαν για πρώτη φορά στους ευρωπαϊκούς δασικούς πληθυσμούς του *F. excelsior* στις αρχές της δεκαετίας του 1990, οδηγώντας σε μια ευρεία επιδημία που συνεχίζεται. Η ασθένεια χαρακτηρίζεται από νεκρωτικές βλάβες στα φύλλα, τους κλαδίσκους και τους μίσχους μολυσμένων ξενιστών, που οδηγούν στο μαρασμό και την ξήρανση της κόμης (πρόσφατα ερευνητικά ευρήματα συνοψίζονται από τους Gross *et al.* 2013). Η σοβαρότητα της νέκρωσης της κόμης συνδέεται στενά

με το γενετικό δυναμικό ενός ατόμου ή πληθυσμού να μπορεί να προσδώσει ανθεκτικότητα στο μυκητιακό παθογόνο που την προκαλεί. Έχουν ταυτοποιηθεί γενετικοί δείκτες που υποδηλώνουν ότι η ανθεκτικότητα σε αυτή την ασθένεια είναι ένα πολυγονιδιακό γνώρισμα το οποίο ενδέχεται να ανταποκρίνεται καλά τόσο στη φυσική επιλογή όσο και στα προγράμματα βελτίωσης (Harper *et al.* 2016, Stocks *et al.* 2019). Επομένως, αυτό πιθανώς δημιουργεί μια πολύ ισχυρή πίεση επιλογής στους πληθυσμούς του *F. excelsior*. Η νέκρωση της κόμης του φράξου μπορεί να παρακολουθείται αποτελεσματικά τόσο μέσω οπτικής επιτόπιας παρακολούθησης των ασθενών και υγιών δέντρων, όσο και μέσω μοριακών δοκιμών για τους γενετικούς δείκτες που αναμένεται ότι συνδέονται με αυξημένη ανθεκτικότητα (Menkis *et al.* 2019).

Υπολογισμός

Αποδεικτικά στοιχεία περί επιλογής για ανθεκτικότητα στην νέκρωση της κόμης, συγκρίνονται μεταξύ των ηλικιακών ομάδων και των πληθυσμών μέσω της παρακολούθησης των ποσοστών θνησιμότητας που οφείλονται στη ξήρανση της κόμης και μέσω του του ποσοστού απώλειας της κόμης και εξάπλωσης της ασθένειας σε μη υγιή δέντρα από κάθε ηλικιακή ομάδα και πληθυσμό με την πάροδο του χρόνου.

Για την ανάλυση των δεδομένων υπολογίζονται τα ποσοστά των δέντρων σε διάφορα επίπεδα φυλλόπτωσης. Έπειτα μία ANOVA με εκ των υστέρων δοκιμή (*post hoc test*) ελάχιστων σημαντικών διαφορών, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εύρεση στατιστικά σημαντικών διαφορών στη φυλλόπτωση μεταξύ διαφορετικών χρονικών περιόδων για τους μέσους όρους κάθε επιπέδου φυλλόπτωσης.

Η ανάλυση είναι δυνατό να πραγματοποιηθεί σε λογισμικά ανάλυσης όπως το SPSS ή μέσω γλωσσών προγραμματισμού όπως R ή Python.

6.5.3.2.2 Αναλογία φύλων (μόνο δίοικα είδη)

Θεωρητικό υπόβαθρο

Η αναλογία φύλων αφορά την καταγραφή του φύλου μεμονωμένων δέντρων σε δίοικα δασοπονικά είδη. Οι αναλογίες φύλων είναι γενικά σε ισορροπία όπως αναμένεται από τον νόμο του Fisher (Fisher 1930) ή τείνουν να μεροληπτούν υπέρ των αρσενικών (Lloyd 1974, Barrett *et al.* 2010). Η οικολογική γενετική των αναλογιών φύλων συνοψίζεται από τους Barret *et al.* (2010). Οι ερευνητές διατυπώνουν την υπόθεση ότι η μεροληψία των αναλογιών φύλων υπέρ των αρσενικών οφείλεται στην άνιση δαπάνη ενεργειακών πόρων μεταξύ των φύλων, λόγω της πρωιμότερης ανάπτυξης των αρσενικών ανθέων, της αυξημένης συχνότητας ανθοφορίας των αρσενικών και των υψηλότερων ποσοστών θνησιμότητας των θηλυκών. Ωστόσο αυτό το φαινόμενο ενδέχεται να περιορίζεται καθώς ο πληθυσμός μεγαλώνει ηλικιακά και τα θηλυκά δέντρα γίνονται πιο ενεργά στην αναπαραγωγή. Η παρακολούθηση των αναλογιών φύλων στους πληθυσμούς δίοικων ειδών είναι εξαιρετικά σημαντική, λόγω του αντίκτυπου της στα αποτελεσματικά μεγέθη πληθυσμού, καθώς πληθυσμοί με άνισες αναλογίες φύλων τείνουν να έχουν χαμηλότερα αποτελεσματικά μεγέθη πληθυσμού (Wright 1938). Το ελαττωμένο αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού μπορεί με τη σειρά του να οδηγήσει σε μειωμένη ισχύ της δράσης της φυσικής επιλογής ως επακόλουθο της μείωσης του διαθέσιμου γενετικού αποθέματος, οδηγώντας σε αυξημένα ποσοστά γενετικής εκτροπής και ομομειξίας και στη συνέχεια σε απώλεια γενετικής ποικιλότητας (Charlesworth 2009). Οι μεταβολές στην αναλογία φύλων μεταξύ πληθυσμιακών ομάδων όπως τα ενήλικα άτομα και η φυσική αναγέννηση αποτελούν ένδειξη της γενετικής ικανότητας της πληθυσμιακής ομάδας να αποκρίνεται στη φυσική επιλογή και της μακροπρόθεσμης και βιωσιμότητάς της.

Υπολογισμός

Καθώς πραγματοποιούνται συγκρίσεις μεταξύ παρατηρούμενων αθροισμάτων για κάθε φύλο και αναμενόμενων τιμών (θεωρητική προσδοκία αναλογίας φύλων ή παρατηρήσεις προηγούμενων περιόδων παρακολούθησης), προτείνεται η χρήση της δοκιμής χ^2 ή της δοκιμής G.

Η λογαριθμογραμμική ανάλυση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μια πιο προχωρημένη διερεύνηση μέσω της συμπερίληψης επιπλέον δεδομένων, για τη αναζήτηση πιθανών συσχετίσεων μεταξύ της αναλογίας φύλων και άλλων βιολογικών γνωρισμάτων του πληθυσμού.

Εάν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα από άλλες τοποθεσίες (επιφάνειες), ένα γενικευμένο γραμμικό πρότυπο μεικτών επιδράσεων (GLMM) Gauss μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον ποσοτικό προσδιορισμό της χρονικής και χωρικής παραλλακτικότητας της αναλογίας φύλων, όπου η αναλογία φύλων προτυποποιείται ως συνάρτηση του έτους, των συντεταγμένων x και y ενός συστήματος γεωγραφικών συντεταγμένων και της αλληλεπίδρασή τους. Η τοποθεσία και το έτος θα πρέπει να περιλαμβάνονται ως τυχαίοι παράγοντες λόγω της μη-ανεξαρτησίας των καταμετρήσεων από την ίδια τοποθεσία και έτος.

Η διενέργεια της στατιστικής ανάλυσης μπορεί να πραγματοποιηθεί με τη χρήση λογισμικών όπως το SPSS ή οι γλώσσες προγραμματισμού R και Python.

6.5.3.2.2.3 Μέση στηθαία διάμετρος (DBH) και κατανομή κλάσεων ύψους

Θεωρητικό υπόβαθρο

Το ύψος και η στηθαία διάμετρος (DBH) είναι παράμετροι του μεγέθους των δέντρων οι οποίες είναι αντιπροσωπευτικές της ηλικίας τους. Πέραν αυτού, το μέγεθος των φυτών έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει την φαινολογία της ανθοφορίας, αν και το φαινόμενο αυτό παρατηρείται εντονότερα σε δέντρα τα οποία ανθοφορούν ετησίως (Otárola *et al.* 2013). Το μέγεθος των δέντρων μπορεί δυνητικά να λειτουργεί ως ρυθμιστής της φαινολογίας της ανθοφορίας επηρεάζοντας τη διαθεσιμότητα του φωτός και την απόκτηση πόρων (Muller-Landau *et al.* 2006), συμβάλλοντας έτσι στην ικανότητά τους να αναπαράγονται και να μεταδίδουν τη γενετική τους πληροφορία στην επόμενη γενιά. Ένα γράφημα των καμπυλών κατανομής διαμέτρων και υψών δέντρων, υποδεικνύει τις τρέχουσες και ιστορικές πιέσεις επιλογής οι οποίες επηρεάζουν τα προοδευτικά στάδια διαδοχής της κομοστέγης (Buchholz και Pickering 1978).

Υπολογισμός

Για τη απόκτηση μιας γενικής εικόνας σχετικά με τη στηθαία διάμετρο και την κατανομή των κλάσεων ύψους μεταξύ διαφορετικών χρονικών περιόδων, προτείνεται αρχικά η οπτικοποίηση των δεδομένων και η προσαρμογή μίας μη-γραμμικής εκθετικής συνάρτησης ελαχίστων τετραγώνων στις κατανομές (χρησιμοποιώντας την εντολή `nls` από το στατιστικό πακέτο “stats” της γλώσσας R) (R Core Team 2020)). Για την ποσοτική σύγκριση των κατανομών συστήνεται η χρήση της δοκιμής Anderson-Darling k -sample (ως εναλλακτική της δοκιμής Kolmogorov-Smirnov). Για τη διεξαγωγή της δοκιμής μπορεί να χρησιμοποιηθεί η εντολή `adkSampleTest` ή η εντολή `adAllPairsTest` του στατιστικού πακέτου R “PMCMRplus” για τη διεξαγωγή συγκρίσεων μεταξύ όλων των ζευγών (Pohlert 2020).

Καθώς το μέγεθος του δέντρου συσχετίζεται με διαφορετικούς επαληθευτές και περιβαλλοντικές παραμέτρους, είναι δυνατό να πραγματοποιηθούν και άλλες αναλύσεις, λαμβάνοντας υπόψη αυτούς τους συσχετισμούς. Η γραμμική παλινδρόμηση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να διαπιστωθεί εάν τα σφάλματα των μετρήσεων της στηθαίας διαμέτρου και του ύψους συσχετίζονται για παράδειγμα με τη θερμοκρασία ή τη βροχόπτωση. Μια τέτοια ανάλυση μπορεί να προσφέρει πληροφορίες για το εάν η αύξηση της θερμοκρασίας έχει αρνητική επίδραση στη μέση στηθαία διάμετρο και στο ύψος.

6.5.3.2.2.4 Έκπτυξη οφθαλμών

Θεωρητικό υπόβαθρο

Η έκπτυξη των οφθαλμών ορίζεται ως η περίοδος η οποία περιλαμβάνει όλα τα αναπτυξιακά στάδια, από το στάδιο των σε λήθαργο ευρισκομένων οφθαλμών έως το στάδιο της επιμήκυνσης των βλαστών. Δεδομένα σχετικά με το χρονικό σημείο και τη διάρκεια του φαινομένου παρέχουν χρήσιμες πληροφορίες για την καλύτερη κατανόηση της κατάστασης των δέντρων και των πληθυσμών τους, σε ένα μεταβαλλόμενο περιβάλλον. Είναι

σημαντικό να ανιχνεύονται τάσεις και πιθανοί παράγοντες (φυσικοί ή / και ανθρωπογενείς) που προκαλούν μεταβολές στο χρονοδιάγραμμα και τη διάρκεια των φαινολογικών σταδίων (χρόνος έναρξης, διάρκεια περιόδου και μέγεθος) (Beuker *et al.* 2010).

Υπολογισμός

Οι φαινολογικές παρατηρήσεις λαμβάνουν υπόψη το στάδιο της φάσης και το ποσοστό της κόμης που επηρεάζεται. Οι παρατηρήσεις πραγματοποιούνται σε 50 δέντρα μία φορά την εβδομάδα κατά τη διάρκεια της περιόδου έκπτυξης. Τα δεδομένα χρησιμοποιούνται για την κατασκευή φαινογραμμάτων που υποδεικνύουν την έναρξη, τη διάρκεια και το πέρας των φαινομένων σε επίπεδο δέντρου και αναλύονται χρησιμοποιώντας παραμετρικές και μη παραμετρικές στατιστικές μεθόδους για την αξιολόγηση της στατιστικής σημαντικότητας των φαινολογικών διαφορών μεταξύ μεμονωμένων δέντρων εντός ενός πληθυσμού ή μεταξύ πληθυσμών. Οποιοδήποτε σχετικό λογισμικό το οποίο επιτρέπει τη χρήση παραμετρικών και μη παραμετρικών στατιστικών μεθόδων (π.χ. SPSS, R) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τις αναλύσεις.

6.5.3.2.2.5 Συγχρονισμός Ανθοφορίας

Θεωρητικό υπόβαθρο

Ο συγχρονισμός της ανθοφορίας αποτελεί μέρος της φαινολογίας της ανθοφορίας. Εστιάζει στην καταγραφή των διαφορετικών φαινοφάσεων από το χρονικό σημείο της έναρξης ανάπτυξης των αρσενικών και θηλυκών ανθέων (Ducci *et al.* 2012). Ο συγχρονισμός της ανθοφορίας καταγράφεται μόνο στο προχωρημένο επίπεδο και βασίζεται στα δεδομένα τα οποία συλλέγονται για τον επαληθευτή «Ανθοφορία». Χρησιμοποιείται με σκοπό να διευκρινιστεί εάν και κατά πόσον η αρσενική και η θηλυκή ανθοφορία λαμβάνουν χώρα ταυτόχρονα εντός της παρακολουθούμενης επιφάνειας.

Υπολογισμός

Οι φαινολογικές παρατηρήσεις λαμβάνουν υπόψη τις αναπτυξιακές φάσεις (φαινοφάσεις) αρσενικών και θηλυκών ανθέων από το στάδιο των ανθοφόρων οφθαλμών σε λήθαργο έως το στάδιο πλήρως αναπτυγμένων ανθέων / κωνίσκων / στροβίλων. Τα δεδομένα χρησιμοποιούνται για την κατασκευή φαινογραμμάτων τα οποία υποδεικνύουν την έναρξη, τη διάρκεια, το πέρας και τον συγχρονισμό του φαινομένου και των διαφόρων φαινοφάσεων ανά δέντρο και αναλύονται χρησιμοποιώντας παραμετρικές και μη παραμετρικές στατιστικές μεθόδους για την αξιολόγηση της στατιστικής σημαντικότητας των φαινολογικών διαφορών μεταξύ μεμονωμένων δέντρων εντός ενός πληθυσμού ή μεταξύ πληθυσμών. Οποιοδήποτε σχετικό λογισμικό το οποίο επιτρέπει τη χρήση παραμετρικών και μη παραμετρικών στατιστικών μεθόδων (π.χ. SPSS, R) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τις αναλύσεις.

Ο συγχρονισμός της ανθοφορίας αξιολογείται με τη χρήση του δείκτη Askew (PO_o) – Δείκτης Φαινολογικής Αλληλεπικάλυψης (Askew και Blush, 1990):

$$PO_o = \sum_{j=1}^t \sum_{k=1}^t \frac{PO_{jk}}{(t(t-1))}$$

Συνολικός Δείκτης Φαινολογικής Αλληλεπικάλυψης για όλους τους συνδυασμούς σταυρογονιμοποίησης μεταξύ των υπό παρακολούθηση δέντρων ($j \neq k$)

$$PO_{jk} = \frac{\sum_{i=1}^n (s_{ijk} - \Delta_{ijk})}{\sum_{i=1}^n s_{ijk}}$$

Δείκτης Φαινολογικής Αλληλεπικάλυψης για ένα δέντρο j και ένα δέντρο k και για n παρατηρήσεις i ($j \neq k$)

$$\Delta_{ijk} = |m_{ik} - p_{ij}|$$

Η απόλυτη τιμή της διαφοράς μεταξύ m_{ik} και p_{ij} , $j \neq k$

6.5.3.2.2.6 Φθινοπωρινός μαρασμός

Θεωρητικό υπόβαθρο

Ο φθινοπωρινός μαρασμός αποτελείται από μία σειρά εκφυλιστικών συμβάντων τα οποία από κοινού περιορίζουν τις μεταβολικές δραστηριότητες και προκαλούν το θάνατο των κυττάρων, των ιστών και των οργάνων των φύλλων (Lim *et al.* 2007). Δεδομένα σχετικά με το χρονικό σημείο έναρξης και τη διάρκεια του φθινοπωρινού μαρασμού παρέχουν χρήσιμες πληροφορίες για την καλύτερη κατανόηση της κατάστασης των δέντρων και των πληθυσμών που αυτά σχηματίζουν σε ένα μεταβαλλόμενο περιβάλλον.

Υπολογισμός

Οι φαινολογικές παρατηρήσεις λαμβάνουν υπόψη το σύστημα βαθμολόγησης το οποίο προτείνεται για την αξιολόγηση του φθινοπωρινού μαρασμού, όπως το στάδιο της φάσης και το ποσοστό της κόμης που επηρεάζεται. Τα δεδομένα χρησιμοποιούνται για την κατασκευή φαινογραμμάτων τα οποία υποδεικνύουν την έναρξη, τη διάρκεια και το τέλος του φαινομένου ανά δένδρο και αναλύονται χρησιμοποιώντας παραμετρικές και μη παραμετρικές στατιστικές μεθόδους για την αξιολόγηση της στατιστικής σημαντικότητας των φαινολογικών διαφορών μεταξύ μεμονωμένων δέντρων εντός ενός πληθυσμού ή μεταξύ πληθυσμών. Οποιοδήποτε σχετικό λογισμικό το οποίο επιτρέπει τη χρήση παραμετρικών και μη παραμετρικών στατιστικών μεθόδων (π.χ. SPSS, R) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τις αναλύσεις.

6.5.4 Ανάλυση μοριακών δεδομένων

6.5.4.1 Έλεγχος ακεραιότητας μοριακών δεδομένων

Παραδοσιακά, οι ερευνητές πραγματοποιούν γενοτυπήσεις δειγμάτων εξετάζοντας μία ομάδα γονιδιακών θέσεων μικροδορυφόρων υψηλής γενετικής ποικιλότητας με σκοπό την απόκτηση επαρκούς στατιστικής ισχύος για τις κατάντι αναλύσεις. Ωστόσο, τέτοιες γονιδιακές θέσεις είναι συνδεδεμένες με υψηλότερα ποσοστά σφάλματος (Flores-Rentería και Krohn 2013), τα οποία με τη σειρά τους ενδέχεται να οδηγήσουν σε χαμηλότερη από την αναμενόμενη στατιστική ισχύ και σε μεροληψία στα συμπεράσματα (Dąbrowski *et al.* 2015).

Ένα από τα πιο συνηθισμένα ζητήματα στην γενοτύπηση μικροδορυφόρων είναι η παρουσία πολλαπλών κορυφών. Αυτές προκύπτουν ως αποτέλεσμα της ολίσθησης της πολυμεράσης και ενδέχεται να αποτελέσουν αιτία αύξησης των ποσοστών του σφάλματος, ιδιαίτερα στην περίπτωση ετεροζυγωτών με αλληλόμορφα παραπλήσιου μεγέθους (Clarke *et al.* 2001). Στο στάδιο σχεδιασμού ενός έργου, οι δείκτες τρινοκυκλεοτιδικής επανάληψης θα πρέπει να προτιμώνται από τους δινοκυκλεοτιδικούς μικροδορυφόρους καθώς οι πρώτοι γενικά εμφανίζουν αυτό το φαινόμενο σε χαμηλότερη συχνότητα (Flores-Rentería και Krohn 2013). Επιπλέον, έχει προταθεί η χρήση εκκινητών οι οποίοι περιλαμβάνουν τμήμα της μικροδορυφορικής περιοχής για τον περιορισμό του φαινομένου ολίσθησης της πολυμεράσης (Flores - Rentería και Whipple 2011). Μείωση της έντασης εμφάνισης πολλαπλών κορυφών μπορεί να επιτευχθεί με τη βελτιστοποίηση των συνθηκών και του προγράμματος εφαρμογής της PCR (για λεπτομέρειες βλέπε 6.4.2.2.2). Βέβαια ακόμη και μετά τη βελτιστοποίηση στο εργαστήριο, είναι πιθανό το φαινόμενο της ύπαρξης πολλαπλών κορυφών να παραμείνει και ενδέχεται επομένως να απαιτηθεί επανεξέταση προβληματικών δειγμάτων (Dewoody *et al.* 2006). Το λογισμικό «Micro-Checker» (Van Oosterhout *et al.* 2004) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση γονιδιακών θέσεων οι οποίες ενδεχομένως φέρουν εσφαλμένως καταγεγραμμένα αλληλόμορφα λόγω πολλαπλών κορυφών, εντοπίζοντας ελλείψεις ετεροζυγωτών με αλληλόμορφα παραπλήσιου μεγέθους.

Οι όροι «ανεπαρκής πολλαπλασιασμός του ενός από τα δύο αλληλόμορφα που οδηγεί στη μη ενίσχυση του (allelic dropout)» ή / και «κυριαρχία αλληλομόρφου μικρότερου μεγέθους (short allele dominance)» περιγράφουν την αποτυχία ενίσχυσης μέσω PCR του αλληλομόρφου με το μεγαλύτερο μέγεθος – μοριακό βάρος σε ένα δείγμα ετεροζυγώτη, για στοχαστικούς λόγους. Είναι γνωστό ότι το φαινόμενο αυτό οφείλεται: (i) στη χρήση DNA χαμηλής ποιότητας και ποσότητας (Taberlet *et al.* 1996) και (ii) στην ανταγωνιστική φύση της PCR (δηλαδή αλληλόμορφα μικρότερου μεγέθους ενισχύονται πιο αποτελεσματικά από τα μεγαλύτερα) (Gagneux *et al.* 1997). Δεδομένου ότι αυτό το πρόβλημα δεν είναι συστηματικό, ένα βήμα καθαρισμού του DNA ή / και μια επανάληψη

της αντίδρασης PCR αναμένεται να αυξήσει τις πιθανότητες ανίχνευσης μη εντοπισμένων αλληλομόρφων (Flores-Rentería και Krohn 2013). Μία ένδειξη της απώλειας αλληλομόρφων σε μία γονιδιακή θέση, είναι η παρουσία ενός μεγάλου αριθμού ομοζύγων στα άκρα του αλληλομορφικού εύρους, η οποία μπορεί να ταυτοποιηθεί με το λογισμικό «Micro-Checker» (Van Oosterhout *et al.* 2004).

Εάν παρατηρείται συστηματική αποτυχία ενίσχυσης αλληλομόρφων λόγω μεταλλάξεων στις περιοχές πρόσδεσης των εκκινητών, τότε τα αλληλόμορφα αυτά χαρακτηρίζονται ως μηδενικά (null alleles) (Oddou-Muratorio *et al.* 2009). Εκτός από τα συνηθισμένα ζητήματα που σχετίζονται με σφάλματα κατά τη γενοτύπηση, όπως μεροληψία στη εκτίμηση της γενετικής ποικιλότητας / γενετικής διαφοροποίησης, ένας σημαντικός αντίκτυπος των μηδενικών αλληλομόρφων είναι η αύξηση της πιθανότητας αποκλεισμού πραγματικών γονέων στις αναλύσεις συγγένειας (Dakin και Avise 2004). Διάφορα λογισμικά προσφέρουν τη δυνατότητα στους ερευνητές να υπολογίσουν την πιθανότητα παρουσίας και τη συχνότητα των μηδενικών αλληλομόρφων, όπως τα «generop» (Rousset 2008), «ML-NullFreq» (Kalinowski και Taper 2006), «Micro-Checker» (Van Oosterhout *et al.* 2004) και «Cervus» (Summers και Amos 1997). Ωστόσο, αποκλίσεις όσον αφορά την εκτίμηση του αριθμού ή / και της συχνότητας των μηδενικών αλληλομόρφων μεταξύ διαφορετικών προγραμμάτων λογισμικού, καθιστούν δύσκολη την εξαγωγή συμπερασμάτων. Για αυτό το λόγο, προτείνεται η αξιολόγηση βάσει πολλαπλών μεθόδων και η χρήση των διάμεσων τιμών (Dąbrowski *et al.* 2015). Στην εργασία τους, οι Nunziata *et al.* (2015) απέρριψαν από τη βιοστατιστική ανάλυση γονιδιακές θέσεις οι οποίες εμφάνισαν μηδενικά αλληλόμορφα χρησιμοποιώντας ως κριτήριο το γεγονός ότι οι μέσες τιμές γενετικής διαφοροποίησης F_{ST} μεταξύ διαφορετικών σημείων δειγματοληψίας ήταν χαμηλότερες έπειτα από την απόρριψη αυτών των γονιδιακών θέσεων.

Στοχαστικά σφάλματα γενοτύπησης ενδέχεται να προκύψουν και από ανθρώπινο σφάλμα κατά την καταγραφή των αλληλομόρφων. Ένας κατάλογος των αποκλειστικών αλληλομόρφων όπως αυτός που παρέχεται από τα λογισμικά «GenAlEx» (Peakall και Smouse 2006) και «poppr» (Kamvar *et al.* 2014) θα πρέπει να ελέγχεται σχολαστικά για ενδείξεις ύπαρξης ψευδών αλληλομόρφων τα οποία χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης.

Ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δίνεται στα αλληλόμορφα τα οποία δεν εντοπίζονται στις αναμενόμενες τιμές ζευγών βάσης σύμφωνα με το μοτίβο επανάληψης του δείκτη. Ωστόσο, αυτό το χαρακτηριστικό από μόνο του δεν αποτελεί ικανή συνθήκη για την αφαίρεσή τους, καθώς η καταγραφή αλληλομόρφων εκτός του επαναλαμβανόμενου μοτίβου μπορεί να αποτελεί μια σκόπιμη επιλογή προκειμένου να καταγραφεί με ακρίβεια η γενετική ποικιλότητα, ιδιαίτερα στην περίπτωση σύνθετων μικροδορυφόρων (π.χ. $(GT)_6(ACA)_9$) (Flores-Rentería και Krohn 2013). Η ανίχνευση αλληλομόρφων τα οποία δεν έχουν αναφερθεί προηγουμένως στη βιβλιογραφία ή / και βρίσκονται εκτός του γνωστού αλληλομορφικού εύρους θα πρέπει επίσης να αντιμετωπίζεται με προσοχή. Εάν ένα τέτοιο αλληλόμορφο εντοπίζεται πολλές φορές στο σύνολο δεδομένων, τότε δεν υπάρχει λόγος να αμφισβητηθεί η ορθότητα της ύπαρξής του. Αντίθετα, εάν αυτό το αλληλόμορφο καταγράφεται σε ένα μόνο δείγμα, συνιστάται επανάληψη της αντίδρασης PCR (Flores-Rentería και Krohn 2013).

Μια πολυμεταβλητή ανάλυση κυρίων συνιστωσών (PCA) θα μπορούσε επίσης να αποδειχθεί χρήσιμη για την αποκάλυψη σφαλμάτων καταγραφής αλληλομόρφων. Δείγματα τα οποία φαίνεται να βρίσκονται μακριά από τους αντίστοιχους πληθυσμούς τους, απαιτούν έλεγχο. Επιπλέον, με μια PCA είναι δυνατό να αποκαλυφθούν πιθανώς ψευδή αλληλόμορφα τα οποία εμφανίζονται να έχουν εξαιρετικά υψηλή επιρροή στη διαφοροποίηση των δειγμάτων. Αυτό μπορεί εύκολα να ελεγχθεί με γραφική αναπαράσταση των φορτίων των αλληλομόρφων τα οποία συνθέτουν τις πρώτες κύριες συνιστώσες μέσω του στατιστικού πακέτου R «adegenet» (Jombart 2008) με την εντολή «loadingplot».

Τέλος, σε μία πολλαπλή PCR, εάν η συγκέντρωση των προϊόντων PCR είναι αρκετές φορές υψηλότερη από το εύρος φθορισμού που συστήνει ο εκάστοτε κατασκευαστής της πλατφόρμας γενοτύπησης, τότε ελλοχεύει ο κίνδυνος φασματικής αλληλεπικάλυψης μεταξύ των φθορίζοντων μορίων (Flores-Rentería και Krohn 2013). Σε αυτήν την περίπτωση, ψευδείς κορυφές οι οποίες προέρχονται από πραγματικά αλληλόμορφα επισημασμένα με διαφορετικά φθορίζοντα μόρια ενδέχεται να είναι παρόντα στην ηλεκτροφερογράφημα, ένα φαινόμενο γνωστό στη βιβλιογραφία με τους όρους «bleedthrough» ή «pull-up». Η καταγραφή αυτών των ψευδών κορυφών ως πραγματικών αλληλομόρφων, συνεπάγεται ότι το ίδιο αλληλόμορφο καταγράφεται δύο φορές,

δημιουργώντας μια σύνδεση μεταξύ δύο αλληλομόρφων διαφορετικών γονιδιακών θέσεων. Με τη σειρά του, αυτό αναμένεται να δημιουργήσει ένα σήμα ανιχνεύσιμο ως «ψευδής ανισορροπία σύνδεσης (LD)» μεταξύ αυτών των γονιδιακών θέσεων. Επομένως, η ύπαρξη στατιστικά σημαντικής ανισορροπίας σύνδεσης θα πρέπει να διερευνάται περαιτέρω μεταξύ δεικτών με προϊόντα PCR παραπλήσιου μεγέθους τα οποία έχουν ενισχυθεί στην ίδια πολλαπλή αντίδραση.

Ως μία καλή πρακτική, οι ερευνητές θα πρέπει να εξάγουν όσο το δυνατόν περισσότερες πληροφορίες από τη δημοσιευμένη βιβλιογραφία σχετικά με την επαναληψιμότητα αποτελεσμάτων των δεικτών μεταξύ των εργαστηρίων και την παρουσία ανεπιθύμητων αλληλεπιδράσεων μεταξύ γονιδιακών θέσεων (δηλαδή την ύπαρξη αληθούς ανισορροπίας σύνδεσης) στο στάδιο προγραμματισμού ενός πειράματος. Επιπλέον, συνιστάται η επανάληψη της ανάλυσης ενός αντιπροσωπευτικού δείγματος του συνόλου δεδομένων (π.χ. 10%) με σκοπό τον έλεγχο ποιότητας των παραγόμενων αποτελεσμάτων (Dewoody *et al.* 2006). Μετά τη σύγκριση των δεδομένων, το ποσοστό σφαλμάτων θα πρέπει να εκφράζεται για κάθε γονιδιακή θέση και για όλες τις θέσεις ως:

- ποσοστό σφαλμάτων ανά αντίδραση: το ποσοστό των αντιδράσεων PCR οι οποίες απέδωσαν τουλάχιστον ένα ψευδές αλληλόμορφο συγκριτικά με τον συνολικό αριθμό αντιδράσεων, καθώς και
- ποσοστό σφαλμάτων ανά αλληλόμορφο: το ποσοστό των αλληλομόρφων τα οποία ήταν ψευδή συγκριτικά με τον συνολικό αριθμό αλληλομόρφων (Hoffman και Amos 2005).

6.5.4.2 Φιλτράρισμα μοριακών δεδομένων

Το φιλτράρισμα δεδομένων αποτελεί σημαντικό βήμα για την εξαγωγή αξιόπιστων αποτελεσμάτων από τα πρωταρχικά δεδομένα. Η χρήση φίλτρων δεδομένων είναι αναγκαία για τον περιορισμό των αρνητικών επιπτώσεων των ελλειπουσών τιμών, καθώς και για τον διαχωρισμό της συνεισφοράς διαφορετικών εξελικτικών διαδικασιών.

Στο φιλτράρισμα δεδομένων, το πρώτο βήμα είναι η εξάλειψη των γονιδιακών θέσεων με μεγάλα σύνολα ελλειπουσών τιμών (βάσει οριακής τιμής η οποία ορίζεται πριν από την έναρξη της ανάλυσης). Το δεύτερο βήμα περιλαμβάνει την απόρριψη μεμονωμένων δειγμάτων τα οποία υπερβαίνουν το προκαθορισμένο επίπεδο ποσοστού ελλειπουσών τιμών και επομένως θα πρέπει να αφαιρεθούν από όλες τις μεταγενέστερες αναλύσεις.

Ο καθορισμός μιας καθολικής τιμής απόρριψης ελλειπουσών τιμών ανά γονιδιακή θέση (π.χ. 10%) συνεπάγεται την προσδοκία ότι τα ελλείποντα δεδομένα κατανέμονται σχετικά ομοιόμορφα μεταξύ ομάδων και δειγμάτων. Αυτή η υπόθεση ωστόσο δεν θα πρέπει να λαμβάνεται ως δεδομένη όταν γεωγραφικά απομονωμένα δείγματα ή δείγματα διαφορετικής φυλογενετικής καταγωγής αναλύονται από κοινού (π.χ. δείγματα *A. alba* και *A. borisii-regis*). Σε τέτοιες περιπτώσεις υπάρχει μεγάλη πιθανότητα εμφάνισης σφάλματος μεροληπτικής ταξινόμησης. Αυτό είναι το είδος μεροληψίας το οποίο προκύπτει λόγω μεγάλης γενετικής απόστασης μεταξύ των ατόμων που χρησιμοποιήθηκαν για την εύρεση των γονιδιακών θέσεων και των δειγμάτων που γενοτυπούνται. Τα σύνολα SNP μικρού μεγέθους δείγματος είναι ιδιαίτερα επιρρεπή σε αυτόν τον τύπο μεροληψίας (Albrechtsen *et al.* 2010). Για παράδειγμα, στο σύνολο δεδομένων του έργου LIFE GENMON οι ελληνικοί πληθυσμοί (*A. borisii-regis* και *Fagus sylvatica*) εμφάνισαν χαμηλότερες τιμές γενετικής ποικιλότητας σε σύγκριση με τους αντίστοιχους της Κεντρικής Ευρώπης σύμφωνα με τα δεδομένα SNP, αν και παρουσίασαν παρόμοιες τιμές σύμφωνα με το σύνολο δεδομένων SSR. Αυτές οι αποκλίσεις μπορεί να είναι αποτέλεσμα σφάλματος μεροληπτικής ταξινόμησης, επομένως, για τέτοιου είδους πειραματικό σχεδιασμό, θα αποτελούσε πλεονέκτημα να πραγματοποιείται φιλτράρισμα σε επίπεδο πληθυσμών.

Ως ένα τρίτο βήμα, είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί ένα φιλτράρισμα βασισμένο στη συχνότητα του σπανιότερου αλληλομόρφου (MAF). Η λογική αυτού του φίλτρου είναι η εξάλειψη των μη πληροφοριακών δεικτών, αλλά και των πιθανών σφαλμάτων γενοτύπησης τα οποία οδηγούν σε λανθασμένα συμπεράσματα (Roesti *et al.* 2012). Για δείκτες SSR, ένα συνηθισμένο φίλτρο MAF που χρησιμοποιείται είναι το 5% ή το 1%, καθώς αυτοί οι δείκτες παρέχουν σχετικά λίγη πληροφορία. Ωστόσο, μπορεί να είναι χρήσιμο να παρακολουθείται η χρονική μεταβολή των αλληλομορφικών συχνοτήτων αυτών των γονιδιακών θέσεων, ειδικά εάν αυτές βρίσκονται σε σύνδεση με αλληλουχίες που εκφράζονται (EST-SSRs), καθώς αυτές οι γονιδιακές θέσεις μπορούν ενδεχομένως

να προσφέρουν μια εικόνα για την προσαρμοστική γενετική ποικιλότητα των πληθυσμών. Για την περίπτωση της γενοτύπησης γονιδιακών θέσεων SNP μέσω της πλατφόρμας KASP, το χαμηλό ποσοστό σφαλμάτων της τεχνικής σε σύγκριση με τη γενοτύπηση μέσω τεχνολογιών αλληλούχησης επόμενης γενιάς (Semagn *et al.* 2014), σημαίνει ότι η απόρριψη θέσεων με πολυμορφισμούς χαμηλής συχνότητας από όλες τις περαιτέρω αναλύσεις είναι πιθανώς υπερβολικά αυστηρή. Αυτό ισχύει ιδιαίτερα για μικρότερα σύνολα δεδομένων, όπου ένα τέτοιο φίλτρο μπορεί να οδηγήσει σε απώλεια αποκλειστικών αλληλομόρφων και να αποδυναμώσει το σήμα της ροής γονιδίων. Επομένως, προτείνεται η αφαίρεση μόνο των δεικτών στους οποίους το σπανιότερο αλληλόμορφο εμφανίζεται έως και δύο φορές στο σύνολο δεδομένων (Pluess *et al.* 2016) ή η χρήση ενός φίλτρου MAF το οποίο εφαρμόζεται στοχευμένα στις αναλύσεις που το απαιτούν (π.χ. εκτίμηση του αποτελεσματικού μεγέθους του πληθυσμού, εύρεση έκτοπων γονιδιακών θέσεων βάσει F-στατιστικών, κ.λπ.), σύμφωνα με το αντίστοιχο εγχειρίδιο του εκάστοτε λογισμικού.

Η ανισορροπία σύνδεσης (LD) είναι μία επιπλέον παράμετρος η οποία θα πρέπει να μελετάται, κατά την ανάλυση συνόλων δεδομένων μοριακών δεικτών. Η παρουσία LD μεταξύ ζευγών γονιδιακών θέσεων υποδηλώνει τη φυσική εγγύτητα αυτών των θέσεων στο γονιδίωμα (γενετική σύνδεση), αλλά ενδέχεται να εκδηλωθεί και μεταξύ μη συνδεδεμένων γονιδιακών θέσεων ως αποτέλεσμα της γενετικής εκτροπής. Η αποτυχία απόρριψης συνδεδεμένων δεικτών, οδηγεί σε λανθασμένες εκτιμήσεις παραμέτρων που εξαρτώνται από αυτό το σήμα, όπως η εκτίμηση του αποτελεσματικού μεγέθους πληθυσμού (N_e) μέσω της μεθόδου LD (Hill 1981). Διάφορα προγράμματα λογισμικού είναι διαθέσιμα για τον υπολογισμό LD, όπως το “Arlequin” (Excoffier και Lischer 2010) και το στατιστικό πακέτο της R “rpprr” (Kamvar *et al.* 2014). Επειδή κατά τη δοκιμή αυτή ελέγχονται πολλαπλές υποθέσεις, η πιθανότητα εσφαλμένης ανίχνευσης LD μεταξύ ενός ζεύγους γονιδιακών θέσεων είναι υψηλή. Ως εκ τούτου, είναι απαραίτητη η εφαρμογή διόρθωσης για τη διενέργεια πολλαπλών ελέγχων. Για δεδομένα SSR, αυτό επιτυγχάνεται συνήθως χρησιμοποιώντας τη διαδοχική (sequential) διόρθωση Bonferroni (Rice 1989). Για σύνολα δεδομένων SNP, η διαδοχική διόρθωση Bonferroni ενδέχεται να είναι πολύ αυστηρή και αντ’ αυτού χρησιμοποιείται η διόρθωση του ρυθμού ψευδών ανακαλύψεων (False Discovery Rate, FDR) (Benjamini και Hochberg 1995). Το πακέτο “multcomp” (Hothorn *et al.* 2008) είναι διαθέσιμο στη γλώσσα προγραμματισμού R για αυτούς τους υπολογισμούς.

Ο υπολογισμός των περιγραφικών στατιστικών ενός συνόλου δεδομένων που ενδεχομένως περιέχει γονιδιακές θέσεις οι οποίες βρίσκονται υπό την επιρροή της φυσικής επιλογής, ενδέχεται να αποκρύψει το σήμα των δημογραφικών διαδικασιών. Για αυτόν τον λόγο, συνιστάται η αφαίρεση των γονιδιακών θέσεων για τις οποίες υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι εμφανίζουν προσαρμοστικούς πολυμορφισμούς, όταν διερευνάται η δημογραφία. Αυτές οι γονιδιακές θέσεις εμφανίζουν ακραίες τιμές F_{ST} και αναμένεται να είναι ανιχνεύσιμες με μία - ή κατά προτίμηση περισσότερες - μεθόδους ανίχνευσης γονιδιακών θέσεων με ακραίες τιμές F_{ST} (έκτοπες γονιδιακές θέσεις) (ανατρέξτε στην ενότητα «Ανίχνευση έκτοπων γονιδιακών θέσεων βάσει F-στατιστικών» για περισσότερες λεπτομέρειες).

Η παρουσία μηδενικών αλληλομόρφων είναι δυνατό να επηρεάσει τον υπολογισμό των περιγραφικών στατιστικών ενός συνόλου δεδομένων το οποίο περιέχει πολλαπλά μηδενικά αλληλόμορφα σε υψηλή συχνότητα. Η παρουσία μηδενικών αλληλομόρφων μπορεί να ελεγχθεί από διάφορα λογισμικά (π.χ. Micro-checker (Van Oosterhout *et al.* 2004), CERVUS (Kalinowski *et al.* 2007), R στατιστικό πακέτο PopGeneReport (Adamack και Gruber 2014) κ.α.). Εάν η συχνότητα μηδενικών αλληλομόρφων είναι πολύ υψηλή συνιστάται η αφαίρεση των συγκεκριμένων γονιδιακών θέσεων από περαιτέρω ανάλυση (Charpuis *et al.* 2008, Belletti *et al.* 2012).

6.5.4.2.1 Φιλτράρισμα δεδομένων SNP

Για τα σύνολα SNP τα οποία παρήχθησαν στο πλαίσιο του έργου LIFEGENMON, η επεξεργασία των δεδομένων σχετικά με την απομάκρυνση ελλειπουσών τιμών ακολούθησε παρόμοια μεθοδολογία με αυτές που περιγράφονται σε εργασίες της διεθνούς βιβλιογραφίας (Csilléry *et al.* 2020, Heer *et al.* 2018).

6.5.4.3 Ανάλυση μοριακών δεδομένων

6.5.4.3.1 ΕΠΑΛΗΘΕΥΤΕΣ

6.5.4.3.1.1 Συχνότητα Αλληλομόρφων

Θεωρητικό υπόβαθρο

Οι γονιδιακές θέσεις και τα αλληλόμορφα αποτελούν τις βασικές μονάδες που καταγράφονται στην επιστήμη της γενετικής των πληθυσμών. Μία γονιδιακή θέση είναι μια ξεχωριστή γενετική ενότητα, όπως ένα ολόκληρο γονίδιο, ένα ζεύγος βάσης νουκλεοτιδίων (A-T και C-G) ή μια σειρά νουκλεοτιδίων. Για κάθε γονιδιακή θέση μπορεί να υπάρχουν πολλές παραλλαγές, γνωστές ως αλληλόμορφα. Οι απλοί νουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNP) αποτελούν αντικαταστάσεις ενός μόνο νουκλεοτιδίου σε μια συγκεκριμένη θέση στο γονιδίωμα. Επομένως σε έναν διπλοειδή οργανισμό, μία γονιδιακή θέση SNP μπορεί είτε να περιέχει δύο αντίγραφα του ίδιου αλληλομόρφου κάνοντας αυτή τη θέση μονομορφική, είτε δύο διαφορετικά αλληλόμορφα οπότε και η θέση χαρακτηρίζεται ως πολυμορφική. Οι απλές επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες (SSR, επίσης γνωστές ως μικροδορυφόροι) είναι σύνολα επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών DNA σε μία γονιδιακή θέση ενός χρωμοσώματος. Είναι επομένως εφικτό να περιέχουν πολλαπλές αντικαταστάσεις και περισσότερα από δύο αλληλόμορφα.

Η ποικιλότητα των αλληλομόρφων βάσει πολλαπλών γονιδιακών θέσεων διαχωρίζει τα άτομα και τους πληθυσμούς μεταξύ τους σε γενετική βάση και αποτελεί τον θεμέλιο λίθο για όλα τα επόμενα στατιστικά που μελετώνται στη γενετική πληθυσμών. Η συχνότητα αλληλομόρφων είναι απλώς η σχετική συχνότητα των χρωμοσωμάτων τα οποία φέρουν ένα συγκεκριμένο αλληλόμορφο σε όλα τα άτομα ενός πληθυσμού. Αυτή η παράμετρος υπολογίζεται από τη συχνότητα των παρατηρούμενων γενοτύπων εντός ενός πληθυσμού.

Υπολογισμός

Λαμβάνοντας υπόψη ένα δείκτη SNP ενός πληθυσμού διπλοειδών ατόμων με αλληλόμορφα B και b, οι γενοτυπικές συχνότητες αντιπροσωπεύονται ως BB (ομοζυγώτες B), bb (ομοζυγώτες b) και Bb (ετεροζυγώτες). Η συχνότητα των αλληλομόρφων υπολογίζεται ως εξής:

$$p = f(BB) + \frac{1}{2}f(Bb)$$

$$q = f(bb) + \frac{1}{2}f(Bb)$$

$$p + q = 1$$

Όπου:

$f(BB)$, $f(Bb)$, $f(bb)$: γενοτυπικές συχνότητες, p : συχνότητα του αλληλομόρφου B, q : συχνότητα του αλληλομόρφου b.

6.5.4.3.1.2 Αλληλομορφικός πλούτος

Θεωρητικό υπόβαθρο

Ο αριθμός των αλληλομόρφων (A) και ο αλληλομορφικός πλούτος (A_r) είναι αντιπροσωπευτικοί του ποσοστού ποικιλότητας εντός ενός πληθυσμού. Πρόκειται για σημαντικές παραμέτρους στο πλαίσιο της μακροπρόθεσμης προστασίας των δασικών πόρων, καθώς πληθυσμοί που εμπεριέχουν υψηλότερα επίπεδα γενετικής ποικιλότητας αναμένεται να είναι πιο ικανοί να ανταποκριθούν στις πιέσεις επιλογής και να διατηρήσουν την ευρωστία τους (Petit *et al.* 2008). Ο A_r μπορεί επίσης να είναι ένας χρήσιμος δείκτης παρελθοντικών περιπτώσεων γενετικών στενωπών ή περιορισμού του μεγέθους ενός πληθυσμού (Nei *et al.* 1975).

Η τιμή του αριθμού αλληλομόρφων A ενός πληθυσμού εξαρτάται από το μέγεθος του δείγματος, καθώς μία πιο εκτεταμένη δειγματοληψία αυξάνει την πιθανότητα εύρεσης νέων αλληλομόρφων. Ως εκ τούτου, ο A_r χρησιμοποιείται ως ειδική περίπτωση του A η οποία διορθώνεται για διαφορές μεγέθους δείγματος μεταξύ των πληθυσμών μέσω της μεθόδου καμπυλών κορεσμού (rarefaction) (Kalinowski 2004).

Ο αποτελεσματικός αριθμός αλληλομόρφων (A_e) αντιπροσωπεύει την πραγματική γενετική ποικιλότητα που εντοπίζεται εντός ενός πληθυσμού. Ο A_e ορίζεται ως ο αριθμός των αλληλομόρφων ίσης συχνότητας που αναμένονται σε κάθε γονιδιακή θέση υπό την προϋπόθεση ότι ο πληθυσμός βρίσκεται σε ισορροπία Hardy-Weinberg (H-W). Συνεπώς, σχετίζεται στενά με την αναμενόμενη ετεροζυγωτία ενός πληθυσμού (H_e), η οποία αναφέρεται επίσης ως «Γενετική Ποικιλότητα κατά Nei, D » ή ως «γονιδιακή ποικιλότητα, v ». Ο A_e αποτελεί μια ειδική περίπτωση του A_r όπως ορίζεται από τον Kalinowski (2004). Όπως ο A_e , η H_e υποδηλώνει το ποσοστό των ετεροζυγωτών που αναμένονται υπό συνθήκες ισορροπίας H-W και μπορεί να υπολογιστεί με βάση αυτές τις αρχές. Ο A_e είναι συχνά πολύ χαμηλότερος από τον A , όταν οι συχνότητες αλληλομόρφων είναι άνισες. Τα αλληλόμορφα με χαμηλές συχνότητες συμβάλλουν ελάχιστα στον A_e . Αυτό οφείλεται συχνά σε πολλά χαρακτηριστικά του πληθυσμού, όπως τα κυμαινόμενα μεγέθη πληθυσμού από γενιά σε γενιά, οι αλληλεπικαλυπτόμενες γενιές, οι μη τυχαίες συζεύξεις (εγγενής επιλογή κ.λπ.), οι άνισες αναλογίες φύλων και η μη-οφειλόμενη σε τυχαίους παράγοντες αναπαραγωγική επιτυχία.

Υπολογισμοί

Αριθμός αλληλομόρφων (A)

$$A = \left(\frac{1}{I}\right) A_i = \frac{\sum_{i=1}^I A_i}{I}$$

Αριθμός αλληλομόρφων (A)

$$A_p = \sum_{i=1}^I A_{pi}$$

Αριθμός αποκλειστικών αλληλομόρφων (A_p)

Όπου

A : ο μέσος αριθμός αλληλομόρφων ανά γονιδιακή θέση, A_i : ο αριθμός των αλληλομόρφων σε μια συγκεκριμένη γονιδιακή θέση, A_p : ο αριθμός των αποκλειστικών αλληλομόρφων σε έναν πληθυσμό, A_{pi} : ο αριθμός των αποκλειστικών αλληλομόρφων που εντοπίστηκαν σε έναν πληθυσμό για μία συγκεκριμένη γονιδιακή θέση, I : ο συνολικός αριθμός των εξεταζόμενων γονιδιακών θέσεων, i : μία συγκεκριμένη γονιδιακή θέση.

Αλληλομορφικός πλούτος (A_r και pA_r)

$$N_j = \sum N_{gj}$$

Μέγεθος δείγματος πληθυσμού j στη θέση i

$$Q_{gjG} = \frac{\binom{N_j - N_{gj}}{G}}{\binom{N_j}{G}}$$

Πιθανότητα μη-εύρεσης αλληλομόρφων τύπου g σε μέγεθος δείγματος G από τον πληθυσμό j

$$P_{gjG} = 1 - Q_{gjG}$$

Πιθανότητα εύρεσης τουλάχιστον ενός αλληλομόρφου τύπου g σε μέγεθος δείγματος G από τον πληθυσμό j

$$A_{ri} = \sum_{g=1}^G P_{gjG}$$

Εκτιμώμενος αλληλομορφικός πλούτος της θέσης i σε μέγεθος δείγματος G από τον πληθυσμό j

$$A_r = \frac{\sum_{i=1}^I A_{ri}}{I}$$

Μέσος αλληλομορφικός πλούτος βάσει όλων των γονιδιακών θέσεων

$$pA_{ri} = \sum_{g=1}^G \left[P_{gjG} (\prod_{j'=1, j' \neq j}^J Q_{gj'G}) \right]$$

Εκτιμώμενος αλληλομορφικός πλούτος αποκλειστικών αλληλομόρφων στη γονιδιακή θέση i σε μέγεθος δείγματος G από τον πληθυσμό j

$$pA_r = \frac{\sum_{i=1}^I pA_{ri}}{I}$$

Μέσος αλληλομορφικός πλούτος αποκλειστικών αλληλομόρφων βάσει όλων των γονιδιακών θέσεων

Όπου

N_j : μέγεθος δείγματος του πληθυσμού j στη γονιδιακή θέση i , N_{gj} : αριθμός αντιγράφων του αλληλομόρφου g στη γονιδιακή θέση i ενός ατόμου (δείγματος) από τον πληθυσμό j , g = ένα συγκεκριμένο αλληλόμορφο της γονιδιακής θέσης i , G = ένα υποσύνολο των εξεταζόμενων αλληλομόρφων στη γονιδιακή θέση i του πληθυσμού j , I : συνολικός αριθμός των εξεταζόμενων γονιδιακών θέσεων, i : μία συγκεκριμένη γονιδιακή θέση, Q_{gjG} : πιθανότητα μη-ανίχνευσης αλληλομόρφων g τύπου σε μέγεθος δείγματος G του πληθυσμού j , P_{gjG} : πιθανότητα ανίχνευσης τουλάχιστον ενός αλληλομόρφου g τύπου σε μέγεθος πληθυσμού G του πληθυσμού j , A_{ri} : εκτιμώμενος αλληλομορφικός πλούτος στη γονιδιακή θέση i σε μέγεθος πληθυσμού G του πληθυσμού j , A_r : ο μέσος αλληλομορφικός πλούτος βάσει όλων των γονιδιακών θέσεων του πληθυσμού j , pA_{ri} : εκτιμώμενος πλούτος αποκλειστικών αλληλομόρφων στη γονιδιακή θέση i σε μέγεθος δείγματος G του πληθυσμού j , pA_r : μέσος πλούτος αποκλειστικών αλληλομόρφων βάσει όλων των γονιδιακών θέσεων στον πληθυσμό j .

Αποτελεσματικός αριθμός αλληλομόρφων (A_e)

Ο A_e βάσει όλων των γονιδιακών θέσεων σε έναν πληθυσμό υπολογίζεται ως ο αριθμητικός μέσος όρος των μεμονωμένων τιμών για κάθε γονιδιακή θέση. Επειδή ο A_e σχηματίζει μία μη γραμμική σχέση με την αναμενόμενη ετεροζυγωτία, θα πρέπει να υπολογίζεται από τις μεμονωμένες τιμές αναμενόμενης ετεροζυγωτίας για κάθε δείκτη και όχι από το συνολικό μέσο όρο.

$$H_o = \frac{\sum f(Bb)}{I}$$

Παρατηρούμενη ετεροζυγωτία (H_o)

Για γονιδιακές θέσεις με 2 αλληλόμορφα

$$He_i = 1 - p^2 - q^2 = 2pq$$

Αναμενόμενη ετεροζυγωτία ανά γονιδιακή θέση (He_i)

Για γονιδιακές θέσεις με 2 ή >2 αλληλόμορφα

$$He_i = 1 - \sum p_i^2$$

Αναμενόμενη ετεροζυγωτία ανά γονιδιακή θέση (He_i)

$$He = \frac{\sum_i He_i}{I}$$

Αναμενόμενη ετεροζυγωτία (He)

$$Ae_i = \frac{1}{(1/He_i)} = \frac{1}{\sum p_i^2}$$

Αποτελεσματικός αριθμός αλληλομόρφων ανά γονιδιακή θέση (Ae_i)

Όπου

H_o : μέση παρατηρούμενη ετεροζυγωτία, He_i : αναμενόμενη ετεροζυγωτία για μία συγκεκριμένη γονιδιακή θέση, He : μέση αναμενόμενη ετεροζυγωτία, Ae_i : αποτελεσματικός αριθμός αλληλομόρφων για μία συγκεκριμένη γονιδιακή θέση, Ae : αριθμητικός μέσος όρος του αποτελεσματικού αριθμού αλληλομόρφων βάσει όλων των γονιδιακών θέσεων ενός πληθυσμού, I : συνολικός αριθμός των εξεταζόμενων γονιδιακών θέσεων, i : μία συγκεκριμένη γονιδιακή θέση.

6.5.4.3.1.3 Αποτελεσματικό Μέγεθος Πληθυσμού (N_e)

Θεωρητικό υπόβαθρο

Το αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού (N_e) είναι μια έννοια που στοχεύει στην εκτίμηση της έντασης της γενετικής εκτροπής που λαμβάνει χώρα σε έναν πληθυσμό, μια δεδομένη στιγμή. Ορίζεται ως το μέγεθος ενός εξιδανικευμένου πληθυσμού (σε ισορροπία H-W) το οποίο αναμένεται να απωλέσει ετεροζυγωτία από τη μία γενιά στην επόμενη με τον ίδιο ρυθμό συγκριτικά με τον παρατηρούμενο πληθυσμό. Ουσιαστικά είναι ο αριθμός των ατόμων που θα συνεισφέρουν γενετική ποικιλότητα στην επόμενη γενιά. Οι πληθυσμοί αντιμετωπίζουν συχνά δραματικές διακυμάνσεις στο μέγεθος τους μεταξύ δύο γενεών (γενετικές στενωποί). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία γενετικής εκτροπής, υψηλότερης από τα αναμενόμενα σύμφωνα με το απογραφικό μέγεθος του πληθυσμού. Το N_e επηρεάζεται επίσης από: την ύπαρξη αλληλεπικαλυπτόμενων γενεών, τη χωρική κατανομή των ατόμων, τα μεταβλητά ποσοστά μεταξύ των φύλων και την υψηλή παραλλακτικότητα του αριθμού απογόνων ανά οικογένεια από ελεύθερη επικοινωνία (απόγονοι κάθε μητρικού δένδρου), με αποτέλεσμα μια κατανομή η οποία δεν ομοιάζει στην κατανομή Poisson.

Υπολογισμός

Ένας σχετικά απλός τρόπος για την κατανόηση του N_e είναι μέσω του υπολογισμού του αρμονικού μέσου όρου του απογραφικού μεγέθους σε όλες τις γενεές που μελετώνται. Ο αρμονικός μέσος χρησιμοποιείται επειδή είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος στις μικρότερες τιμές ενός συνόλου δεδομένων και επομένως αντικατοπτρίζει καλύτερα μικρότερους πληθυσμούς του παρελθόντος σε σχέση με τον αριθμητικό μέσο. Ο υπολογισμός λαμβάνει υπόψη τα κυμαινόμενα μεγέθη του πληθυσμού και μπορεί να δώσει μια εκτίμηση για το N_e κατάλληλη για χρήση στο πλαίσιο της μακροχρόνιας γενετικής παρακολούθησης όπου το N_e υπολογίζεται εύκολα από δημογραφικά δεδομένα.

$$N_e = \frac{1}{\frac{1}{T} \sum_{t=1}^T \frac{1}{N_t}} \quad \text{Αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού (N_e)}$$

Ή

$$N_e = \frac{1}{\left(\sum_{t=1}^T \frac{1}{N_t} \right) / T} \quad \text{Αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού (N_e)}$$

Όπου

N_e : αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού, T : συνολικός αριθμός των γενεών που εξετάστηκαν, t : μια συγκεκριμένη γενιά, N_t : απογραφικό μέγεθος του πληθυσμού στη γενιά t .

6.5.4.3.1.4 Λανθάνον Γενετικό Δυναμικό (LGP)

Θεωρητικό υπόβαθρο

Το λανθάνον γενετικό δυναμικό (LGP) ορίστηκε για πρώτη φορά από τους Bergmann *et al.* (1990) με σκοπό τη διάκριση μεταξύ της φυσιολογικής και της εξελικτικής προσαρμοστικής ικανότητας ενός πληθυσμού. Οι ερευνητές περιγράφουν το «λειτουργικό γενετικό δυναμικό» ως το τμήμα της γενετικής ποικιλότητας που εγγυάται την επιβίωση του πληθυσμού υπό τις τρέχουσες συνθήκες, όμοια με τον αποτελεσματικό αριθμό αλληλομόρφων (A_e). Η εναπομένουσα γενετική ποικιλότητα σε αυτό το πλαίσιο είναι προς το παρόν «λανθάνουσα». Αυτό το τμήμα της γενετικής ποικιλότητας σχετίζεται με αλληλόμορφα χαμηλής συχνότητας, τα οποία όμως δύνανται να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην προσαρμογή και την εξέλιξη των πληθυσμών υπό το πρίσμα μεταβαλλόμενων περιβαλλοντικών συνθηκών. Το γεγονός αυτό με τη σειρά του θα μπορούσε να έχει μεγάλη σημασία για τις πρακτικές προστάσεις των δασών (Aravanopoulos 2016). Το LGP αντιπροσωπεύει επομένως την προσαρμοστική ικανότητα ενός πληθυσμού, καθώς αντικατοπτρίζει τη διαφορά μεταξύ του παρατηρούμενου και

του αναμενόμενου αριθμού αλληλομόρφων σε έναν πληθυσμό βάσει όλων των (παρατηρούμενων) γονιδιακών θέσεων.

Το *LGP* έχει χρησιμοποιηθεί για να συναγάγει τόσο τη δυνατότητα των πληθυσμών να προσαρμόζονται σε μεταβαλλόμενες συνθήκες, όσο και τις αρνητικές επιπτώσεις των καταπονήσεων σε αυτούς. Για παράδειγμα, η αραιώση στη συστάδα έχει αποδειχθεί ότι μειώνει τόσο το *LGP* όσο και την υποθετική γαμετική ποικιλότητα σε πολλαπλές γονιδιακές θέσεις (V_{gam}) των πληθυσμών (Rajora *et al.* 2000), όπως και ο κατακερματισμός των ενδαιτημάτων (O'Connell *et al.* 2006). Το *LGP* έχει επίσης δειχθεί ότι είναι κατάλληλο για χρήση και για τις περιπτώσεις άλλων καταπονήσεων σε φυσικούς πληθυσμούς, όπως π.χ. οι δασικές πυρκαγιές (Rajora και Pluhar 2003).

Υπολογισμός

$$He_i = 1 - \sum p_i^2$$

Αναμενόμενη ετεροζυγωτία ανά γονιδιακή θέση (He)

$$Ae_i = \frac{1}{(1/He_i)} = \frac{1}{\sum p_i^2}$$

Αποτελεσματικός αριθμός αλληλομόρφων ανά γονιδιακή θέση (Ae)

$$LGP = \sum_i^I A_i - Ae_i$$

Λανθάνον γενετικό δυναμικό (*LGP*)

Όπου

He_i : αναμενόμενη ετεροζυγωτία για μία συγκεκριμένη γονιδιακή θέση, Ae_i : αποτελεσματικός αριθμός αλληλομόρφων για μία συγκεκριμένη γονιδιακή θέση, A_i : αριθμός των αλληλομόρφων τα οποία παρατηρήθηκαν για μία συγκεκριμένη γονιδιακή θέση, *LPG*: λανθάνον γενετικό δυναμικό για έναν πληθυσμό, p_i : συχνότητα αλληλομόρφων ενός αλληλομόρφου σε μια συγκεκριμένη γονιδιακή θέση, I : συνολικός αριθμός γονιδιακών θέσεων σε έναν πληθυσμό, i : ένα συγκεκριμένο αλληλόμορφο.

6.5.4.3.1.5 Συντελεστής ομομειξίας (F_{IS})

Θεωρητικό υπόβαθρο

Ο συντελεστής ομομειξίας είναι μια παράμετρος που ανήκει στην κατηγορία των στατιστικών με το συντελεστή F που χρησιμοποιούνται για να εκτιμηθεί η μεταβολή της ετεροζυγωτίας όταν υφίσταται ιεραρχική πληθυσμιακή δομή. Υποδεικνύει το έλλειμμα ετεροζυγωτίας σε έναν πληθυσμό, δηλαδή την τιμή της ετεροζυγωτίας που παρατηρείται στον πληθυσμό έναντι της αναμενόμενης τιμής σύμφωνα με το θεώρημα ισορροπίας Hardy-Weinberg. Ο συντελεστής F μπορεί να υπολογιστεί σε διάφορα επίπεδα πληθυσμιακής οργάνωσης (π.χ. συνολικός πληθυσμός, υποπληθυσμοί) και να κατατμηθεί για να ληφθεί υπόψη η ετεροζυγωτία σε διάφορα επίπεδα δομής του πληθυσμού και σε διαφορετικές κατευθύνουσες πιέσεις. Τα δύο πιο συχνά χρησιμοποιούμενα στατιστικά είναι ο συντελεστής ομομειξίας (F_{IS}) και ο συντελεστής εγκαθίδρυσης (F_{ST}), που αντιπροσωπεύουν, ο πρώτος το έλλειμμα ετεροζυγωτίας το οποίο παρατηρείται σε έναν υποπληθυσμό και αποδίδεται στη δράση της ομομειξίας και ο δεύτερος το έλλειμμα ετεροζυγωτίας ενός ατόμου σε σχέση με το συνολικό πληθυσμό το οποίο αποδίδεται στο φαινόμενο Wahlund (το φαινόμενο κατά το οποίο η μίξη πληθυσμών οδηγεί σε αύξηση ετεροζυγωτίας ή μείωση της ομοζυγωτίας). Ο συντελεστής ομομειξίας F_{IS} ειδικά μπορεί να θεωρηθεί ως η συσχέτιση μεταξύ μη τυχαίας και τυχαίας ένωσης γαμετών του υποπληθυσμού για το σχηματισμό ζυγώτη.

Υπολογισμός

Για τον υπολογισμό των στατιστικών με το συντελεστή F , προηγείται ο υπολογισμός της παρατηρούμενης και της αναμενόμενης ετεροζυγωτίας του πληθυσμού. Παρουσιάζεται ως ο μέσος όρος όλων των γονιδιακών θέσεων του πληθυσμού.

$$Ho_i = f(Bb) \quad \text{Παρατηρούμενη ετεροζυγωτία (Ho)}$$

$$He_i = 1 - \sum p_i^2 \quad \text{Αναμενόμενη ετεροζυγωτία (He)}$$

$$F = \sum_{i=1}^I \frac{Ho_i}{He_i} / I \quad \text{Συντελεστής } F \text{ υποπληθυσμού}$$

$$F_{IS} = \sum_{i=1}^I \frac{He_i - Ho_i}{He_i} / I \quad \text{Συντελεστής ομομειξίας (F_{IS})}$$

Όπου

Ho_i : παρατηρούμενη ετεροζυγωτία μίας συγκεκριμένης γονιδιακή θέσης, He_i : αναμενόμενη ετεροζυγωτία μίας συγκεκριμένης γονιδιακή θέσης, F : συντελεστής F για έναν υποπληθυσμό, F_{IS} : συντελεστής ομομειξίας για έναν πληθυσμό, I : συνολικός αριθμός των εξεταζόμενων γονιδιακών θέσεων, i : μία συγκεκριμένη γονιδιακή θέση, p_i : συχνότητα αλληλομόρφων σε μια συγκεκριμένη γονιδιακή θέση.

6.5.4.3.1.6 Ανισορροπία Σύνδεσης

Θεωρητικό υπόβαθρο

Η ανισορροπία σύνδεσης (linkage disequilibrium, LD) ορίζεται ως η μη τυχαία συσχέτιση αλληλομόρφων διαφορετικών γονιδιακών θέσεων σε ένα πληθυσμό (Weir 1979). Υπό συνθήκες ισορροπίας σύνδεσης (linkage equilibrium, LE) τα αλληλόμορφα αναμένεται να συσχετίζονται τυχαία. Η LD μπορεί να υπολογιστεί τόσο συνολικά για όλες τις γονιδιακές θέσεις εντός ενός πληθυσμού, όσο και σε ευρεία κλίμακα (για πολλούς πληθυσμούς) και ανά ζεύγος γονιδιακών θέσεων. Η LD μεταξύ μπορεί να επηρεαστεί από τη δράση διάφορων εξελικτικών δυνάμεων, περιλαμβανομένης της επιλογής, της ροής γονιδίων, της γενετικής εκτροπής και των μεταλλάξεων, καθώς και δημογραφικών ιδιοτήτων όπως η πληθυσμιακή δομή, η βλαστική αναπαραγωγή, οι γενετικές στενωπές και η ομομειξία. Αν και υπό συνθήκες απουσίας δράσης των εξελικτικών δυνάμεων οι γονιδιακές θέσεις αναμένεται να φθάσουν σε LE , οι τυπικές επιδράσεις των δυνάμεων αυτών, επιτρέπουν τη δημιουργία και παραμονή της LD σε ένα πληθυσμό, όπως περιγράφεται και από την ανασκόπηση του Slatkin (2008). Η εκτίμηση της LD μεταξύ γονιδιακών θέσεων για πολλαπλούς πληθυσμούς μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη διαδικασία απόρριψης δεικτών πριν τον υπολογισμό των περιγραφικών στατιστικών.

Υπολογισμός

Όταν εξετάζονται πολλαπλές γονιδιακές θέσεις, αυτή η παράμετρος μπορεί να συνοψιστεί με ένα μόνο στατιστικό που ονομάζεται δείκτης συσχέτισης (I_d). Λόγω του τρόπου προσδιορισμού των V_o και V_e (παράμετροι ζευγών αποστάσεων μεταξύ γονιδιακών θέσεων στην ανισορροπία σύνδεσης), ο I_d είναι ευαίσθητος στον παρατηρούμενο αριθμό γονιδιακών θέσεων. Οι Agarow και Burt (2001) βελτίωσαν αυτή τη μέθοδο, παρουσιάζοντας το αμερόληπτο (σχετικά με τον αριθμό γονιδιακών θέσεων) στατιστικό συσχέτισης (d).

$$V_o = \sum var_{i^1} + 2 \sum \sum cov_{i^1, i^2} \quad \text{Παρατηρούμενη διακύμανση ζευγών αποστάσεων μεταξύ γονιδιακών θέσεων (V_o)}$$

$$V_e = \sum var_i \quad \text{Αναμενόμενη διακύμανση ζευγών αποστάσεων γονιδιακών θέσεων (V_e)}$$

$$I_A = \frac{V_o}{V_e} - 1 \quad \text{Δείκτης συσχέτισης (I_A)}$$

$$\bar{r}_d = \frac{\sum \sum cov_{i^1, i^2}}{\sum \sum \sqrt{var_{i^1} \cdot var_{i^2}}} \quad \text{Αμερόληπτος δείκτης συσχέτισης (r_d)}$$

Όπου

I_A : δείκτης συσχέτισης μεταξύ πολλαπλών γονιδιακών θέσεων σε έναν πληθυσμό, V_e : αναμενόμενη διακύμανση των ζευγών αποστάσεων μεταξύ γονιδιακών θέσεων στην ανισορροπία σύνδεσης, V_o : παρατηρούμενη μεταβολή των αποστάσεων κατά ζεύγη μεταξύ των γονιδιακών θέσεων, i : μία συγκεκριμένη θέση, i^1 / i^2 : δύο αντίθετες θέσεις, var_i : διακύμανση των αποστάσεων κατά ζεύγη μεταξύ μίας δεδομένης θέσης και άλλων γονιδιακών θέσεων, Cov_{i^1, i^2} : συνδιακύμανση των αποστάσεων η οποία αθροίζεται σε κάθε ζεύγος γονιδιακών θέσεων σε ένα σύνολο δεδομένων, r_d : αμερόληπτος δείκτης σύνδεσης.

6.5.4.3.1.7 Ροή γονιδίων (Nm)

Θεωρητικό υπόβαθρο

Ροή γονιδίων (μετανάστευση γονιδίων) ορίζεται η μετακίνηση ή η εισαγωγή γενετικού υλικού (DNA) (μέσω συζεύξεων) από έναν πληθυσμό ενός είδους σε έναν άλλο (μετανάστευση και εποικισμός). Μέσω της ροής γονιδίων, προκαλείται μία μεταβολή στη σύνθεση του γονιδιακού αποθέματος (συχνότητες αλληλομόρφων) του πληθυσμού υποδοχής. Οι εκτιμήσεις της γονιδιακής ροής προσφέρουν έμμεση πληροφορία σχετικά με τα επίπεδα της μετανάστευσης μεταξύ υποπληθυσμών (Burczyk *et al.* 2004). Η ροή γονιδίων μπορεί να ερμηνευθεί ως ο αποτελεσματικός αριθμός μεταναστών που ανταλλάσσονται μεταξύ πληθυσμιακών ομάδων ανά γενεά (Wright 1969). Οι δύο διαθέσιμες μέθοδοι εκτίμησης τους αριθμού μεταναστών (Nm) (βάσει του F_{ST} και βάσει της ύπαρξης αποκλειστικών αλληλομόρφων), έχουν ως παραδοχή την ουδετερότητα των γονιδιακών θέσεων, επομένως η χρήση δεικτών υπό την επιρροή της επιλογής αναμένεται να οδηγήσει σε μεροληπτικές εκτιμήσεις (Yamamichi and Innan 2012). Παρόλα αυτά, οι εκτιμήσεις του αριθμού των μεταναστών μέσω των προαναφερθέντων μεθόδων προσφέρουν μία εικόνα της μετανάστευσης και είναι χρήσιμες στο πλαίσιο της ΓΠΔ, π.χ. μία υψηλή τιμή Nm υποδηλώνει υψηλούς ρυθμούς ροής γονιδίων και πιο σταθερές γενετικές διεργασίες στον πληθυσμό υποδοχής.

Υπολογισμός

Το πρότυπο της νήσου (Wright 1931) και ο βαθμός γενετικής διαφοροποίησης, όπως δίνεται από το συντελεστή εγκαθίδρυσης (F_{ST}) μεταξύ πληθυσμών ενός είδους, χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό του Nm – δηλαδή του αριθμού των μεταναστών που εποικίζουν ένα πληθυσμό ανά γενεά (Wright 1969).

$$Nm = \left(\frac{1 - F_{ST}}{4F_{ST}} \right)$$

Ένας άλλος τρόπος εκτίμησης της ροής γονιδίων είναι η μέθοδος των αποκλειστικών αλληλομόρφων (Slatkin 1985). Αυτή η μέθοδος απαιτεί μεγαλύτερο μέγεθος δείγματος με σκοπό την απόκτηση επαρκούς αριθμού αποκλειστικών αλληλομόρφων (αλληλόμορφα τα οποία εντοπίζονται σε έναν μόνο πληθυσμό). Το σκεπτικό πίσω από αυτή τη μέθοδο είναι ότι στην περίπτωση υψηλής ροής γονιδίων, τα αλληλόμορφα που εμφανίζονται σε ένα μόνο πληθυσμό αναμένεται να έχουν πολύ χαμηλή συχνότητα επειδή πιθανότατα προέκυψαν από νέες μεταλλάξεις οι οποίες δεν είχαν χρόνο να εξαπλωθούν (Slatkin 1985, 1987). Ο Slatkin (1985) έδειξε ότι ο λογάριθμος του Nm σχετίζεται γραμμικά με τον λογάριθμο της μέσης συχνότητας των αποκλειστικών αλληλομόρφων. Στο πλαίσιο του έργου LIFEGENMON χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος των αποκλειστικών αλληλομόρφων του Slatkin (1985) μέσω του λογισμικού GenePop (βλέπε παρακάτω).

Το λογισμικό GenePop πραγματοποιεί μια εκτίμηση βάσει πολλαπλών γονιδιακών θέσεων του αποτελεσματικού αριθμού μεταναστών (N_m) σύμφωνα με τη μέθοδο των αποκλειστικών αλληλομόρφων. Ο υπολογισμός μπορεί να πραγματοποιηθεί σύμφωνα με τους Slatkin (1985) και Slatkin και Barton (1989). Παρέχονται τέσσερις εκτιμήσεις του N_m , τρεις χρησιμοποιώντας τις γραμμές παλινδρόμησης που δημοσίευσαν οι Barton και Slatkin (1986) και μια διορθωμένη εκτίμηση χρησιμοποιώντας τις τιμές από την πλησιέστερη γραμμή παλινδρόμησης όπως περιγράφεται από τους Barton και Slatkin (1986).

Ιστοσελίδα Genepop: <https://kimura.univ-montp2.fr/~rousset/Genepop.htm>

Το Genepop είναι επίσης διαθέσιμο ως πακέτο της R στο αποθετήριο λογισμικού CRAN και ως αυτόνομο εκτελέσιμο αρχείο. Και οι δύο εκδόσεις βασίζονται στην τελευταία έκδοση του πηγαίου κώδικα Genepop C ++, έκδοση 4.7.3 (06 Δεκεμβρίου 2019, Rousset, 2008, Rousset 2017).

6.5.4.3.1.8 Αναλογία σταυρογονιμοποίησης με βάση πολλαπλές γονιδιακές θέσεις

Θεωρητικό υπόβαθρο

Η σταυρογονιμοποίηση, προωθεί τη ροή γονιδίων, ομογενοποιεί τους πληθυσμούς, αυξάνει την ετεροζυγωτία και ευνοεί τη γαμετική ισορροπία σύνδεσης (Del Castillo και Trujillo 2008). Η αναλογία σταυρογονιμοποίησης πολλαπλών γονιδιακών θέσεων (t_m) και μοναδιαίας θέσης (t_s) μπορούν να θεωρηθούν ως ταυτόσημες παράμετροι. Ωστόσο, για ακριβέστερες εκτιμήσεις των ποσοστών σταυρογονιμοποίησης στη φύση, η αξιολόγηση θα πρέπει να πραγματοποιείται με τη χρήση προτύπων (μοντέλων) πολλαπλών θέσεων, π.χ. η αναλογία σταυρογονιμοποίησης με βάση τις πολλαπλές γονιδιακές θέσεις (t_m) είναι μια εκτίμηση του ποσοστού των απογόνων που παράγονται από έναν μόνο γονέα ή από τον πληθυσμό στο σύνολό του, στο οποίο τα γεγονότα σταυρογονιμοποίησης περιλαμβάνουν συζεύξεις μεταξύ συγγενών και μη συγγενών ατόμων (Ritland, 2002).

Υπολογισμός

Με βάση το μικτό πρότυπο συζεύξεων, εφαρμόστηκε η διαδικασία εκτίμησης των αναλογιών σταυρογονιμοποίησης (t_s – μοναδιαίας γονιδιακής θέσης και t_m – πολλαπλών γονιδιακών θέσεων) σύμφωνα με τους γενοτύπους σε μοναδιαία γονιδιακή θέση και σε πολλαπλές γονιδιακές θέσεις σύμφωνα με τον Ritland (2002). Οι εκτιμήσεις της αναλογίας σταυρογονιμοποίησης με βάση τις πολλαπλές γονιδιακές θέσεις (t_m) θεωρείται ότι δίνουν πιο ακριβή αποτελέσματα σε σύγκριση με τις εκτιμήσεις με βάση τις μεμονωμένες γονιδιακές θέσεις (Ritland και Jain 1981, Ritland 2002). Η αναλογία σταυρογονιμοποίησης με βάση πολλαπλές γονιδιακές θέσεις (t_m) και με βάση τις μοναδιαίες γονιδιακές θέσεις (t_s), μπορεί να εκτιμηθεί χρησιμοποιώντας το λογισμικό MLTR (Ritland, 2002). Οι εκτιμήσεις της διακύμανσης των παραπάνω παραμέτρων στο έργο LIFEGENMON υπολογίστηκαν με βάση 10000 επαναδειγματοληψίες με τεχνική εκκίνησης (bootstraps). Η επαναδειγματοληψία με τεχνική εκκίνησης (bootstrapping) είναι ένας μη παραμετρικός τρόπος για να υπολογιστεί το τυπικό σφάλμα (ή η διακύμανση) των εκτιμήσεων. Η επαναδειγματοληψία με τεχνική εκκίνησης προϋποθέτει ότι οι παρατηρήσεις είναι ανεξάρτητες και υφίσταται ένας ικανός αριθμός παρατηρήσεων. Το τυπικό σφάλμα εκτιμάται με βάση έναν επιλεγμένο αριθμό επαναδειγματοληψιών κατά τον υπολογισμό των αναλογιών σταυρογονιμοποίησης με βάση το λογισμικό MLTR (Ritland 2002). Η επαναδειγματοληψία μπορεί να διεξαχθεί στα επίπεδα των οικογενειών ή των ατόμων εντός οικογενειών (Ritland 2002). Η εφαρμογή της επαναδειγματοληψίας στο έργο LIFEGENMON πραγματοποιήθηκε στο επίπεδο της οικογένειας (από ελεύθερη επικοινωνία), καθώς οι μετρήσιμες παράμετροι του συστήματος συζεύξεως διέφεραν μεταξύ των οικογενειών.

$$\hat{t}_m = 1 - \hat{s}_m$$

Αναλογία σταυρογονιμοποίησης ατόμου με βάση τις πολλαπλές γονιδιακές θέσεις

$$\hat{s}_m = \frac{I_m - P_m^s}{P_m^s - P_m^t}$$

Αναλογία αυτογονιμοποίησης ατόμου με βάση τις πολλαπλές γονιδιακές θέσεις

$$\text{Var}(\hat{S}_m) = \frac{P_m^t(1 - P_m^t)}{(P_m^s - P_m^t)^2}$$

Διακύμανση της αναλογίας αυτογονιμοποίησης ατόμου με βάση τις πολλαπλές γονιδιακές θέσεις

Όπου

P_m : η πιθανότητα εύρεσης ενός m_n πολυγονιδιακού απογονικού γενότυπου για ένα ορισμένο πατρικό, $l_m = 1$ εάν ο γενότυπος m είναι ο απογονικός γενότυπος που παρατηρήθηκε και $l_m = 0$ εάν όχι («s» στην παραπάνω εξίσωση υποδεικνύει την ομομειξία, «t» υποδεικνύει τη σταυρογονιμοποίηση).

$$P_m^s = \prod_{loci} P_{kl(m)}^{ij,s}$$

$$P_m^t = \prod_{loci} P_{kl(m)}^{ij,t}$$

Όπου

P_{kl}^{ij} : πιθανότητα της παρατήρησης του απογονικού γενότυπου $A_k A_l$, όταν ο πατρικός γενότυπος είναι $A_i A_j$, («s» στην παραπάνω εξίσωση υποδεικνύει την ομομειξία, «t» υποδεικνύει τη σταυρογονιμοποίηση).

$$P_{kl}^{ij,s} = (2 - \delta_{kl}) D_k^{ij} D_l^{ij}$$

$$P_{kl}^{ij,t} = \frac{1}{2}(2 - \delta_{kl})(D_k^{ij} p_l + D_l^{ij} p_k)$$

Όπου

D_k^{ij} και D_l^{ij} : πιθανότητες το αλληλόμορφο k ή το αλληλόμορφο l να κληρονομείται στους απογόνους όταν ο πατρικός γενότυπος είναι $A_i A_j$, και p : συχνότητες των αλληλομόρφων l και k στον πληθυσμό, δ_{kl} : συντελεστής Kronecker ο οποίος λαμβάνει την τιμή «1» εάν τα αλληλόμορφα l και k είναι τα ίδια και «0» εάν είναι διαφορετικά.

$$D_k^{ij} = \left(\frac{\delta_{ik} + \delta_{jk}}{2} \right)$$

$$D_l^{ij} = \left(\frac{\delta_{il} + \delta_{jl}}{2} \right)$$

Η αναλογία σταυρογονιμοποίησης πολλαπλών γονιδιακών θέσεων σημείων (t_m) και αναλογία σταυρογονιμοποίησης μοναδιαίας γονιδιακής θέσης (t_s) κυμαίνεται από 0 έως 1, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις $t_m = 1,2$ (αδημοσίευτα αποτελέσματα LIFEGENMON). Όταν η αναλογία διασταυρώσεων με βάση τις πολλαπλές γονιδιακές θέσεις (t_m) είναι κοντά ή ίση με τη μονάδα ($t_m \geq 1$), αυτό υποδηλώνει ότι οι απόγονοι έχουν προέλθει από σταυρογονιμοποίηση (απουσία αυτογονιμοποίησης). Όταν η αναλογία αυτή (t_m) είναι χαμηλότερη της μονάδας ($t_m < 1$), τότε μέρος του απογονικού πληθυσμού προέρχεται από αυτογονιμοποίηση.

Ιστοσελίδα MLTR: <http://kermizii.com/software/>

6.5.4.3.1.9 Ποσοστό πραγματικής ομομειξίας

Θεωρητικό υπόβαθρο

Η ομομειξία είναι η διασταύρωση ατόμων που σχετίζονται μεταξύ τους εκ καταγωγής. Η ομομειξία (διασταύρωση μεταξύ στενά συγγενικών ατόμων) αυξάνει την ομοζυγωτία των απογόνων και συνήθως οδηγεί σε μειωμένη αρμοστικότητα. Στους ομόζυγους γενότυπους, τα υποτελή επιβλαβή αλληλόμορφα αποκαλύπτονται και το πλεονέκτημα της ετεροζυγωτίας σε υπερκυρίαρχες θέσεις χάνεται (Aravanopoulos and Zsuffa 1998). Το ποσοστό ομομειξίας υποδηλώνει την αύξηση της μέσης ομομειξίας σε έναν πληθυσμό από τη μία γενιά στην άλλη.

Υπολογισμός

Η εκτίμηση του ποσοστού πραγματικής ομομειξίας (μοναδιαία θέση και πολλαπλές θέσεις) βασίζεται σε γενετικά δεδομένα και δεδομένα μετρήσεων σπερμάτων. Η εκτίμηση του ποσοστού ομομειξίας μπορεί να βασίζεται σε γενετικούς δείκτες μόνο, ωστόσο καθώς ο πιθανός ομομεικτικός εκφυλισμός κατά την αναπαραγωγή μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την ανάπτυξη και τη βλάστηση των σπερμάτων, η εκτίμηση της παραμέτρου του πραγματικού ποσοστού ομομειξίας είναι πιο αξιόπιστη. Το πραγματικό ποσοστό ομομειξίας υπολογίζεται από τον

συνδυασμό της εκτίμησης αυτογονιμοποίησης (από την ανάλυση συστημάτων συζεύξεως) και της εκτίμησης της ομομειξίας με βάση μετρήσεις σπερμάτων (Rajora *et al.* 2000a).

$$\text{Ποσοστό πραγματικής ομομειξίας} = \frac{B + C \cdot \hat{s}_m}{B + C}$$

Όπου

B: εκτιμώμενη αναλογία των ομομεικτικών σπερμάτων που υπολογίζεται ως $(1 - C) \cdot F$, όπου F είναι η εκτιμώμενη αναλογία των κενών σπερμάτων που αποδίδονται στην αυτογονιμοποίηση και βασίζεται σε προηγούμενη γνώση (π.χ. από δημοσιευμένη βιβλιογραφία για τα αντίστοιχα είδη). Ελλείψει προηγούμενων πληροφοριών, η χρήση της τιμής 80% (δηλ. $F = 0,8$) για την παρουσία κενών σπερμάτων ως αποτέλεσμα αυτογονιμοποίησης αποτελεί μια λογική επιλογή (Rajora *et al.* 2000a, με βάση δεδομένα από την *Picea glauca* (Moench) Voss), C: ποσοστό των πλήρων σπερμάτων (βλέπε 6.3 και 6.5.5.1.1 για τον προσδιορισμό του ποσοστού των πλήρων σπερμάτων), \hat{s}_m : εκτίμηση αυτογονιμοποίησης με βάση πολλαπλές γονιδιακές θέσεις (Ritland 2002) (βλέπε 6.5.4.3.1.8 για την εξίσωση \hat{s}_m).

6.5.4.3.2 Επιπλέον πληροφορίες

6.5.4.3.2.1 Διεδικός Υβριδισμός

Θεωρητικό υπόβαθρο

Ο διεδικός υβριδισμός ορίζεται ως ο τύπος υβριδισμού που παρατηρείται μεταξύ οργανισμών οι οποίοι θεωρούνται ξεχωριστά είδη. Για τη διάκριση μεταξύ αμιγών ειδών και διεδικών υβριδίων, θα πρέπει να υπάρχουν διαθέσιμα δείγματα αναφοράς και των δύο (ή περισσότερων) υβριζόντων ειδών. Δεδομένα γενετικής των αμιγών ειδών είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν για την προσομοίωση υβριδικών γενετικών τύπων μέσω λογισμικών όπως το *HybridLab* (Nielsen *et al.* 2006) ή με χρήση της γλώσσας προγραμματισμού R και συγκεκριμένα του πακέτου «adegenet» (Jombart 2008, Jombart και Ahmed 2011). Στη συνέχεια, αμιγείς και υβριδογενείς ομάδες δειγμάτων αναφοράς δύναται να χρησιμοποιηθούν στην ανάλυση ομαδοποίησης του λογισμικού *STRUCTURE* (Pritchard *et al.* 2000) ή μέσω άλλου λογισμικού ομαδοποίησης για τον προσδιορισμό των επιπέδων υβριδισμού μεταξύ των ειδών.

Το λογισμικό *STRUCTURE* είναι ένα αυτόνομο πρόγραμμα, γεγονός που καθιστά δύσκολη την εκτέλεσή του μέσα από το περιβάλλον της R, ενώ παράλληλα η λειτουργία του είναι σχετικά χρονοβόρα. Μια εναλλακτική λύση που βασίζεται στην R αποτελούν η ανάλυση «snarclust» και η Ανάλυση Διακριτότητας Κυρίων Συνιστωσών (DAPC), οι οποίες εκτελούνται μέσω του στατιστικού πακέτου «adegenet» με σκοπό την ομαδοποίηση ειδών / πληθυσμών και την οπτικοποίηση των ομάδων. Και οι τρεις υλοποιήσεις που περιγράφονται παραπάνω έχουν σκοπό να συγκεντρώσουν άτομα σε ομάδες με βάση τη γενετική ομοιότητα και μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο για την αξιολόγηση του υβριδισμού μεταξύ ειδών, όσο και της υποκείμενης δομής των πληθυσμών και της γενετικής διαφοροποίησης, ή της έλλειψης αυτής, η οποία αναφέρεται ως σύμμιξη (admixture), μεταξύ υποθετικών πληθυσμών εντός των ειδών.

Αξίζει να σημειωθεί ότι εάν η ανάλυση ομαδοποίησης υποδείξει την παρουσία υψηλών επιπέδων υβριδισμού (>50%) κατά την πρώτη αξιολόγηση μίας πληθυσμιακής ομάδας (ενήλικα δέντρα, φυσική αναγέννηση, σπέρματα), δε συνιστάται η χρήση αυτής της συστάδας για τη διενέργεια ΓΠΔ, παρά μόνο στην περίπτωση όπου σκοπός της ερευνητικής προσπάθειας είναι η παρακολούθηση των χρονικών μεταβολών του υβριδισμού.

STRUCTURE Περίληψη αλγορίθμου

Για να συμπεριλάβει άτομα σε ένα είδος ή πληθυσμό, το λογισμικό *STRUCTURE* χρησιμοποιεί μια μέθοδο ομαδοποίησης βάσει προτύπου για την εύρεση της δομής των πληθυσμών εκμεταλλευόμενο δεδομένα γενετικής τα οποία αποτελούνται από μη συνδεδεμένους δείκτες. Το πρότυπο του *STRUCTURE* υποθέτει ότι υπάρχουν K πληθυσμοί ή είδη, καθένα από τα οποία χαρακτηρίζεται από μία ομάδα αλληλομορφικών συχνοτήτων για κάθε γονιδιακή θέση. Τα άτομα αναθέτονται πιθανολογικά σε έναν πληθυσμό / είδος ή από κοινού σε δύο ή

περισσότερους πληθυσμούς / είδη με βάση τους γενοτύπους τους. Το *STRUCTURE* εκτιμά τις αλληλομορφικές συχνότητες σε κάθε ομάδα και την πιθανότητα ανάθεσης κάθε ατόμου σε ένα πληθυσμό / είδος. Προσομοιώσεις Μαρκοβιανής αλυσίδας Μόντε Κάρλο (MCMC), χρησιμοποιούνται για την εύρεση του παραμετρικού χώρου και την πραγματοποίηση της ομαδοποίησης. Η βέλτιστη τιμή του αριθμού K για ένα σύνολο ατόμων καθορίζεται μετά το πέρας της ανάλυσης (*post hoc*) με τη μέθοδο Evanno-Structure (Evanno *et al.* 2005). Αυτό σημαίνει ότι απαιτείται η εκτέλεση του λογισμικού πολλαπλές φορές για κάθε τιμή K , με αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου εκτέλεσης. Τα πρότυπα στα οποία βασίζεται η ανάλυση έχουν ως παραδοχές την ύπαρξη ισορροπίας H-W και ισορροπίας σύνδεσης, καθιστώντας εξαιρετικά σημαντική την απόρριψη ατόμων και γονιδιακών θέσεων που παραβαίνουν αυτές τις προϋποθέσεις.

Περίληψη αλγορίθμου *Snapclust*

Η ανάλυση *snapclust* η οποία υλοποιείται στο πακέτο της R *adegenet*, (Jombart 2008, Jombart και Ahmed 2011) είναι μια προσέγγιση γενετικής ομαδοποίησης που συνδυάζει μεθόδους βασισμένες σε πρότυπα και γεωμετρικές μεθόδους για την αποτελεσματική ανάθεση ατόμων σε ομάδες, με πολύ υψηλότερη ταχύτητα από τις συμβατικές (βασισμένες σε πρότυπα) προσεγγίσεις, όπως το *STRUCTURE*. Η *snapclust* έχει, όπως και το *STRUCTURE*, ως παραδοχή την ύπαρξη ισορροπίας H-W για τον υπολογισμό της πιθανότητας ανάθεσης.

Η *Snapclust* συμπεριλαμβάνει άτομα σε ομάδες σύμφωνα με τον αριθμό των ομάδων K ο οποίος έχει εκχωρηθεί εξ αρχής (*a priori*) από τον χρήστη. Έπειτα εκτελούνται πολλαπλές επαναλήψεις της ανάλυσης, επανατοποθετώντας άτομα κάθε φορά, έως ότου συγκλίνουν δύο διαδοχικά πρότυπα, δηλαδή οι εκτιμήσεις του λογαρίθμου πιθανοφάνειας σε δύο διαδοχικές επαναλήψεις γίνονται αμελητέες (10^{-10}).

Η *snapclust* απαιτεί τον εκ των προτέρων καθορισμό του συνολικού αριθμού ομάδων που υπάρχουν, γεγονός που έρχεται σε αντίθεση με την ανάλυση *STRUCTURE* όπου ο καθορισμός του βέλτιστου αριθμού K πραγματοποιείται εκ των υστέρων (*post hoc*). Διάφορα κριτήρια μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αξιολόγηση του βέλτιστου αριθμού ομάδων. Δύο δημοφιλή στατιστικά είναι το πληροφοριακό κριτήριο Akaike (AIC) (Akaike *et al.* 1998) και το πληροφοριακό κριτήριο κατά Bayes (BIC) (Schwarz 1978). Αυτές οι στατιστικές παράμετροι υποδεικνύουν την απόκλιση του προτύπου (έλλειψη προσαρμογής), αλλά αποδίδουν διαφορετικές εκτιμήσεις αξιοπιστίας ως προς την πολυπλοκότητα του συνόλου δεδομένων. Κατά την εκτίμηση του βέλτιστου αριθμού ομάδων, το πρότυπο της *snapclust*, εκτελείται πολλαπλές φορές για διάφορες πιθανές τιμές K (π.χ. 1-20) και η επιλεγμένη στατιστική παράμετρος υπολογίζεται για κάθε αποτέλεσμα. Έπειτα οι τιμές των στατιστικών παραμέτρων μπορούν να οπτικοποιηθούν σε ένα γράφημα για τη σύγκριση των παραγόμενων προτύπων. Γενικά, χαμηλότερες τιμές της εκάστοτε στατιστικής παραμέτρου, υποδεικνύουν καλύτερη προσαρμογή του προτύπου. Στην πράξη μία απότομη μείωση της τιμής της στατιστικής παραμέτρου, όταν στοιχίζονται κατά αύξοντα αριθμό οι τιμές K , υποδηλώνει τον βέλτιστο αριθμό ομάδων (Jombart *et al.* 2010).

Ανάλυση Διακριτότητας Κυρίων Συνιστωσών (DAPC)

Η DAPC αξιοποιεί την Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (PCA) σε συνδυασμό με την Ανάλυση Διακριτότητας (DA) για τον εντοπισμό γενετικών δομών. Αυτή η μέθοδος είναι διαφορετική από τις υπόλοιπες προσεγγίσεις, περιλαμβανομένης της *snapclust* και του *STRUCTURE* στο ότι αποτελεί μια καθαρά γεωμετρική προσέγγιση, όπου τα άτομα ομαδοποιούνται με βάση τις αποστάσεις τους στο γενετικό χώρο χωρίς να λαμβάνεται υπόψη κάποιο πρότυπο πληθυσμιακής γενετικής (Jombart *et al.* 2010).

Όπως περιγράφεται λεπτομερώς στην εργασία της πρώτης παρουσίασης της μεθόδου (Jombart *et al.* 2010), η DAPC επιχειρεί να μειώσει τους περιορισμούς των δύο τεχνικών. Η PCA συνοψίζει τη συνολική παραλλακτικότητα μεταξύ ατόμων αλλά δεν προσφέρει διάκριση μεταξύ της παραλλακτικότητας μεταξύ ομάδων και εντός ομάδων. Αντιθέτως, η DA επιμερίζει τη γενετική παραλλακτικότητα σε δύο συστατικά, μεταξύ ομάδων και εντός ομάδων και προσπαθεί να μεγιστοποιήσει το πρώτο συστατικό ενώ ελαχιστοποιεί το δεύτερο, επιτρέποντας τη διάκριση των ατόμων σε προκαθορισμένες ομάδες. Η DA περιορίζεται από την απαίτηση ο αριθμός των μεταβλητών (αλληλόμορφα) να είναι μικρότερος από τον αριθμό των παρατηρήσεων (άτομα), κάτι που συχνά δε συμβαίνει στα σύνολα δεδομένων SNP και παρεμποδίζεται επίσης από υψηλές συσχετίσεις μεταξύ μεταβλητών, κάτι

σύνηθες σε σύνολα γενετικών δεδομένων. Στη DAPC, τα δεδομένα μετασχηματίζονται πρώτα μέσω της PCA, από την οποία οι τιμές των μεταβλητών (χρησιμοποιώντας έναν αριθμό αξόνων της PCA) υπόκεινται σε DA. Αυτό διασφαλίζει ότι οι μεταβλητές που υποβάλλονται στη DA δεν συσχετίζονται και ότι ο αριθμός τους είναι μικρότερος από αυτόν των ατόμων που αναλύθηκαν. Η DAPC μπορεί να αξιοποιηθεί συμπληρωματικά με την ανάλυση *snarclust* ως μία *a priori* τεχνική για την οπτικοποίηση των εκ των προτέρων καθορισμένων ομάδων (προερχόμενων από τη *snarclust*) σε ένα χώρο περιορισμένων διαστάσεων, αντί να χρησιμοποιηθεί αυτοτελώς για την ανάθεση ατόμων σε ομάδες.

6.5.4.3.2.2 Πολλαπλότητα – Υποθετική γαμετική ποικιλότητα σε πολλαπλές γονιδιακές θέσεις (V_{gam})

Θεωρητικό υπόβαθρο

Η υποθετική γαμετική ποικιλότητα σε πολλαπλές γονιδιακές θέσεις (V_{gam}) αποτελεί μια ειδική περίπτωση γενετικής ποικιλότητας που χαρακτηρίζει την εν δυνάμει ποικιλότητα της γαμετικής παραγωγής ενός πληθυσμού. Αυτό σηματοδοτεί το προσαρμοστικό / εξελικτικό δυναμικό ενός εγγενώς αναπαραγωγικού πληθυσμού, που είναι ο αποτελεσματικός αριθμός γαμετών σε πολλαπλές γονιδιακές θέσεις που δύναται να παραχθούν (Gregorius 1978). Κατά τον υπολογισμό της V_{gam} θεωρείται ότι οι γονιδιακές θέσεις που μελετώνται βρίσκονται σε ισορροπία σύνδεσης και δεν υπάρχει επιλογή ως προς τη γονιμότητα στον πληθυσμό (δηλ. τα άτομα δεν έχουν πλεονέκτημα ως προς την αρμοστικότητα τους μέσω γνωρισμάτων που αυξάνουν τον αριθμό των απογόνων) (Hattermer 1991). Αποτελεί επομένως μια υποθετική εκτίμηση αυτής της ικανότητας.

Η γενετική ποικιλότητα ενός πληθυσμού είναι απαραίτητη για προσαρμογή και επιβίωση σε ετερογενή περιβάλλοντα (Müller-Starck 1995). Ως μέτρο της ικανότητας ενός πληθυσμού να δημιουργεί γενετική ποικιλότητα και να διευκολύνει την προσαρμογή στις μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες (Gregorius *et al.* 1986), η V_{gam} δύναται να είναι ενδεικτική της απόκρισης ενός πληθυσμού και της ικανότητάς του να ανθίσταται σε μακροχρόνια περιβαλλοντική καταπόνηση. Αυτό αποδείχθηκε π.χ. στην ευρωπαϊκή οξιά (*Fagus sylvatica*), όπου το μεγαλύτερο μέρος των πληθυσμών που ήταν ανθεκτικοί στην ατμοσφαιρική ρύπανση» είχε κατά 90% υψηλότερη V_{gam} σε σχέση με τους ευπαθείς πληθυσμούς (Müller-Starck 1989). Η V_{gam} έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για να δείξει την εν δυνάμει μείωση της ικανότητας ενός γονιδιακού αποθέματος να προσαρμόζεται σε μεταβαλλόμενες συνθήκες κατόπιν από ανθρωπογενώς δημιουργούμενων διαταραχών όπως η υλοτομία (Wickneswari *et al.* 2004).

Υπολογισμός

Η V_{gam} υπολογίζεται ως το γινόμενο των τιμών γενετικής ποικιλότητας για κάθε μοναδιαία γονιδιακή θέση (A_e) για όλες τις γονιδιακές θέσεις που μελετώνται. Απαιτείται επομένως να υπολογίζονται προηγουμένως η H_e και η A_e για κάθε γονιδιακή θέση.

$$H_e = 1 - \sum p_i^2 \quad \text{Αναμενόμενη ετεροζυγωτία ανά γονιδιακή θέση (} H_e \text{)}$$

$$A_e = \frac{1}{(1/H_e)} = \frac{1}{\sum p_i^2} \quad \text{Αναμενόμενος αριθμός αλληλομόρφων ανά γονιδιακή θέση (} A_e \text{)}$$

$$v_{gam} = \prod_i^I A_{ei} \quad \text{Υποθετική γαμετική ποικιλότητα σε πολλαπλές γονιδιακές θέσεις (} V_{gam} \text{)}$$

Όπου:

p_i : συχνότητα του κύριου αλληλομόρφου σε μια δεδομένη γονιδιακή θέση, H_e : αναμενόμενη ετεροζυγωτία σε μία συγκεκριμένη γονιδιακή θέση, A_e : αναμενόμενος αριθμός αλληλομόρφων σε μία συγκεκριμένη γονιδιακή θέση, V_{gam} : υποθετική γαμετική ποικιλότητα σε πολλαπλές γονιδιακές θέσεις, I : συνολικός αριθμός των μη συνδεδεμένων γονιδιακών θέσεων, i : μια συγκεκριμένη γονιδιακή θέση.

6.5.4.3.2.3 Ανίχνευση έκτοπων γονιδιακών θέσεων βάσει στατιστικών με το συντελεστή F

Θεωρητικό υπόβαθρο

Οι γενετικοί δείκτες μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες ανάλογα με το αν θεωρείται ότι επηρεάζονται ή όχι από την επιλογή. Ουδέτεροι χαρακτηρίζονται οι δείκτες οι οποίοι δεν έχουν (ή έχουν ελάχιστη) επιρροή στην αρμοστικότητα και επομένως επιδρούν σε αυτούς μόνο στοχαστικές ουδέτερες διεργασίες και όχι η φυσική (ή η τεχνητή) επιλογή (Kimura 1983). Εναλλακτικά, οι γονιδιακές θέσεις οι οποίες βρίσκονται υπό επιλεκτική πίεση αναφέρονται ως μη ουδέτερες, προσαρμοστικές ή έκτοπες γονιδιακές θέσεις. Παρατηρείται ένα συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον στη βιβλιογραφία, για τη χρήση μη ουδέτερων δεικτών παράλληλα με ουδέτερους δείκτες με σκοπό την αξιολόγηση του προσαρμοστικού δυναμικού ενός πληθυσμού σε μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες (Eizaguirre και Baltazar-Soares 2014) και στη γενετική παρακολούθηση (Funk *et al.* 2012). Ωστόσο, οι παραδοσιακές αναλύσεις γενετικής πληθυσμών συνήθως πραγματοποιούνται μόνο σε ουδέτερους δείκτες, που αντικατοπτρίζουν τη γεωγραφική δομή των υποπληθυσμών και τη γενετική συνδεσιμότητα, ως αποτέλεσμα της γενετικής εκτροπής, των μεταλλάξεων και περιορισμών διασποράς. Αυτό καθιστά τους ουδέτερους δείκτες χρήσιμους για την αξιολόγηση παλαιότερων δημογραφικών διαδικασιών, αλλά όχι κατ' ανάγκη της φυσικής επιλογής.

Η κύρια προσέγγιση που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση σημάτων φυσικής επιλογής σε έναν πληθυσμό, είναι μέσω της αναζήτησης γονιδιακών θέσεων με απροσδόκητα μεγάλες διαφορές στις συχνότητες αλληλομόρφων μεταξύ των πληθυσμών (Lewontin και Krakauer 1973). Ο έλεγχος εύρεσης έκτοπων τιμών πραγματοποιείται συνήθως με χρήση της μεθόδου που βασίζεται στον συντελεστή εγκαθίδρυσης F_{ST} σε αυτόνομες εφαρμογές λογισμικού, όπως οι *Lotisan* (Antao *et al.* 2011) και *Bayescan* (Fischer *et al.* 2011). Στη γλώσσα R, η ανίχνευση έκτοπων γονιδιακών θέσεων βάσει του F_{ST} μπορεί να εφαρμοστεί εύκολα χρησιμοποιώντας τη μέθοδο *OutFLANK* (Whitlock και Lotterhos 2015).

Περίληψη αλγορίθμου

Ακολουθεί μια απλοποιημένη περιγραφή του αλγορίθμου *OutFLANK*, για μια πιο αναλυτική περιγραφή συμβουλευτείτε την πρωτότυπη ερευνητική εργασία των Whitlock και Lotterhos (2015). Στον αλγόριθμο *OutFLANK* απομακρύνονται αρχικά οι γονιδιακές θέσεις χαμηλής ετεροζυγωτίας (δηλ. $H_e < 0,10$ σε ολόκληρο τον πληθυσμό και συχνότητα σπάνιου αλληλομόρφου $< 5\%$). Το F'_{ST} υπολογίζεται ως η επιλεγμένη παράμετρος γενετικής διαφοροποίησης για κάθε γονιδιακή θέση και υπολογίζεται ο μέσος όρος του για όλες τις εξεταζόμενες γονιδιακές θέσεις. Αυτή είναι μια παραλλαγή του δείκτη εγκαθίδρυσης (F_{ST}) όπως ορίζεται από τους Weir και Cockerham (1984), ο οποίος δε διορθώνεται για το μέγεθος του δείγματος στον υπολογισμό των συστατικών διακύμανσης.

$$F_{st} = \frac{var_a}{var_a + var_b + var_c} \quad F_{ST} \text{ (Weir and Cockerham 1984)}$$

Όπου

var_a : συστατικό διακύμανσης ενός αλληλομόρφου «μεταξύ πληθυσμών», var_b : συστατικά διακύμανσης «μεταξύ ατόμων εντός υποπληθυσμών», var_c : συστατικά διακύμανσης «μεταξύ γαμετών εντός των ατόμων».

Οι γονιδιακές θέσεις στο άνω και κάτω 5% της κατανομής των τιμών F'_{ST} απορρίπτονται προσωρινά. Από τις περικυκλωμένες τιμές F'_{ST} κατασκευάζεται ένα πρότυπο κατανομής χ^2 . Στη συνέχεια χρησιμοποιείται ένα πρότυπο πιθανοτήτων το οποίο βασίζεται στην κατανομή των τιμών F'_{ST} για τον προσδιορισμό των βαθμών ελευθερίας (df) του προτύπου. Μόλις γίνει γνωστή τόσο η μηδενική (null) κατανομή χ^2 των τιμών F'_{ST} όσο και οι βαθμοί ελευθερίας, αυτή η κατανομή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο διαφοροποιούσας επιλογής, για τις τιμές F'_{ST} που εντοπίζονται στο δεξιό άκρο της κατανομής. Αυτή η διαδικασία επαναλαμβάνεται πολλές φορές με τις έκτοπες γονιδιακές θέσεις να απορρίπτονται με τη σειρά εύρεσης τους, έως ότου δεν εντοπίζονται νέες έκτοπες γονιδιακές θέσεις.

6.5.4.3.2.4 Αποτελεσματικός Αριθμός Δοτών Γύρης (N_{ep})

Θεωρητικό υπόβαθρο

Ο αποτελεσματικός αριθμός δοτών γύρης είναι ο αριθμός των δοτών γύρης που συμβάλλουν σε κάθε οικογένεια σπερμάτων (από ελεύθερη επικονίαση). Επειδή οι πηγές γύρης δεν αντιπροσωπεύονται εξίσου καλά μεταξύ των απογόνων, ο αριθμός αυτός, είναι συχνά πολύ μικρότερος από τον απόλυτο αριθμό των δοτών γύρης (Smouse και Sork 2004, Sork και Smouse 2006, Sork *et al.* 1999).

Ο αποτελεσματικός αριθμός των δοτών γύρης είναι ένας εξαιρετικός δείκτης της γενετικής ποικιλότητας μιας σπορομερίδας. Εάν ο αριθμός των δοτών γύρης είναι χαμηλός, οι απόγονοι μπορεί να χαρακτηρίζονται από χαμηλή γενετική ποικιλότητα (Apsit *et al.* 2002).

Υπολογισμός

Ο αριθμός των αποτελεσματικών δοτών γύρης (N_{ep}) (Ritland 2002) που συμβάλλουν σε κάθε οικογένεια σπερμάτων, μπορεί να εκτιμηθεί με βάση τη συσχέτιση πατρότητας πολλαπλών γονιδιακών θέσεων (rp), η οποία εκτιμάται χρησιμοποιώντας το λογισμικό MLTR (Ritland 2002) σύμφωνα με τον τύπο:

$$N_{ep} = \frac{1}{rp}$$

Όπου rp είναι συσχέτιση πατρότητας στο λογισμικό MLTR (Ritland 2002).

Ιστοσελίδα MLTR: <http://kermizii.com/software/>

6.5.4.3.2.5 Αμφιγονεϊκή ομομειξία

Θεωρητικό υπόβαθρο

Η αμφιγονεϊκή ομομειξία και γενικά οι διασταυρώσεις μεταξύ συγγενικών ατόμων, παρουσιάζονται σε διάφορες συχνότητες σε πολλούς φυσικούς πληθυσμούς φυτών, οι οποίοι επίσης παρουσιάζουν συνήθως αξιοσημείωτα ποσοστά αυτογονιμοποίησης (Ritland 2002, Porcher και Lande 2016). Η αμφιγονεϊκή ομομειξία οδηγεί σε αυξημένη ομοζυγωτία σε αντίθεση με την τυχαία σύζευξη (Ritland 2002). Επομένως, τα επίπεδα της αμφιγονεϊκής ομομειξίας αποτελούν μία σημαντική παράμετρο για την προστασία των γενετικών πόρων και τη γενετική παρακολούθηση.

Υπολογισμός

Η αναλογία σταυρογονιμοποίησης στον πληθυσμό με βάση τη μοναδιαία (ts) και τις πολλαπλές γονιδιακές θέσεις (tm), χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό της αμφιγονεϊκής ομομειξίας (BI) (σύζευξη μεταξύ συγγενικών ατόμων) (αμφιγονεϊκή ομομειξία = $tm-ts$).

$$BI = (tm - ts)$$

όπου tm είναι η αναλογία σταυρογονιμοποίησης με βάση τις πολλαπλές γονιδιακές θέσεις και ts είναι η αναλογία σταυρογονιμοποίησης με βάση τη μοναδιαία γονιδιακή θέση (ts) κατά το λογισμικό MLTR (Ritland 2002).

Σύμφωνα με τον Ritland (2002) όταν υφίσταται εν τοις πράγμασι αυτογονιμοποίηση, η διαφορά μεταξύ των τιμών που εξάγονται από τις πολλαπλές γονιδιακές θέσεων (tm) και από τις μοναδιαίες γονιδιακές θέσεις (ts), δύναται να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση των επιπέδων της αμφιγονεϊκής ομομειξίας. Ωστόσο, ο Ritland (2002) αναφέρει ότι αυτή η διαφορά είναι πάντα υποτιμημένη, καθώς εξαρτάται από τον αριθμό των γονιδιακών θέσεων που χρησιμοποιούνται. Επομένως ένας μεγαλύτερος αριθμός γονιδιακών θέσεων παρέχει πάντοτε εκτιμήσεις της αμφιγονεϊκής ομομειξίας που βρίσκονται εγγύτερα στην πραγματική τιμή (Ritland 2002).

Η αμφιγονεϊκή ομομειξία μπορεί να εκτιμηθεί με χρήση του λογισμικού MLTR (Ritland, 2002) που βασίζεται σε επαναδειγματοληψία με τη μέθοδο της τεχνικής εκκίνησης (bootstrapping). Η τεχνική εκκίνησης (bootstrapping είναι ένας μη παραμετρικός τρόπος για να υπολογιστεί το τυπικό σφάλμα (ή η διακύμανση) των εκτιμήσεων. Η τεχνική εκκίνησης, προϋποθέτει την ύπαρξη αρκετά μεγάλου αριθμού παρατηρήσεων και την ανεξαρτησία τους. Το τυπικό σφάλμα εκτιμάται με βάση τον επιλεγμένο αριθμό bootstraps κατά τη διαδικασία υπολογισμού με το λογισμικό MLTR (Ritland 2002). Η επαναδειγματοληψία με την τεχνική εκκίνησης δύναται να πραγματοποιηθεί στο επίπεδο των οικογενειών ή με βάση τα άτομα εντός οικογενειών (Ritland 2002). Στο έργο LIFEENMON η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε στο επίπεδο της οικογένειας, καθώς οι πραγματικές παράμετροι του συστήματος συζεύξεως διέφεραν μεταξύ οικογενειών. Η διαφορά μεταξύ των δύο εκτιμήσεων ($t_m - t_s$) παρέχει επομένως ένα μέτρο της συχνότητας των συμβάντων συζεύξεως μεταξύ στενά συγγενικών ατόμων (Ritland, 2002).

Ιστοσελίδα MLTR: <http://kermitzii.com/software/>

Εάν η σύζευξη αφορά συγγενικά άτομα, η αναλογία αυτογονιμοποίησης με βάση τις μοναδιαίες γονιδιακές θέσεις θα πρέπει να είναι υψηλότερη από την αναλογία με βάση τις πολλαπλές γονιδιακές θέσεις και η διαφορά είναι η κατ' ελάχιστον εκτίμηση της πραγματικής αυτογονιμοποίησης που οφείλεται στη αμφιγονεϊκή ομομειξία (Ritland 2002). Όταν η αμφιγονεϊκή ομομειξία προσεγγίζει στο μηδέν, αυτό αποτελεί ένδειξη απουσίας σύζευξης μεταξύ συγγενικών ατόμων. Επομένως, όταν η αναλογία σταυρογονιμοποίησης με βάση τις μοναδιαίες γονιδιακές θέσεις (t_s) έχει ελαφρώς χαμηλότερη τιμή από την αναλογία σταυρογονιμοποίησης με βάση τις πολλαπλές γονιδιακές θέσεις (t_m), δηλ. $t_s < t_m$, υποδηλώνεται χαμηλή πιθανότητα αμφιγονεϊκής ομομειξίας.

6.5.4.3.3 Προαπαιτούμενο Λογισμικό

Πίνακας 6.9. Προαπαιτούμενο λογισμικό για την εκτίμηση των επαληθευτών. Στις περιπτώσεις όπου λογισμικό στην R εξαρτάται από άλλα στατιστικά λογισμικά για εκτέλεση, αυτά τα λογισμικά έχουν επίσης συμπεριληφθεί. Στις περιπτώσεις όπου στατιστικά λογισμικά στην R εισάγουν χαρακτηριστικά από άλλο λογισμικό, αυτό το λογισμικό δεν έχει συμπεριληφθεί καθώς τα συγκεκριμένα χαρακτηριστικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν αυτοτελώς από το στατιστικό λογισμικό που τα εισάγει. Οι βιβλιογραφικές αναφορές των στατιστικών λογισμικών αφορούν μόνο την πρωτότυπη αναφορά τους στη διεθνή βιβλιογραφία για λόγους εξοικονόμησης χώρου και αναγνωσιμότητας.

Επαληθευτής	Προαπαιτούμενο λογισμικό
1. Συχνότητα αλληλομόρφων	Λογισμικό R: <i>adegenet</i> (Jombart 2008, Jombart και Ahmed 2011), <i>ade4</i> (Dray και Dufour 2007)
2. Αλληλομορφικός πλούτος	Λογισμικό R: εξειδικευμένες συναρτήσεις (Dupuis <i>et al.</i> 2018), <i>matrixStats</i> (Bengtsson 2014), <i>dplyr</i> (Wickham <i>et al.</i> 2020), <i>pegas</i> (Paradis 2010), <i>adegenet</i> , <i>ape</i> , <i>ggplot2</i> (Wickham 2016), <i>DescTools</i> (Signorell 2020), <i>PopGenReport</i> (Adamack και Gruber 2014), <i>knitr</i> (Xie 2020), <i>poppr</i> (Kamvar <i>et al.</i> 2014), <i>mmod</i> (Winter 2012)
3. Αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού	Λογισμικό R: εξειδικευμένες συναρτήσεις, <i>adegenet</i> , <i>ade4</i>
4. Λανθάνον Γενετικό Δυναμικό	Λογισμικό R: <i>poppr</i> , <i>adegenet</i> , <i>ade4</i> , εξειδικευμένες συναρτήσεις
5. Συντελεστής ομομειξίας	Λογισμικό R: <i>hierfstat</i> (Goudet 2005), <i>matrixStats</i>
6. Ανισορροπία σύνδεσης	Λογισμικό R: <i>poppr</i> , <i>adegenet</i> , <i>ade4</i>
7. Αναλογία σταυρογονιμοποίησης με βάση πολλαπλές γονιδιακές θέσεις	Λογισμικό MLTR (Ritland 2002)
8. Ροή γονιδίων (Nm)	Το λογισμικό GenePop παρέχεται ως αυτόνομο εκτελέσιμο αρχείο (Rousset, 2008, Rousset 2017) Επίσης είναι διαθέσιμο ως στατιστικό λογισμικό στη γλώσσα προγραμματισμού R μέσω του αποθετηρίου λογισμικού CRAN. Και οι δύο εκδόχες βασίζονται στην πιο πρόσφατη έκδοση πηγαίου κώδικα GenePop C++, έκδοση 4.7.3 (06 Δεκεμβρίου 2019; Rousset, 2008, Rousset 2017).

Επιπλέον Πληροφορίες	
9. Διεϊδικός Υβριδισμός	Λογισμικό <i>STRUCTURE</i> (Pritchard, et al. 2000, Hubisz et al. 2009). Λογισμικό R: <i>pophelper</i> (Francis 2017), <i>dplyr</i> , <i>tidyr</i> (Wickham και Henry 2020), <i>gridExtra</i> (Baptiste 2020), <i>plyr</i> , <i>adegenet</i> , <i>ade4</i> , <i>ggplot2</i> , <i>cairo</i> (Urbanek και Horner 2020)
10. Υποθετική γαμετική ποικιλότητα σε πολλαπλές γονιδιακές θέσεις	Λογισμικό R: <i>poppr</i> , <i>adegenet</i> , <i>ade4</i> , <i>custom function</i>
11. Ανίχνευση έκτοπων γονιδιακών θέσεων βάσει στατιστικών με το συντελεστή F	Λογισμικό R: <i>dartR</i> (Gruber et al. 2018), <i>adegenet</i> , <i>ade4</i>
12. Αμφιγονεϊκή ομοειξία	Λογισμικό MLTR (Ritland, 2002)
13. Αποτελεσματικός αριθμός δοτών γύρης (Nep)	Λογισμικό MLTR (Ritland, 2002) σύμφωνα με τις εξισώσεις του Ritland (1989)

Σημείωση: Τα *poppr*, *dartR* και *pegas* εξαρτώνται από το *adegenet*. Το *adegenet* εξαρτάται από το *ade4*. Το *pophelper* εξαρτάται από τα *cairo* και *ggplot2*. Το *PopGenReport* βασίζεται στο *adegenet* και το *knitr*.

6.5.4.4 *easyRpopgen*: Ένα λογισμικό στη γλώσσα R για τον υπολογισμό γενετικών παραμέτρων από δεδομένα SSR και SNP

6.5.4.4.1 Σκοπός

Το *easyRpopgen* είναι μια ανοιχτή, διαδικτυακή εφαρμογή *Shiny* που έχει σχεδιαστεί για να διευκολύνει την ανάλυση και ερμηνεία αποτελεσμάτων από μελέτες γενετικής πληθυσμών εντός του περιβάλλοντος της R. Είναι ικανό να επεξεργαστεί αποδοτικά δεδομένα κοινών γενετικών δεικτών όπως απλούς νουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς (SNP) και απλές επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες (SSR ή μικροδορυφόροι). Υπάρχουν πολλά αυτόνομα λογισμικά (π.χ. GenAlEx) και στατιστικά λογισμικά στην γλώσσα R διαθέσιμα μέσω του CRAN ή άλλων αποθετηρίων, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για αυτόν τον σκοπό, αλλά μία ολοκληρωμένη ροή εργασίας συχνά απαιτεί την εναλλαγή μεταξύ προγραμμάτων ή την εύρεση του σωστού στατιστικού λογισμικού R για την εκτέλεση των αναγκαίων λειτουργιών. Αυτό περιπλέκεται από τον αριθμό των διαθέσιμων στατιστικών λογισμικών R τα οποία περιέχουν έναν αριθμό αλληλεπικαλυπτόμενων και διακριτών λειτουργιών και σκοπών. Η συγκέντρωση των απαιτούμενων στατιστικών λογισμικών και εντολών μπορεί να είναι χρονοβόρα, κοπιαστική και δύσκολη στην κατανόηση για τους ερευνητές που δεν είναι ήδη εξοικειωμένοι με την πλατφόρμα κώδικα R.

Το *easyRpopgen* απλοποιεί αυτή τη διαδικασία συνδυάζοντας τις λειτουργίες ενός αριθμού αυτών των λογισμικών και άλλων εντολών για τη δημιουργία μίας νέας ροής εργασιών η οποία είναι αξιόπιστη και προσβάσιμη σε έναν τυπικό χρήστη. Το *easyRpopgen* είναι βασισμένο στα στατιστικά λογισμικά τα οποία συγκροτούν τον σκελετό της διενέργειας γενετικών αναλύσεων στην R, συμπεριλαμβανομένων των *poppr*, *ade4*, *adegenet*, *pegas*, *hierfstat* και *PopGenReport*, συνδυάζοντας τις διακριτές λειτουργίες τους σε μια πλήρως εύχρηστη πλατφόρμα ανάλυσης.

Από τη σύλληψη της, η εφαρμογή έχει αναπτυχθεί για να χρησιμοποιείται ως αναπόσπαστο μέρος της ανάλυσης δεδομένων και της διάδοσης αποτελεσμάτων στο πλαίσιο του έργου LIFEGENMON, αλλά και ως μία αυτόνομη εφαρμογή η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί από ενδιαφερόμενους ερευνητές που εργάζονται σε αυτόν τον ερευνητικό τομέα. Επομένως, είναι προσαρμοσμένη στα ερευνητικά ερωτήματα και τις μεθοδολογίες που χρησιμοποιούνται στο έργο LIFEGENMON, αλλά αρκετά γενική ώστε πολλοί άλλοι ερευνητές να είναι ικανοί να επωφεληθούν από τις αναλύσεις που πραγματοποιούνται εντός του λογισμικού.

6.5.4.4.2 Επισκόπηση της εφαρμογής

Εισαγωγή και φιλτράρισμα των δεδομένων

Τα γενετικά δεδομένα μοριακών δεικτών μπορούν να εισαχθούν ως αρχεία csv με μορφοποίηση σύμφωνη με τα πρότυπα των GenAlEx, GeneMapper ή STRUCTURE. Τα εισαγόμενα αρχεία δεδομένων μετατρέπονται στο πρότυπο «genind», που είναι ο πρωταρχικός τύπος αρχείου αποθήκευσης δεδομένων τον οποίο μοιράζονται

πολλά από τα λογισμικά που έχουν συγκεντρωθεί για τη στατιστική επεξεργασία. Αυτό ο τύπος αρχείου αποθήκευσης μπορεί να χειριστεί δεδομένα SNP και SSR και ενσωματώνει τα σχετικά μεταδεδομένα, ώστε αυτά να μεταφέρονται σε όλα τα στάδια των αναλύσεων. Εκτός από την εισαγωγή δεδομένων στις παραπάνω μορφές, για τους σκοπούς του έργου LIFEGENMON είναι εφικτή η εισαγωγή γενετικών δεδομένων και δεδομένων φαινολογίας απευθείας στην εφαρμογή από τον διακομιστή LIFEGENMON.

Κατά την εισαγωγή δεδομένων, ο χρήστης καθορίζει μία ονομασία για την ανάλυση (π.χ. LGM_Abies) η οποία θα συσχετιστεί με όλα τα αρχεία και τις αναφορές που θα ληφθούν στη συνέχεια από την εφαρμογή. Με τον τρόπο αυτό είναι δυνατή η εύκολη παρακολούθηση των σταδίων ανάλυσης που έχουν πραγματοποιηθεί για κάθε έργο.

Η στρωμάτωση της δειγματοληψίας μπορεί επίσης να οριστεί για τα εισαγόμενα δεδομένα. Αυτό είναι χρήσιμο τόσο για το έργο LIFEGENMON όσο και γενικότερα. Οι πληθυσμοί στους οποίους διενεργήθηκε δειγματοληψία στο πλαίσιο του έργου στρωματοποιούνται βάσει τοποθεσίας (Σλοβενία, Γερμανία και Ελλάδα) και ηλικιακής κλάσης (ενήλικα άτομα, φυσική αναγέννηση και σπέρματα). Ο ανεξάρτητος ορισμός των στρωμάτων προσφέρει την ευκαιρία να πραγματοποιούνται αναλύσεις λαμβάνοντας υπόψη αλληλεπιδράσεις και ιεραρχικές επιδράσεις.

Το φιλτράρισμα δεδομένων θα πρέπει να πραγματοποιείται πριν από οποιαδήποτε ανάλυση. Οι παράμετροι φιλτραρίσματος αφορούν τις ελλείπουσες τιμές (γονιδιακές θέσεις και άτομα), τη συχνότητα των σπανίων αλληλομόρφων (MAF), την ανισορροπία σύνδεσης και την ισορροπία Hardy-Weinberg (HW). Ο σκοπός αυτών των βημάτων φιλτραρίσματος είναι για να αφαιρεθούν τα ανομοιογενή δεδομένα τα οποία μπορεί να έχουν δυσανάλογη επίδραση στα αποτελέσματα της ανάλυσης. Επίσης να αφαιρεθούν ενδεχομένως λανθασμένα καταγεγραμμένες αλληλουχίες με την απόρριψη εκείνων που παρουσιάζουν υψηλή απόκλιση από την ισορροπία HW στην πλειονότητα των δειγμάτων. Η αφαίρεση των γονιδιακών θέσεων σε ανισορροπία σύνδεσης είναι επίσης σημαντική, καθώς πολλές αναλύσεις προϋποθέτουν ότι οι γονιδιακές θέσεις βρίσκονται σε ισορροπία και γονιδιακές θέσεις σε ανισορροπία ενεργούν ουσιαστικά ως διπλότυπες τιμές. Οι χρήστες μπορούν να επιλέξουν εάν θα εκτελέσουν μερικά ή όλα αυτά τα βήματα φιλτραρίσματος, μαζί με την επιλογή της αυστηρότητας των φίλτρων ελλειπουσών τιμών και συχνότητας σπανίου αλληλομόρφου. Αυτή η επιλογή επιτρέπει τον ορισμό φίλτρων σύμφωνα με τις προτιμήσεις του ερευνητή, αλλά και την αποφυγή επιπλέον φίλτρων για δεδομένα τα οποία έχουν προ-φιλτραριστεί.

Στο στάδιο του φιλτραρίσματος μπορεί επίσης να πραγματοποιηθεί η ανίχνευση έκτοπων γονιδιακών θέσεων χρησιμοποιώντας το στατιστικό πακέτο της R «rcadart». Με αυτό τον τρόπο προκύπτουν δύο σύνολα δεδομένων για εξαγωγή - ένα «ουδέτερο» σύνολο δεδομένων που αποτελείται από δείκτες οι οποίοι δεν επηρεάζονται σημαντικά από την επιλογή και ένα σύνολο δεδομένων το οποίο φέρει τις έκτοπες γονιδιακές θέσεις. Αυτό επιτρέπει τον διαχωρισμό μεταξύ των επιδράσεων που οφείλονται στη δημογραφία και αυτών που οφείλονται στην επιλογή. Εάν η ανάλυση ανίχνευσης έκτοπων γονιδιακών θέσεων δεν εκτελεστεί ή το τμήμα επιλογής φίλτρων παραληφθεί εντελώς, τότε όλες οι περαιτέρω ενότητες θα χρησιμοποιούν το μη φιλτραρισμένο, σύνολο δεδομένων που εισήχθη στο λογισμικό.

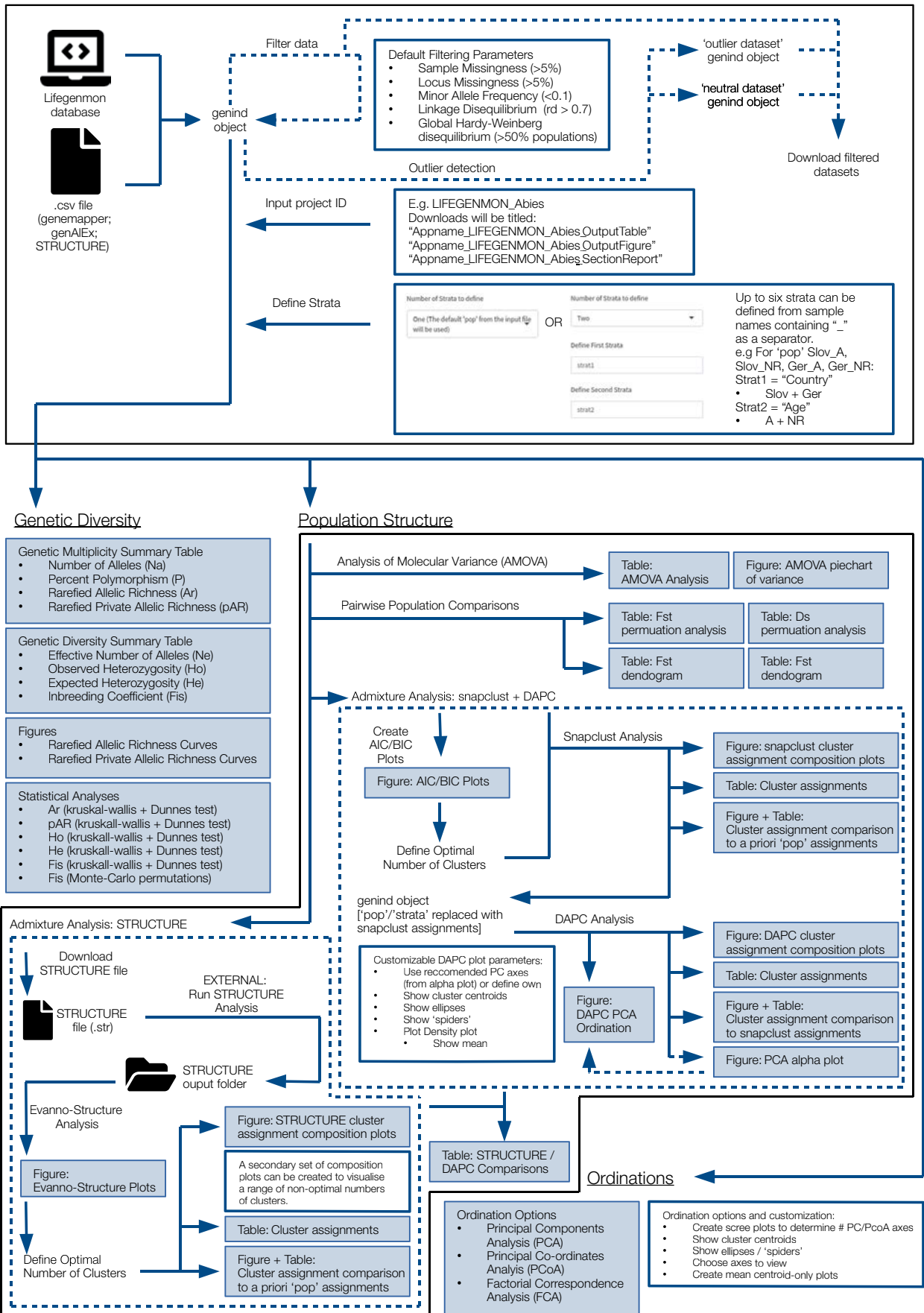
Ανάλυση δεδομένων και δημιουργία αναφορών

Η γενετική ανάλυση χωρίζεται σε τρεις διακριτές ενότητες εντός της εφαρμογής:

- Γενετική ποικιλότητα
- Δομή πληθυσμών
- Ανάλυση ταξίθετησης (ordination)

Οι στατιστικές παράμετροι που παράγονται στο στάδιο αυτό, περιγράφονται σε προηγούμενη ενότητα του Οδηγού Εφαρμογής (Επαληθευτές). Τα εκτιμώμενα στατιστικά και οι αναλύσεις που πραγματοποιούνται από την εφαρμογή συνοψίζονται στη «Σχηματική απεικόνιση των γενετικών αναλύσεων» (Σχήμα 6.6). Οι τρεις ενότητες γενετικών αναλύσεων όπως και πολλοί από τους υπολογισμούς, μπορούν να διεξαχθούν μεμονωμένα, ανάλογα με τις ανάγκες του χρήστη. Κάθε παραγόμενο σχήμα ή πίνακας μπορεί επίσης να ληφθεί ξεχωριστά, ενώ ακόμα είναι δυνατή η δημιουργία μιας αναφοράς η οποία να περιέχει όλα τα αποτελέσματα.

Data import and Filtering



Σχήμα 6.6: Σχηματική απεικόνιση των γενετικών αναλύσεων οι οποίες πραγματοποιούνται από την εφαρμογή *easyRpopgen*.

Τα φαινολογικά δεδομένα εξετάζονται στο τμήμα της εφαρμογής το οποίο αναπτύχθηκε με γνώμονα τις δραστηριότητες που αφορούν το έργο LIFE GENMON και απαιτεί λογαριασμό πρόσβασης. Σε αυτήν την ενότητα μπορούν να ληφθούν φαινολογικά στοιχεία από τη βάση δεδομένων και να συγκριθούν μεταξύ τοποθεσιών και ετών. Ομοίως με την ανάλυση των γενετικών δεδομένων, είναι επίσης δυνατό να δημιουργηθεί μια αναφορά για αυτές τις αναλύσεις.

Όλες οι αναλύσεις εντός της εφαρμογής διεξάγονται με το πάτημα ενός πλήκτρου - χωρίς να απαιτείται καμία εξειδίκευση στην R. Η εκτέλεση του κώδικα R γίνεται στο παρασκήνιο και μόνο τα γραφήματα και οι πίνακες που παράγονται εμφανίζονται στον χρήστη. Για λόγους διαφάνειας και επαναληψιμότητας, ο χρήστης μπορεί να έχει πρόσβαση και στα υποκείμενα αρχεία κώδικα εντολών R που χρησιμοποιούνται.

6.5.5 Ανάλυση δεδομένων δοκιμών φυτρωτικότητας σπερμάτων

6.5.5.1 Επαληθευτές

6.5.5.1.1 Ποσοστό πλήρων σπερμάτων

Θεωρητικό υπόβαθρο

Η εκτίμηση του ποσοστού πλήρων σπερμάτων πραγματοποιείται ανά δέντρο από το οποίο έχουν ληφθεί δείγματα καρπών / σπερμάτων. Μια μεταβολή στο ποσοστό των πλήρων σπερμάτων μεταξύ πληθυσμιακών ομάδων υποδηλώνει μια πιθανή πίεση φυσικής επιλογής (στην περίπτωση μείωσης) ή μια ένδειξη ανάκαμψης (σε περίπτωση αύξησης). Το ποσοστό των πλήρων σπερμάτων είναι επίσης μια σημαντική παράμετρος στην ερμηνεία των τιμών του αποτελεσματικού μεγέθους πληθυσμού των ενηλίκων ατόμων.

Υπολογισμός

Η εκτίμηση βασίζεται στον αριθμό των πλήρων σπερμάτων από ένα τυχαίο δείγμα σπερμάτων (συνήθως 400) τα οποία χρησιμοποιούνται για τη δοκιμή φυτρωτικότητας (GT) ή τη δοκιμή βιοχημικής βιωσιμότητας (TT), μετασχηματισμένο σε ποσοστό. Το ποσοστό των πλήρων σπερμάτων μπορεί επίσης να υπολογιστεί ως (1 - ποσοστό πλήρων σπερμάτων), το οποίο καθορίζεται επίσης στο τέλος της GT ή της TT.

6.5.5.1.2 Ποσοστό φυτρωτικότητας

Θεωρητικό υπόβαθρο

Το ποσοστό φυτρωτικότητας υποδηλώνει την αναλογία, όσον αφορά τον αριθμό των σπερμάτων, που έχουν παραγάγει φυτά τα οποία ταξινομούνται ως φυσιολογικά υπό τις ειδικές για κάθε είδος συνθήκες και εντός της καθορισμένης χρονικής περιόδου (ISTA 2020). Η δοκιμή φυτρωτικότητας χρησιμοποιείται γενικά για να εκτιμηθεί το ποσοστό σπερμάτων τα οποία αναμένεται να βλαστήσουν υπό ευνοϊκές συνθήκες και να παράγουν φυσιολογικά φυτά, τα οποία θα έχουν τις ζωτικές δομές (ρίζες, βλαστοί και επαρκή αποθέματα θρεπτικών ουσιών) και θα είναι ικανά να αναπτυχθούν σε αναπαραγωγικά ώριμα φυτά. Λαμβάνονται τυχαία από το καθαρό μείγμα σπερμάτων 400 σπέρματα σε επαναλήψεις των 100 (ISTA 2020). Η διάρκεια της δοκιμής είναι διαφορετική για κάθε δασοπονικό είδος και - εάν είναι απαραίτητο - μπορεί να παραταθεί σύμφωνα με τους κανόνες ISTA. Κάθε φυτάριο θα πρέπει να αξιολογείται σύμφωνα με τις σχετικές γενικές αρχές (ISTA 2020). Όταν τέσσερις επαναλήψεις των 100 σπερμάτων μιας δοκιμής είναι εντός του μέγιστου ανεκτού εύρους, ο μέσος όρος τους αντιπροσωπεύει το ποσοστό φυτρωτικότητας που θα πρέπει να αναφερθεί. Τα σπέρματα που δεν έχουν βλαστήσει μέχρι το τέλος της περιόδου δοκιμής, όταν δοκιμάζονται υπό τις συνιστώμενες συνθήκες ταξινομούνται ως εξής: σκληρά σπέρματα, φρέσκα σπέρματα, νεκρά σπέρματα, άλλες κατηγορίες (σε ορισμένες περιπτώσεις άδεια σπέρματα και σπέρματα τα οποία δεν έχουν βλαστήσει μπορούν να κατηγοριοποιηθούν περαιτέρω σύμφωνα με τις κατηγορίες που περιγράφονται στους κανόνες ISTA (2020).

Υπολογισμός

Το αποτέλεσμα της δοκιμής φυτρωτικότητας υπολογίζεται ως ο μέσος όρος τεσσάρων επαναλήψεων 100 σπερμάτων. Εκφράζεται ως ποσοστό επί του αριθμού των φυσιολογικών φυταρίων. Το ποσοστό υπολογίζεται στον πλησιέστερο ακέραιο αριθμό (η τιμή 0,5 στρογγυλοποιείται προς την υψηλότερη τιμή). Το ποσοστό των ακανόνιστα ανεπτυγμένων φυταρίων, σκληρών, φρέσκων, νεκρών και κενών σπερμάτων υπολογίζεται με τον ίδιο τρόπο. Το άθροισμα του ποσοστού των φυσιολογικών, μη φυσιολογικών φυταρίων και των σπερμάτων που δεν έχουν βλαστήσει πρέπει να είναι 100 (ISTA 2020).

Εναλλακτικά αντί της δοκιμής φυτρωτικότητας μπορεί να εφαρμοστεί μια δοκιμή τετραζολίου (ΤΤ) (βιοχημική δοκιμή βιωσιμότητας) για δασοπονικά είδη τα οποία παρουσιάζουν μακροχρόνιο λήθαργο των σπερμάτων. Ομοίως, τέσσερις επαναλήψεις των 100 σπερμάτων χρησιμοποιούνται και υποβάλλονται σε επεξεργασία όπως περιγράφεται λεπτομερώς στους κανόνες ISTA (2020). Ο αριθμός των σπερμάτων που θεωρούνται βιώσιμοι προσδιορίζεται σε κάθε επανάληψη και το ποσοστό των βιώσιμων σπερμάτων υπολογίζεται όπως αναφέρεται παραπάνω. Τα ποσοστά των μη βιώσιμων σπερμάτων και των κενών σπερμάτων υπολογίζονται με τον ίδιο τρόπο.

6.5.6 Οι θεμελιώδεις επαληθευτές

Για τη μελέτη των διαδικασιών που αφορούν τη ΓΠΔ, οι τρεις δείκτες (φυσική επιλογή, γενετική ποικιλότητα, ροή γονιδίων-σύστημα συζεύξεως) αξιολογούνται βάσει ενός αριθμού επαληθευτών οι οποίοι κατηγοριοποιούνται ως τυπικοί επαληθευτές ή ως επιπλέον πληροφορίες. Επιπροσθέτως οι επαληθευτές διαφοροποιούνται όσον αφορά το επίπεδο παρακολούθησης - βασικό, τυπικό ή προχωρημένο. Μεταξύ όλων των επαληθευτών, τρεις επαληθευτές θεωρούνται «θεμελιώδεις», δηλαδή εκτιμώνται ως υψηλότερης σημασίας έναντι των υπολοίπων. Ο καθορισμός θεμελιωδών επαληθευτών έχει ιδιαίτερη σημασία στο πλαίσιο της ερμηνείας των τιμών για τη γενετική παρακολούθηση (βλέπε Κεφάλαιο 6.5.7 παρακάτω).

Για τον δείκτη «επιλογή», οι πιο σημαντικοί επαληθευτές για την αξιολόγηση του δείκτη είναι εκείνοι που προτείνονται για το βασικό επίπεδο. Μεταξύ αυτών θεωρείται ότι η αφθονία της φυσικής αναγέννησης έχει προτεραιότητα. Η αφθονία της φυσικής αναγέννησης αντικατοπτρίζει την αρμοστικότητα στο επίπεδο της συστάδας. Αποτελεί το υλοποιημένο αποτέλεσμα της ανθοφορίας, της καρποφορίας, της κατάστασης των σπερμάτων και της αναγέννησης, ενώ η παρουσία της επιτρέπει την αναπλήρωση των απωλειών λόγω θνησιμότητας της ενήλικης πληθυσμιακής ομάδας. Για αυτούς τους λόγους, ο συγκεκριμένος επαληθευτής έχει θεωρηθεί ως ο θεμελιώδης επαληθευτής για τον δείκτη «επιλογή».

Για τον δείκτη «γενετική ποικιλότητα» οι πιο σημαντικοί επαληθευτές είναι εκείνοι που προτείνονται στο τυπικό επίπεδο. Μεταξύ αυτών, κρίθηκε ότι το αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού έχει προτεραιότητα. Η μείωση του αποτελεσματικού μεγέθους του πληθυσμού κάτω από τα αποδεκτά επίπεδα συνδέεται με την ενεργοποίηση στοχαστικών πληθυσμιακών διαδικασιών, αλλά και την αύξηση των επιπέδων ομομιξίας, με αποτέλεσμα η επίδραση της γενετικής εκτροπής να υπερκεράζει την κατεύθυνση που ορίζει η φυσική επιλογή. Από αυτή την άποψη, η σημασία του για την αξιολόγηση της γενετικής παρακολούθησης καθίσταται πρωταρχικής σημασίας. Για αυτούς τους λόγους, ο συγκεκριμένος επαληθευτής έχει θεωρηθεί ως ο θεμελιώδης επαληθευτής για το δείκτη «γενετική ποικιλότητα».

Για τον δείκτη «ροή γονιδίων – σύστημα συζεύξεως» όλοι οι προτεινόμενοι επαληθευτές μελετώνται στο προχωρημένο επίπεδο ΓΠΔ. Μεταξύ αυτών, κρίθηκε ότι το ποσοστό πραγματικής ομομιξίας έχει προτεραιότητα. Αυτή η παράμετρος λαμβάνει υπόψη τόσο το ποσοστό ομομιξίας με βάση τα μοριακά δεδομένα, όσο και το ποσοστό των πλήρων σπερμάτων, το οποίο αντικατοπτρίζει την ύπαρξη πιθανού ομομικτικού εκφυλισμού. Για αυτούς τους λόγους, το ποσοστό πραγματικής ομομιξίας έχει θεωρηθεί ως ο θεμελιώδης επαληθευτής του δείκτη «ροή γονιδίων – σύστημα συζεύξεως».

6.5.7 Ερμηνεία των τιμών: σταδιακή απόκριση με βάση την αλλαγή σε 10 χρόνια

Η γενετική παρακολούθηση γενικά αντιμετωπίζει σήμερα τρεις βασικούς περιορισμούς και προκλήσεις: (α) την έλλειψη ιστορικών δεδομένων, (β) τη χρήση έμμεσων παραμέτρων για την εκτίμηση της γενετικής ποικιλότητας και (γ) την απουσία καθιερωμένων πρωτοκόλλων για τη σύγκριση δεικτών γενετικής παρακολούθησης σε κατά χρόνο τάξη. Εδώ επικεντρωνόμαστε στον τρίτο περιορισμό, δεδομένου ότι οι δύο πρώτοι αντιμετωπίζονται στο παρόν σύστημα ΓΠΔ εξ ορισμού: η ΓΠΔ αυτή καθαυτή συσσωρεύει ιστορικά δεδομένα και επιπλέον χρησιμοποιεί πραγματικές τιμές γενετικής ποικιλότητας, αντί για έμμεσες εκτιμήσεις. Από αυτή την άποψη, η γενετική παρακολούθηση λειτουργεί με βάση σημεία αναφοράς και τη σύγκριση τους και όχι με τη χρήση τιμών κατωφλίου. Τα σημεία αναφοράς είναι συγκεκριμένες τιμές μετρήσιμων ιδιοτήτων βιολογικών συστημάτων που χρησιμοποιούνται ως στόχοι για τη διαχείριση των δασικών γενετικών πόρων και τη διατύπωση επιστημονικών συμβουλών, ενώ οι απόλυτες τιμές κατωφλίου (ή σημεία ενεργοποίησης), είναι ακριβή σημεία αναφοράς που προκαλούν ανησυχία για θέματα προστασίας ως προς μη αποδεκτούς κινδύνους ή μη αναστρέψιμης βλάβης (Grant 2007). Ο προσδιορισμός των τιμών κατωφλίου μπορεί να είναι δυσχερής καθώς οι τιμές κατωφλίου ορίζονται διαφορετικά κατά περίπτωση και διαφέρουν εν δυνάμει μεταξύ των ειδών (Flanagan *et al.* 2018, Atkinson *et al.* 2004). Επομένως, προτιμάται η στατιστικά σημαντική ή / και η κρίσιμη διαφορά των τιμών μεταξύ χρονικών σημείων αναφοράς, λαμβάνοντας όμως υπόψη ότι μια τέτοια κρίσιμη διαφορά αποτελεί αφ' εαυτοίς μια τιμή κατωφλίου.

Αρκετοί συγγραφείς έχουν τονίσει τη σημασία του καθορισμού τιμών κατωφλίου, ή κρίσιμων τιμών διαφοράς, στη γενετική παρακολούθηση (Aravanopoulos 2011, Bruford *et al.* 2017, Namkoong, *et al.* 2002, Leroy *et al.* 2018, Hoban *et al.* 2014). Δεν είναι ασυνήθιστο να ανιχνεύονται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ διαφορετικών πληθυσμών ή στον ίδιο πληθυσμό σε διαφορετικά χρονικά σημεία. Για να λειτουργήσει η γενετική παρακολούθηση ως σύστημα έγκαιρης προειδοποίησης γενετικών διαφορών, αυτές θα πρέπει να είναι στατιστικά σημαντικές σε κατά χρόνο τάξη και επιπλέον το μέγεθος της διαφοράς να είναι εξέχον ώστε να προκαλέσει ανησυχία. Αυτό το μέγεθος (κρίσιμη διαφορά ή τιμές κατωφλίου μεταξύ διαφορετικών χρονικά αξιολογήσεων) ορίζεται για κάθε επαληθευτή βάσει προηγούμενων συστάσεων, κυρίως από την υπάρχουσα (περιορισμένη) βιβλιογραφία, τη γνώμη των εμπειρογνομόνων και τις *ad hoc* αξιολογήσεις. Η επαναδειγματοληψία με χρήση όλων των γενετικών δεικτών για 1000 επαναλήψεις από τις οποίες υπολογίζεται το διάστημα εμπιστοσύνης, αποτελεί τον καταλληλότερο τρόπο για τον στατιστικό έλεγχο της σύγκρισης μεταξύ των περισσότερων επαληθευτών που βασίζονται σε μοριακά δεδομένα (Peakall and Smouse 2006).

Η βιβλιογραφία εν γένει προσδιορίζει τρία επίπεδα κρίσιμης διαφοράς για συγκριτικούς σκοπούς: (α) στατιστικά σημαντικές διαφορές, (β) διαφορές που εκτός από το παραπάνω, η 2^η τιμή υπερβαίνει κατά $\geq 25\%$ την 1^η τιμή και (γ) διαφορές που πέραν της στατιστικής σημαντικότητας, η 2^η τιμή υπερβαίνει κατά $\geq 50\%$ την 1^η τιμή (Aravanopoulos 2011, 2016, Boyle 2000, Namkoong *et al.* 1996, Namkoong, *et al.* 2002).

Για τους περισσότερους επαληθευτές μια προσέγγιση ανάλυσης διακύμανσης (όπως π.χ. μια δοκιμή t), μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη δοκιμή στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των τιμών που λαμβάνονται κατά τις διαφορετικές χρονικές αξιολογήσεις. Η αντιμετώπιση ορισμένων επαληθευτών που εκ της φύσεως τους αποκλίνουν από την παραπάνω προσέγγιση συζητείται παρακάτω.

Πιθανές σημαντικές διαφορές για το επαληθευτή «συχνότητες αλληλομόρφων» μπορούν να δοκιμαστούν με τη δημιουργία πινάκων συνάφειας και τον υπολογισμό της δοκιμής Fisher ή εναλλακτικά της δοκιμής χ^2 (ή G). Η δοκιμή Fisher προτιμάται ως ένας ακριβής στατιστικός έλεγχος, ενώ η δοκιμή χ^2 είναι ένας κατά προσέγγιση έλεγχος και επιπλέον περιορίζεται από την ανάγκη της αναμενόμενης συχνότητας σε κάθε κελί του πίνακα να είναι $\geq 5,0$.

Ο επαληθευτής «αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού (N_e)» είναι μια εξαίρεση από τον κανόνα της χρήσης συγκριτικών σημείων αναφοράς. Σε αυτήν την περίπτωση, προτείνεται μια ελάχιστη τιμή κατωφλίου (ή ενεργοποίησης) της τάξεως του $N_e \geq 500$. Αυτή η τιμή βασίζεται στην επανεκτίμηση δημοσιευμένων ερευνών με πραγματικά δεδομένα, καθώς και μελετών προσομοίωσης, οι οποίες υποδηλώνουν ότι απαιτείται $N_e \geq 100$ για να περιοριστεί η απώλεια της συνολικής αρμοστικότητας (fitness) του πληθυσμού σε $<10\%$ μετά από πέντε γενιές,

ή καλύτερα μια τιμή $N_e \geq 500$ που θα αποτρέψει τη γενετική διάβρωση και θα διατηρήσει το προσαρμοστικό δυναμικό της γενετικής ποικιλότητας (Frankham *et al.* 2014, Hoban *et al.* 2014, Hoban *et al.* 2020, Leroy *et al.* 2018, Willoughby *et al.* 2017).

Ο επαληθευτής «ανισοροπία σύνδεσης (LD)» εμφανίζει δυνητικά τις περισσότερες δυσκολίες για να αξιολογηθεί με ακρίβεια. Η LD ποικίλλει μεταξύ πληθυσμών, ατόμων, χρωμοσωμάτων σε ένα άτομο, ακόμη και μεταξύ διαφορετικών περιοχών ενός χρωμοσώματος (Aravanopoulos 2014, Evans and Cardon 2005, Weiss and Clark 2002). Επομένως, είναι σημαντικό η χρονική σύγκριση να περιλαμβάνει τα ίδια γονίδια ή γονιδιωματικές περιοχές. Χρησιμοποιούνται δύο μετρήσεις της LD, το τετράγωνο του συντελεστή συσχέτισης Pearson r^2 (Hill και Robertson 1968) και ο τυποποιημένος συντελεστής ανισοροπίας σύνδεσης D' (Lewontin 1964). Η στατιστική τους σημαντικότητα ελέγχεται με το συντελεστή συσχέτισης Spearman (Evans και Cardon 2005).

Τα αποτελέσματα της γενετικής παρακολούθησης θα πρέπει να αξιολογούνται στο πλαίσιο των προκαθορισμένων κριτηρίων ως προς την ύπαρξη σημαντικών διαφορών (Aravanopoulos 2011, Flanagan *et al.* 2018). Γενικά δεν αναμένονται αξιόλογες διαφορές στις τιμές παραμέτρων (επαληθευτών). Ωστόσο, λαμβανομένων υπόψη των προτεινόμενων μεγεθών δείγματος, είναι πολύ πιθανό να βρεθούν αξιοσημείωτες και ίσως στατιστικά σημαντικές διαφορές τουλάχιστον στις δημογραφικές παραμέτρους. Η βιολογική ερμηνεία και η σημασία τέτοιων διαφορών θα πρέπει να τεκμηριωθεί πέραν της θεμελίωσης στατιστικά σημαντικών διαφορών, λαμβάνοντας υπόψη ότι η βιολογική τους σημασία απαιτεί αξιολόγηση των υποκείμενων βιολογικών (θεμελιωμένων στη θεωρία της Οικολογίας Γονιδίων) διαδικασιών που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της γενετικής παρακολούθησης. Παρακάτω παρουσιάζεται ένα σχέδιο για τον τρόπο αξιολόγησης των διαφορών στις χρονικές αξιολογήσεις σε διαφορετικά επίπεδα ΓΠΔ.

Πίνακας 6.10. Επίπεδα κρίσιμης διαφοράς μεταξύ των χρονικών αξιολογήσεων, των επιπέδων απόκρισης και της προτεινόμενης δράσης (σσδ: στατιστικά σημαντικές διαφορές).

Αρ.	Επίπεδο διαφοράς	Επίπεδο απόκρισης	Δράσεις
1	σσδ: εκτός του 95% διαστήματος εμπιστοσύνης	1 ^ο επίπεδο	Διαβούλευση με δασολόγους για την κατάσταση στο πεδίο
2	σσδ: 25% διαφορά από την προηγούμενη αξιολόγηση	2 ^ο επίπεδο	Αναθεώρηση των δασοκομικών και διαχειριστικών μέτρων, διευκόλυνση της φυσικής αναγέννησης
3	σσδ: 50% διαφορά από την προηγούμενη αξιολόγηση	3 ^ο επίπεδο	Εντατική παρακολούθηση στο πεδίο, εξέταση του ενδεχομένου <i>ex situ</i> διατήρησης

Όπως είναι αναμενόμενο, η ανεξαρτησία μεταξύ παραμέτρων δεν μπορεί να επιτευχθεί πλήρως και η αλληλεξάρτηση μεταξύ δεικτών και παραμέτρων δεν μπορεί να αποφευχθεί εντελώς. Προφανώς, ενδέχεται να υπάρχουν καταστάσεις όπου είναι δυνατόν να παρατηρηθούν αντιφατικά αποτελέσματα σε σχέση με κρίσιμες διαφορές επιπέδου (Namkoong *et al.* 2002, Aravanopoulos 2011). Από αυτήν την άποψη, ο ελάχιστος αριθμός επαληθευτών που όταν εμφανίζουν αρνητική τάση (στο 2ο ή στο 3ο επίπεδο ΓΠΔ) πρέπει να ληφθούν διορθωτικά μέτρα, παρουσιάζεται παρακάτω για κάθε επίπεδο:

Βασικό επίπεδο: Θνησιμότητα, αφθονία φυσικής αναγέννησης, καρποφορία, ανθοφορία: 3 στους 4 επαληθευτές πρέπει να δείχνουν αρνητική τάση, υπό την προϋπόθεση ότι η αφθονία φυσικής αναγέννησης είναι μία από αυτές.

Τυπικό επίπεδο: Οι 4 επαληθευτές που προέρχονται από το βασικό επίπεδο και επιπλέον: συχνότητες αλληλομόρφων, πλούτος αλληλομόρφων (για μοριακούς δείκτες SSR), ανισοροπία σύνδεσης (κυρίως για μοριακούς δείκτες SNP), λανθάνον γενετικό δυναμικό, συντελεστής ομομιξίας F_{IS} , αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού: 6 από τους 10 επαληθευτές πρέπει να παρουσιάζουν αρνητική τάση, εκ των οποίων η αφθονία φυσικής αναγέννησης και το αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού πρέπει να παρουσιάζουν αρνητική τάση.

Προχωρημένο επίπεδο: Οι 10 επαληθευτές που προέρχονται από το τυπικό επίπεδο και επιπλέον: γονιδιακή ροή, αναλογία σταυρογονιμοποίησης με βάση πολλαπλές γονιδιακές θέσεις, ποσοστό πραγματικής ομομιξίας: 8 από τους 13 επαληθευτές πρέπει να παρουσιάσουν αρνητική τάση, από τους οποίους η αφθονία φυσικής αναγέννησης, το αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού και το ποσοστό πραγματικής ομομιξίας, πρέπει να παρουσιάζουν αρνητική τάση.

Βιβλιογραφία

- Adamack AT, Gruber B (2014) PopGenReport: simplifying basic population genetic analyses in R. *Methods Ecol Evol* 5(4):384-387. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12158>
- Adams RP, Zhong M, Fei Y (1999) Preservation of DNA in plant specimens—inactivation and reactivation of DNAses in field specimens. *Mol Ecol* 8:681-683. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.1999.84600.x>
- Agarow PM, Burt A (2001) Indices of multilocus linkage disequilibrium. *Mol Ecol Notes* 1:101-102. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8278.2000.00014.x>
- Akaike H, Pazen E, K Tanabe, Kitagawa G (1998) Selected papers of Hirotugo Akaike. Springer Science & Business Media. <https://doi.org/10.1007/978-1-4612-1694-0>
- Albrechtsen A, Nielsen FC, Nielsen R (2010) Ascertainment biases in SNP chips affect measures of population divergence. *Mol Biol Evol* 27(11):2534-2547. <https://doi.org/10.1093/molbev/msq148>
- Alizoti PG, Kilimis K, Gallios P (2010) Temporal and spatial variation of flowering among *Pinus nigra* Arn. clones under changing climatic conditions. *For Ecol Manag* 259:786-797. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2009.06.029>
- Amos W, Hoffman JI, Frodsham A et al (2007) Automated binning of microsatellite alleles: problems and solutions. *Mol Ecol Notes* 7:10-14. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01560.x>
- Antao T, Pérez-Figueroa A, Luikart, G (2011) Early detection of population declines: high power of genetic monitoring using effective population size estimators. *Evol Appl* 4(1):144-154. <https://doi.org/10.1111/j.1752-4571.2010.00150.x>
- Applied biosystems/Thermo Fisher Scientific (2014) User guide: DNA fragment analysis by capillary electrophoresis, Revision B. Thermo Fisher Scientific Inc., Carlsbad
- Applied biosystems/Thermo Fisher Scientific/Hitachi (2010) Applied Biosystems 3500/3500xL Genetic Analyzer User Guide. Thermo Fisher Scientific Inc., Carlsbad
- Apsit VJ, Dyer RJ, Sork VL (2002) Patterns of mating in an insect-pollinated tree species in the Missouri Ozark Forest Ecosystem Project. In: Shifley SR Kabrick, JM, (eds) Proceedings of the Second Missouri Ozark Forest Ecosystem Project Symposium: Post-treatment Results of the Landscape Experiment. Gen. Tech. Rep. NC-227. St. Paul, MN: U.S. Dept. of Agriculture, Forest Service, North Central Forest Experiment Station, pp 212-226
- Aravanopoulos FA (2011) Genetic monitoring in natural perennial plant populations. *Botany* 89(2):75-81. <https://doi.org/10.1139/b10-087>
- Aravanopoulos FA (2014) Genomics of Trees. In: Ramawat KG, Merillon JM, Ahuja MR (eds) Tree Biotechnology. CRC Press, Boca Raton, pp 514-557
- Aravanopoulos FA (2016) Conservation and monitoring of tree genetic resources in temperate forests. *Curr For Rep* 2(2):29-119. <https://doi.org/10.1007/s40725-016-0038-8>
- Aravanopoulos FA, Zsuffa L (1998) Heterozygosity and biomass production in *Salix eriocephala*. *Heredity* 81:396-403. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.1998.00409.x>
- Askew GR, Blush ThD (1990) Short note: An index of phenological overlap in flowering for clonal conifer seed orchards. *Silvae Genet* 39(3-4): 168-171.
- Atkinson AJ, Trenham PC, Fisher RN, Hathaway SA, Johnson BS, Torres SG, Moore YC (2004) Designing monitoring programs in an adaptive management context for regional multiple species conservation plans. U.S. Geological Survey Technical Report, USGS Western Ecological Research Center, Sacramento
- Bada JL, Wang XYS, Hamilton H (1999) Preservation of key biomolecules in the fossil record - current knowledge and future challenges. *Philos Trans R Soc Lond, B, Biol Sci* 354(1379):77-86. <https://doi.org/10.1098/rstb.1999.0361>
- Baptiste A (2020) GridExtra: Miscellaneous functions for 'grid' graphics. R Package Version 2.3. <http://cran.r-project.org/package=gridExtra>. Accessed 28 October 2020
- Barnett B, Lewis T (1978) Outliers in statistical data. Wiley, New York
- Barrett SCH, Yakimowski SB, Field DL, Pickup M (2010) Ecological genetics of sex ratios in plant populations. *Philos Trans R Soc Lond, B, Biol Sci* 365(1552):2549-2557. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0002>

- Barton NH, Slatkin M (1986) A quasi-equilibrium theory of the distribution of rare alleles in a subdivided population. *Heredity*, 56(3):409. <https://doi.org/10.1038/hdy.1986.63>
- Belletti P, Ferrazzini D, Piotti A, Monteleone I, Ducci F (2012) Genetic variation and divergence in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) within its natural range in Italy. *Eur J Forest Res* 131:1127–1138. <https://doi.org/10.1007/s10342-011-0584-3>
- Benestan L, Gosselin T, Perrier C, Sainte-Marie B, Rochette R, Bernatchez L (2015) RAD genotyping reveals fine-scale genetic structuring and provides powerful population assignment in a widely distributed marine species, the American lobster (*Homarus americanus*). *Mol Ecol* 24 (13):3299–3315. <https://doi.org/10.1111/mec.13245>
- Bengtsson H (2014) MatrixStats: Methods That Apply to Rows and Columns of a Matrix. R Package Version 0.10.1. rdrv.io. <https://rdrv.io/rforge/matrixStats/man/matrixStats-package.html>. Accessed 17 November 2020
- Benjamini Y, Hochberg Y (1995) Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Stat Soc Series B Stat Methodol* 57(1):289–300
- Bergmann F, Gregorius HR, Larsen JB (1990) Levels of genetic variation in European Silver fir (*Abies alba*) - Are They Related to the Species Decline? *Genetica* 82(1):1–10. <https://doi.org/10.1007/BF00057667>.
- Beuker E, Raspe S, Bastrup-Birk A, Preuhsler T (2010) Phenological Observations. Manual Part VI. In: Manual on methods and criteria for harmonized sampling, assessment, monitoring and analysis of the effects of air pollution on forests. UNECE, ICP Forests, Hamburg
- Boyle TJ (2000) Criteria and indicators for the conservation of genetic diversity. In: Young A, Boshier T, Boyle T (eds) Forest conservation genetics. CSIRO Publ., Collingwood, pp 239–251
- Briggs DEG (1999) Molecular taxonomy of animal and plant cuticles – selective preservation and diagenesis. *Philos Trans R Soc Lond, B, Biol Sci* 354:7–16. <https://doi.org/10.1098/rstb.1999.0356>
- Brousseau L, Postolache D, Lascoux M, Drouzas A D, Källman T, Leonarduzzi C, Liepelt S, et al (2016) Local adaptation in European Firs assessed through extensive sampling across altitudinal gradients in Southern Europe. *PLoS ONE* 11(7):1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158216>
- Brownie J, Shawcross S, Theaker J, Whitcombe D, Ferrie R, Newton C, Little S (1997) The elimination of primer-dimer accumulation in PCR. *Nucleic Acids Res* 25:3235–3241. <https://dx.doi.org/10.1093/nar/25.16.3235>
- Bruford MW, Davies N, Dulloo ME, Faith DP and M Walters (2017) Monitoring changes in genetic diversity. In: Walters M, Scholes RJ (eds) The GEO handbook on biodiversity observation networks, Springer Nature, Switzerland, pp 107–128
- Buchan JC, Archie EA, Van Horn RC, Moss CJ, Alberts SC (2005) Locus effects and sources of error in noninvasive genotyping. *Mol Ecol Notes* 5:680–683. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01002.x>
- Buchholz K, Pickering, JL (1978) DBH-distribution analysis: an alternative to stand-age analysis. *Bull Torrey Bot Club* 105(4):1–282. <https://doi.org/10.2307/2484921>
- Burczyk J, DiFazio, SP, Adams WT (2004). Gene flow in forest trees: how far do genes really travel? *Forest Genetics* 11(3–4):179.
- Butler JM (2005a) Constructing STR multiplex assays. In: Carracedo A (ed) Forensic DNA typing protocols. *Methods in Molecular Biology*, Humana Press, pp 53–65.
- Butler JM (2005b) Forensic DNA typing: biology, technology, and genetics of STR Markers. Elsevier Academic Press, London
- Campbell LD, Astrin JJ, DeSouza Y, Giri J, Patel AA, Rawley-Payne M, Rush A and Sieffert N (2018) The 2018 Revision of the ISBER Best Practices: Summary of Changes and the Editorial Team’s Development Process. *Biopreservation and Biobanking* 16(1): 3–6. <https://doi.org/10.1089/bio.2018.0001>
- Center for Plant Conservation (2020) Guidelines for Tissue Collection and Storage Related to Genetic Studies of Rare Plants. CPC Best Plant Conservation Practices to Support Species Survival in the Wild. <https://plantnucleus.com/best-practices/guidelines-tissue-collection-and-storage-related-genetic-studies-rare-plants>. Accessed 25 November 2020
- Chamberlain JS, Gibbs RA, Rainer JE, Nguyen PN, Thomas C (1988) Deletion screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification. *Nucleic Acids Res* 16:11141–11156. <https://dx.doi.org/10.1093/nar/16.23.11141>
- Chambers GK, MacAvoy ES (2000) Microsatellites: consensus and controversy. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 126:455–476. [https://doi.org/10.1016/s0305-0491\(00\)00233-9](https://doi.org/10.1016/s0305-0491(00)00233-9)
- Chapuis M, Lecoq M, Michalakakis Y, Loiseau A, Sword GA, Piry S, Estoup A (2008) Do outbreaks affect genetic population structure? A worldwide survey in *Locusta migratoria* a pest plagued by microsatellite null alleles. *Mol Ecol* 17:640–663. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03869.x>
- Charlesworth B (2009) Effective population size and patterns of molecular evolution and variation. *Nat Rev Genet* 10(3):195–205. <https://doi.org/10.1038/nrg2526>

- Chase M, Hills J (1991) Silica gel: an ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies. *Taxon* 40:215-220. <https://doi.org/10.2307/1222975>
- Cipriani G, Marrazzo MT, Di Gaspero G et al (2008) A set of microsatellite markers with long core repeat optimized for grape (*Vitis* spp.) genotyping. *BMC Plant Biol* 8:1-127. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-8-127>
- Clarke LA, Rebelo CS, Gonçalves J, Boavida MG, Jordan P (2001) PCR amplification introduces errors into mononucleotide and dinucleotide repeat sequences. *Mol Pathol* 54 (5):351-353. <https://doi.org/10.1136/mp.54.5.351>
- Csilléry K, Lalagüe H, Vendramin GG, González-Martínez SC, Fady B, Oddou-Muratorio S (2014) Detecting short spatial scale local adaptation and epistatic selection in climate-related candidate genes in European beech (*Fagus sylvatica*) populations. *Mol Ecol* 23(19):4696-4708. <https://doi.org/10.1111/mec.12902>
- Csilléry K, Ovaskainen O, Sperisen C, Buchmann N, Widmer A, Gugerli F (2020) Adaptation to local climate in multi-trait space: evidence from Silver fir (*Abies alba* Mill.) populations across heterogeneous environment. *Heredity* 124(1):77-92. <https://doi.org/10.1038/s41437-019-0240-0>
- Dąbrowski MJ, Bornelöv S, Kruczyk M, Baltzer N, Komorowski J (2015) True null allele detection in microsatellite loci: a comparison of methods, assessment of difficulties and survey of possible improvements. *Mol Ecol Res* 15(3):477-488. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12326>
- Dakin EE, Avise JJ (2004) Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity* 93(5):504-509. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800545>
- De Vitis M, Hay FR, Dickie, JB, Trivedi C, Choi J, Fiegenger R. (2020). Seed storage: maintaining seed viability and vigor for restoration use. *Restor Ecol* 28(S3):S249-S255 <https://doi.org/10.1111/rec.13174>
- Del Castillo RF, Trujillo S (2008) Effect of inbreeding depression on outcrossing rates among populations of a tropical pine. *New Phytol* 177(2):517-524. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02260.x>
- Dellaporta SL, Wood J, Hicks JB (1983) A plant DNA miniprep: version II. *Plant Mol Biol Rep* 1:19-21. <https://doi.org/10.1007/BF02712670>
- Demeke T, Jenkins GR (2010) Influence of DNA extraction methods, PCR inhibitors and quantification methods on real-time PCR assay of biotechnology-derived traits. *Anal Bioanal Chem* 396(6):1977-1990. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3150-9>
- Dewoody J, Nason JD, Hipkins VD (2006) Mitigating scoring errors in microsatellite data from wild populations: Review. *Mol Ecol Notes* 6(4):951-957. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01449.x>
- Doyle JJ, Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissue. *Phyto Bull* 19:11-15.
- Dray S, Dufour AB (2007) The Ade4 package: implementing the duality diagram for ecologists. *J Stat Soft* 22(4):1-20. <https://doi.org/10.18637/jss.v022.i04>
- Ducci F, De Cuyper B, Pâques LE, Proietti R, Wolf H (2012) Reference protocols for assessment of trait and reference genotypes to be used as standards in international research projects. CRA SEL-Arezzo, Italy
- Dupuis JR, Jeffrey CO, Brunet BMT, Longcore T, Johnson JJ, Sperling FAH (2018) Genomic data indicate ubiquitous evolutionary distinctiveness among populations of California metalmark butterflies. *Conserv Genet* 19 (5):1097-1108. <https://doi.org/10.1007/s10592-018-1081-8>
- Edwards A, Civitello A, Hammond HA, Caskey CT (1991) DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am J Hum Genet* 49:746-756.
- Edwards MC, Gibbs RA. 1994. Multiplex PCR: advantages, development, and applications. *PCR Meth Appl* 3:65-75. <https://doi.org/10.1101/gr.3.4.s65>
- Eizaguirre C, Baltazar-Soares M (2014) Evolutionary conservation-evaluating the adaptive potential of species. *Evol Appl* 7(9):963-967. <https://doi.org/10.1111/eva.12227>
- Elnifro EM, Ashshi AM, Cooper RJ, Klapper PE (2000) Multiplex PCR: optimization and application in diagnostic virology. *Clin Microbiol Rev* 13:559-570. <https://doi.org/10.1128/cmr.13.4.559-570.2000>
- Estoup A, Garnery L, Solignac M, Cornuet JM (1995) Microsatellite variation in honeybee (*Apis mellifera* L.) populations: hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. *Genetics*, 140:679-695.
- Estoup A, Wilson IJ, Sullivan C, Cornuet JM, Moritz C (2001) Inferring population history from microsatellite and enzyme data in serially introduced cane toads, *Bufo marinus*. *Genetics* 159(4):1671-1687.
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 14: 2611-2620. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x
- Evans DM, LR Cardon (2005) A comparison of linkage disequilibrium patterns and estimated population recombination rates across multiple populations. *Am J Hum Genet* 76:681-687. <https://doi.org/10.1086/429274>
- Ewen KR, Bahlo M, Treloar SA et al (2000) Identification and analysis of error types in high-throughput genotyping. *Am J Hum Genet* 67:727-736. <https://doi.org/10.1086/303048>

- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver. 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Res* 10 (3):564-567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- Fazekas AJ, Steeves R, Newmaster SG (2010) Improving sequencing quality from PCR products containing long mononucleotide repeats. *BioTechniques* 48:277-281. <https://doi.org/10.2144/000113369>
- Fischer MC, Foll M, Excoffier L, Heckel G (2011) Enhanced AFLP genome scans detect local adaptation in high-altitude populations of a Small rodent (*Microtus arvalis*). *Mol Ecol* 20(7):1450-1462. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05015.x>
- Fisher RA (1930) *The genetical theory of natural selection*, Oxford University Press, London
- Flanagan SP, Forester BR, Latch EK, Aitken SN, Hoban S (2018) Guidelines for planning genomic assessment and monitoring of locally adaptive variation to inform species conservation. *Evol Appl* 11:1035-1052. <https://doi.org/10.1111/eva.12569>
- Flores-Rentería L, Krohn A (2013) Scoring microsatellite loci. *Microsatellites*. In: Kantartzi SK (ed) *Methods in Molecular Biology*. Humana Press, Totowa, pp 319-336
- Flores-Rentería L, Whipple AV (2011) A new approach to improve the scoring of mononucleotide microsatellite loci. *Am J Bot* 98 (3):e51–e53. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000428>
- Francis RM (2017) Pophelper: An R package and web app to analyse and visualize population structure. *Mol Ecol Res* 17(1):27-32. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12509>
- Frankham R, Bradshaw CJ, Brook BW (2014) Genetics in conservation management: Revised recommendations for the 50/500 rules, Red List criteria and population viability analyses. *Biol Conserv* 170:56-63. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2013.12.036>
- Funk WC, McKay JK, Hohenlohe PA, Allendorf FW (2012) Harnessing genomics for delineating conservation units. *Trends Ecol Evol* 27(9):489-496. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2012.05.012>
- Fussi B, Westergren M, Aravanopoulos F, Baier R, Kavaliauskas D, Finžgar D, Alizoti P, Božič G, Avramidou E, Konner M, Kraigher H (2016) Forest genetic monitoring: an overview of concepts and definitions. *Environ Monit Assess* 188(8):1-12. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5489-7>
- Gagneux, P, Boesch C, Woodruff DC (1997) Microsatellite scoring errors associated with non-invasive genotyping based on nuclear DNA amplified from shed hair. *Mol Ecol* 6(9):861–68. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1997.tb00140.x>
- Galan M, Cosson JF, Aulagnier S, Maillard JC, Thévenon S, Hewison AJM (2003) Cross-amplification tests of ungulate primers in roe deer (*Capreolus capreolus*) to develop a multiplex panel of 12 microsatellite loci. *Mol Ecol Notes* 3:142-146. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2003.00384.x>
- Gerard FF, George CT, Hayman G, Chavana-Bryant C, Weedon GP (2020) Leaf phenology amplitude derived from MODIS NDVI and EVI: maps of leaf phenology synchrony for Meso- and South America. *Geosci Data J* 7(1):13-26. <https://doi.org/10.1002/gdj3.87>
- Ghosh S, Karanjawala ZE, Hauser ER et al (1997) Methods for precise sizing, automated binning of alleles, and reduction of error rates in largescale genotyping using fluorescently labelled dinucleotide markers.
- Goudet J (2005) Hierfstat, a package or R to compute and test hierarchical F-statistics. *Mol Ecol Notes* 2:184-186. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00828.x>
- Grant WS (2007) Status and trends in genetic resources of captured fisheries. In: Bartley DM, Harvey BJ, Pullin RSV (eds) *Workshop on status and trends in aquatic genetic resources*. FAO Publ., Rome, pp 29-81
- Gregorius H (1978) The concept of genetic diversity and its formal relationship to heterozygosity and genetic distance. *Math Biosci* 41(3–4):253-71. [https://doi.org/10.1016/0025-5564\(78\)90040-8](https://doi.org/10.1016/0025-5564(78)90040-8)
- Gregorius HR, Krauhausen J, Müller-Starck G (1986) Spatial and temporal genetic differentiation among the seed in a stand of *Fagus sylvatica* l. *Heredity* 57:255-262. <https://doi.org/10.1038/hdy.1986.116>
- Gross A, Holdenrieder O, Pautasso M, Queloz V, Sieber TN (2013) *Hymenoscyphus pseudoalbidus*, the causal agent of European ash dieback. *Mol Plant Pathol* 15(1):5-21. <https://doi.org/10.1111/mpp.12073>
- Gruber B, Unmack PJ, Berry OF, Georges A (2018) Dartr: An R package to facilitate analysis of SNP data generated from reduced representation genome sequencing. *Mol Ecol Res* 18(3):691-699. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12745>
- Guichoux E, Lagache L, Wagner S, Chaumeil P, LéGer P, Lepais O, Lepoittevin C, Malausa T, Revardel E, Salin F et al (2011) Current trends in microsatellite genotyping. *Mol Ecol Res* 11:591-611. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03014.x>
- Gusmão L, Butler JM, Carracedo A et al (2006) DNA commission of the international society of forensic genetics (ISFG):an update of the recommendations on the use of Y-STRs in forensic analysis. *Int J Legal Med* 20:191-200. <https://doi.org/10.1007/s00414-005-0026-1>

- Hahn M, Wilhelm J, Pingoud A (2001) Influence of fluorophore dye labels on the migration behaviour of polymerase chain reaction-amplified short tandem repeats during denaturing capillary electrophoresis. *Electrophoresis* 22:2691-2700. [https://doi.org/10.1002/1522-2683\(200108\)22:13](https://doi.org/10.1002/1522-2683(200108)22:13)
- Harper AL, Mckinney LV, Nielsen LR, Havlickova L, Li Y, Trick M, Bancroft I (2016) Molecular markers for tolerance of European ash (*Fraxinus excelsior*) to dieback disease identified using Associative Transcriptomics. *Sci Rep* 6(1):1-7. <https://doi.org/10.1038/srep19335>
- Hartmann C, Lennartz K, Ibrahim H, Coz A, Kasper Y, Lenz C, Mathur D, Polidori M (2016) Application note: stable 16-year storage of DNA purified with the QIAamp® DNA Blood Mini Kit. Qiagen GmbH. <https://www.qiagen.com/us/resources/download.aspx?id=705c6944-4633-4101-8500-a6642d253a0e&lang=en> Accessed 1 October 2020
- Hartzell B, Graham K, McCord B (2003) Response of short tandem repeat systems to temperature and sizing methods. *Forensic Sci Int* 133:228-234. [https://doi.org/10.1016/s0379-0738\(03\)00074-4](https://doi.org/10.1016/s0379-0738(03)00074-4)
- Hatterer HH (1991) Genetic variation in European populations of forest trees. In: Müller-Starck G, Ziehe M (eds) J.D. Sauerlander's Verlag, Frankfurt am Main, pp 271
- Hay FR, Smith RD (2003) Seed maturity: when to collect seeds from wild plants. In: Smith RD, Dickie JB, Linington SH, Pritchard HW, Probert RJ (eds) Seed conservation: turning science into practice. The Royal Botanic Gardens Kew, Richmond, pp 97-133
- Heer K, Behringer D, Piermattei A, Bässler C, Brandl R, Fady B, Jehl H, et al (2018) Linking dendroecology and association genetics in natural populations: stress responses archived in tree rings associate with SNP genotypes in Silver fir (*Abies alba* Mill.). *Mol Ecol* 27(6):1428-1438. <https://doi.org/10.1111/mec.14538>
- Hill CR, Butler JM, Vallone PM (2009) A 26plex autosomal STR assay to aid human identity testing. *J Forensic Sci* 54:1008-1015. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2009.01110.x>
- Hill WG (1981) Estimation of effective population size from data on linkage disequilibrium. *Genet Res* 38(3):209-216. <https://doi.org/10.1017/S0016672300020553>
- Hill WG, Robertson A (1968) Linkage disequilibrium in finite populations. *Theor Appl Genet* 38:226-231. <https://doi.org/10.1007/BF01245622>
- Hoban S, Arntzen J A, Bruford MW, Godoy JA, Rus Hoelzel A, Segelbacher G, Bertorelle G et al (2014) Comparative evaluation of potential indicators and temporal sampling protocols for monitoring genetic erosion. *Evol Appl* 7:984-998. <https://doi.org/10.1111/eva.12197>
- Hoban S, Bruford M, D'Urban JJ et al (2020): Genetic diversity targets and indicators in the CBD post-2020 Global Biodiversity Framework must be improved. *Biol Conserv* 248:108654. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108654>
- Hoffman JI, Amos W (2005) Microsatellite genotyping errors: detection approaches, common sources and consequences for paternal exclusion. *Mol Ecol* 14(2):599-612. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02419.x>
- Holleley CE, Geerts PG (2009) Multiplex manager 1.0: a cross-platform computer program that plans and optimizes multiplex PCR. *BioTechniques* 46:511-517. <https://doi.org/10.2144/000113156>
- Hothorn T, Frank Bretz, Westfall P (2008) Simultaneous inference in general parametric models. *Biom J* 50(3):346-363. <https://doi.org/10.1002/bimj.200810425>
- Hu G (1993) DNA Polymerase-catalyzed addition of nontemplated extra nucleotides to the 3' of a DNA fragment. *DNA Cell Biol* 12:763-770. <https://doi.org/10.1089/dna.1993.12.763>
- Hubisz MJ, Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2009) Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol Ecol Res* 9(5):1322-1332. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02591.x>
- Idury RM, Cardon LR (1997) A simple method for automated allele binning in microsatellite markers. *Genome Res* 7:1104-1109. <https://doi.org/10.1101/gr.7.11.1104>
- ISTA (2020) International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Assoc., Zurich
- Ivanova N, Kuzmina K (2013) Protocols for dry DNA storage and shipment at room temperature. *Mol Ecol Resour* 13(5):890-898. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12134>
- Jayashree B, Reddy PT, Leeladevi Y, Crouch JH, Mahalakshmi V et al (2006) Laboratory information management software for genotyping workflows: applications in high throughput crop genotyping. *BMC Bioinform* 7:383. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-7-383>
- Jombart T (2008) Adegenet: an R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24(11):1403-1405. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>
- Jombart T, Ahmed I (2011) Adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP Data. *Bioinformatics* 27(21):3070-3071. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr521>
- Jombart T, Devillard S, Balloux F (2010) Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genet* 11(94):1-15. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000455>

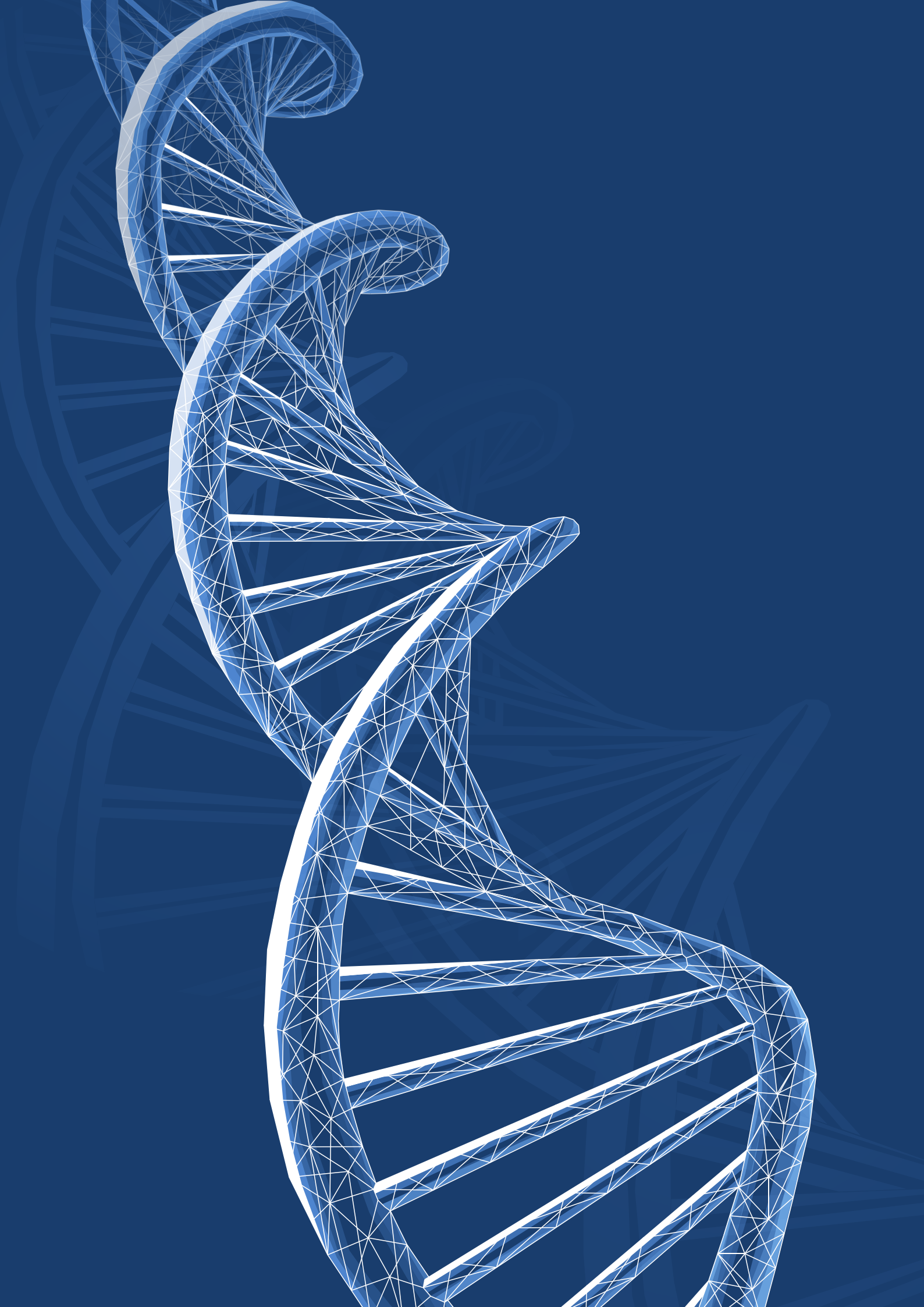
- Kalinowski ST (2004) Counting alleles with rarefaction: private alleles and hierarchical sampling designs. *Conserv Genet* 5(4):539-43. <https://doi.org/10.1023/B:COGE.0000041021.91777.1a>
- Kalinowski ST, Taper ML (2006) Maximum likelihood estimation of the frequency of null alleles at microsatellite loci. *Conserv Genet* 7(6):991-995. <https://doi.org/10.1007/s10592-006-9134-9>
- Kalinowski ST, Taper ML, Marshall TC (2007) Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol Ecol* 16: 1099-1106. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03089.x>
- Kamvar ZN, Tabima JF, Grünwald NJ (2014) Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. *PeerJ* 2:e281. <https://doi.org/10.7717/peerj.281>
- Kimura M (1983) *The neutral theory of molecular evolution*. Cambridge University Press, Cambridge. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511623486>
- King EP (1953) On some procedures for the rejection of suspected data. *J Am Stat Assoc* 48(263):531-533. <https://doi.org/10.1080/01621459.1953.10483490>
- Kirov G, Williams N, Sham P, Craddock N, Owen MJ (2000) Pooled genotyping of microsatellite markers in parent-offspring trios. *Genome Res* 10:105-115. <https://doi.org/10.1101/gr.10.1.105>
- Kline MC, Duewer DL, Redman JW, Butler JM (2005) Results from the NIST 2004 DNA quantitation study. *J Forensic Sci* 50:571-578.
- Koetsier G, Cantor E (2019) Technical note: A practical guide to analysing nucleic acid concentration and purity with microvolume spectrophotometers. New England Biolabs Inc. https://www.neb.com/-/media/catalog/application-notes/mvs_analysis_of_na_concentration_and_purity.pdf?rev=be7c8e19f4d34e558527496ea51623dc. Accessed 19th October 2020
- Kudo G (2006) Flowering phenologies of animal-pollinated plants: reproductive strategies and agents of selection. In: Harder LD, Barrett SCH (eds) *Ecology and evolution of flowers*. Oxford Univ. Press, New York, pp 139-158
- Lederer T, Seidl S, Graham B, Betz P (2000) A new pentaplex PCR system for forensic casework analysis. *Int J Legal Med* 114:87-92. <https://doi.org/10.1007/s004140000161>
- Leroy G, Carroll EL, Bruford MW, DeWoody A, Strand A, Waits L, Wang J (2018) Next-generation metrics for monitoring genetic erosion within populations of conservation concern. *Evol Appl* 11:1066-1083. <https://doi.org/10.1111/eva.12564>
- Levinson G, Gutman GA (1987) Slipped-strand mispairing: a major mechanism for DNA sequence evolution. *Mol Biol Evol* 4:203-221. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040442>
- Lewontin RC (1964) The interaction of selection and linkage. I. General considerations; heterotic models. *Genetics* 49:49-67.
- Lewontin RC, Krakauer J (1973) Distribution of gene frequency as a test of the theory of the selective neutrality of polymorphisms. *Genetics* 74(1):175-195.
- Lim PO, Kim HJ, Nam HG (2007) Leaf senescence. *Annu Rev Plant Biol* 58(1):115-136. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105316>
- Linkosalo T, Hakkinen R, Hari P (1996) Improving the reliability of a combined phenological time series by analyzing observation quality. *Tree Physiol* 16(7):661-664. <https://doi.org/10.1093/treephys/16.7.661>
- Livingstone D, Freeman B, Tondo CL, Cariaga KA, Oleas NH, Meerow AW, Schnell RJ, Kuhn DN (2009) Improvement of high-throughput genotype analysis after implementation of a dual-curve Sybr Green I-based quantification and normalization procedure. *HortScience* 44:1228-1232. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.44.5.1228>
- Lloyd DG (1974) Theoretical sex ratios of dioecious and gynodioecious angiosperms. *Heredity* 32(1):11-34. <https://doi.org/10.1038/hdy.1974.2>
- Lowry DB, Hoban S, Kelley JL, Lotterhos KE, Reed LK, Antolin MF, Storfer A (2017) Breaking RAD: An evaluation of the utility of restriction site-associated DNA sequencing for genome scans of adaptation. *Mol Ecol Res* 17(2):142-52. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12635>
- Meldgaard M, Morling N (1997) Detection and quantitative characterization of artificial extra peaks following polymerase chain reaction amplification of 14 short tandem repeat systems used in forensic investigations. *Electrophoresis* 18:1928-1935. <https://doi.org/10.1002/elps.1150181107>
- Menkis A, Bakys R, Åslund MS, Davydenko K, Elfstrand M, Stenlid J, Vasaitis R (2019) Identifying *Fraxinus excelsior* tolerant to ash dieback: Visual field monitoring versus a molecular marker. *For Pathol* 50(1), e12572. <https://doi.org/10.1111/efp.12572>
- Morin PA, Martien KK, Archer FI et al (2010) Applied conservation genetics and the need for quality control and reporting of genetic data used in fisheries and wildlife management. *Heredity* 101:1-10. <https://doi.org/10.1093/jhered/esp107>

- Muller-Landau HC, Condit RS, Chave J, Thomas SC, Bohlman SA, Bunyavejchewin S, Ashton, P et al (2006) Testing metabolic ecology theory for allometric scaling of tree size, growth, and mortality in tropical forests. *Ecol Lett* 9(5):575-588. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00904.x>
- Müller-Starck G (1989). Genetic Implications of Environmental Stress in Adult Forest Stands of *Fagus Sylvatica* L. In: Genetic Effects of Air Pollutants. In: Scholz G, Gregorius HR, Rudin D (eds) *Forest Tree Populations*. Springer, Berlin, pp 128-142
- Mund M, Kutsch WL, Wirth C, Kahl T, Knohl A, Skomarkova MV, Schulze ED (2010) The influence of climate and fructification on the inter-annual variability of stem growth and net primary productivity in an old-growth, mixed beech forest. *Tree Physiol* 30:689-704. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpq027>
- Müller-Starck G (1995) Genetic variation in high elevated populations of Norway spruce (*Picea abies* L. Karst.) in Switzerland. *Silvae Genet* 44:5-6.
- Munguía-Rosas MA, Ollerton J, Parra-Tabla V, De-Nova JA (2011) Meta-analysis of phenotypic selection on flowering phenology suggests that early flowering plants are favoured. *Ecol Lett* 14(5):511-521. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01601.x>
- Namkoong G, Boyle T, El-Kassaby YA, Palmberg-Lerche C, Eriksson G, Gregorius HR, Joly H, Kremer A, Savolainen O, Wickneswari R, Young A, Zeh-Nlo M, Prabhu R (2002) Criteria and indicators for sustainable forest management: assessment and monitoring of genetic variation. Forest Resources Div. FAO, Rome
- Namkoong G, Boyle T, Gregorius HR, Joly H, Savolainen O, Ratman W, Young A (1996) Testing criteria and indicators for assessing the sustainability of forest management: genetic criteria and indicators. Centre for International Forestry Research (CIFOR), Bogor
- Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 70:3321-3323. <https://doi.org/10.1073/pnas.70.12.3321>
- Nei M, Maruyama T, Chakraborty R (1975) The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution* 29(1): 1-10. <https://doi.org/10.2307/2407137>
- Neubig KM, Whitten WM, Abbott JR, Elliott S, Soltis DE, Soltis PS (2014) Variables affecting DNA preservation in archival plant specimens. In: Applequist WL, Campbell LM (eds) *DNA banking for the 21st century: proceedings of the US workshop on DNA banking*. William L. Brown Center at the Missouri Botanical garden, St. Louis, Missouri, pp 81-112
- Nielsen EE, Bach LA, Kotlicki P (2006) Hybridlab (Version 1.0): A program for generating simulated hybrids from population samples. *Mol Ecol Notes* 6(4):971-973. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01433.x>
- Nishiguchi MK, Doukakis P, Egan M, Kizirian D, Phillips A, Prendini L, Rosenbaum HC, Torres E, Wyner Y, DeSalle R, Giribet G (2002) DNA isolation procedures. In: DeSalle R, Giribet G, Wheeler W (eds) *Methods and tools in biosciences and medicine – Techniques in molecular systematics and evolution*. Birkhäuser Verlag / Springer Basel AG, Basel, pp 249-287
- Nunziata SO, Scott DE, Lance SL (2015) Temporal genetic and demographic monitoring of pond-breeding amphibians in three contrasting population systems. *Conserv Genet* 16:1335-1344. <https://doi.org/10.1007/s10592-015-0743-z>
- O'Connell LM, Mosseler A, Rajora OP (2006) Impacts of forest fragmentation on the mating system and genetic diversity of white spruce (*Picea glauca*) at the landscape level. *Heredity* 97 (6): 418–426. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800886>.
- Oddou-Muratorio S, Vendramin GG, Buiteveld J, Fady B (2009) Population estimators or progeny Tests: what is the best method to assess null allele frequencies at SSR loci? *Conserv Genet* 10(5):1343-1347. <https://doi.org/10.1007/s10592-008-9648-4>
- Olejniczak M, Krzyzosiak WJ (2006) Genotyping of simple sequence repeats factors implicated in shadow band generation revisited. *Electrophoresis* 27:3724-3734. <https://doi.org/10.1002/elps.200600136>
- Otárola MF, Sazima M, Solferini VN (2013) Tree size and its relationship with flowering phenology and reproductive output in Wild Nutmeg trees. *Ecol Evol* 3(10):3536-3550 <https://doi.org/10.1002/ece3.742>
- Paradis E (2010) Pegas: an R package for population genetics with an integrated-modular approach. *Bioinformatics* 26(3):419-420. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp696>.
- Peakall R, Smouse PE (2006) Genalex 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Notes* 6(1):288-295 <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>.
- Pedrini S, Gibson-Roy P, Trivedi C, Gálvez-Ramírez C, Hardwick K, Shaw N, Frischie S, Laverack G, Dixon K (2020) Collection and production of native seeds for ecological restoration. *Restor Ecol* 28:S227-S237. <https://doi.org/10.1111/rec.13190>
- Petit RJ, El Mousadik A, Pons O (2008) Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers. *Conserv Biol* 12(4):844-855. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.1998.96489.x>

- Pluess AR, Frank A, Heiri C, Lalagüe H, Vendramin GG, Oddou-Muratorio S (2016) Genome–environment association study suggests local adaptation to climate at the regional scale in *Fagus sylvatica*. *New Phytol* 210 (2):589–601. <https://doi.org/10.1111/nph.13809>
- Pohlert T (2020) Calculate pairwise multiple comparisons of mean rank sums extended. R package version 1.7.0. PMCMRplus. <https://CRAN.R-project.org/package=PMCMRplus>. Accessed 30 October 2020
- Porcher E, Lande R (2016) Inbreeding depression under mixed outcrossing, self-fertilization and sib-mating. *BMC Evol Biol* 16(1):105. <https://doi.org/10.1186/s12862-016-0668-2>
- Prendini L, Hanner R, DeSalle R (2002) Obtaining, storing, and archiving specimens and tissue samples for use in molecular studies. In: DeSalle R, Giribet G, Wheeler W (eds) *Methods and tools in biosciences and medicine – Techniques in molecular systematics and evolution*. Birkhäuser Verlag / Springer Basel AG, Basel, pp 176–248.
- Pritchard, JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155: 945–959. <https://doi.org/10.1007/s10681-008-9788-0>
- Qiagen (2010) Multiplex PCR Kit Handbook. <https://www.qiagen.com/si/resources/download.aspx?id=a541a49c-cd06-40ca-b1d2-563d0324ad6c&lang=en>. Accessed 10 October 2020
- R Core Team (2020) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>. Accessed 28 October 2020
- Rajora OP, Mosseler A, Major JE (2000a) Indicators of population viability in red spruce, *Picea rubens*. II. Genetic diversity, population structure, and mating behavior. *Can J Bot* 78:941–956. <https://doi.org/10.1139/b00-066>
- Rajora OP, Rahman MH, Buchert GP, Dancik BP (2000b) Microsatellite DNA analysis of genetic effects of harvesting in old-growth eastern white pine (*Pinus strobus*) in Ontario, Canada. *Mol Ecol* 9(3):339–348. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2000.00886.x>
- Rajora OP, Pluhar SA (2003) Genetic diversity impacts of forest fires, forest harvesting, and alternative reforestation practices in black spruce (*Picea mariana*). *Theor Appl Genet* 106(7):1203–1212. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1169-9>
- Renshaw MA, Saillant E, Bradfield SC, Gold JR (2006) Microsatellite multiplex panels for genetic studies of three species of marine fishes: red drum (*Sciaenops ocellatus*), red snapper (*Lutjanus campechanus*), and cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture* 253:731–735. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.09.012>
- Rice WR (1989) Analyzing table of statistical tests. *Evolution* 43(1):223–225. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1989.tb04220.x>
- Rithidech K, Dunn JJ (2003) Combining multiplex and touchdown PCR for microsatellite analysis. *Methods Mol Biol* 226:295–300. <https://doi.org/10.1385/1-59259-384-4:295>
- Ritland K (1989) Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. *Evolution* 43(4):848–859. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1989.tb05182.x>
- Ritland K (2002) Extensions of models for the estimation of mating systems using an independent loci. *Heredity* 88:221–228. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800029>
- Ritland K, Jain S (1981) A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using an independent loci. *Heredity* 47(1):35–52. <https://doi.org/10.1038/hdy.1981.57>
- Roesti M, Salzburger W, and Berner D (2012) Uninformative polymorphisms bias genome scans for signatures of selection. *BMC Evol Biol* 12(1):94. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-12-94>
- Roschanski AM, Csilléry K, Liepelt S, Oddou-Muratorio S, Ziegenhagen B, Huard F, Ullrich KK, Postolache D, Vendramin GG, Fady B (2016) Evidence of divergent selection for drought and cold tolerance at landscape and local scales in *Abies alba* Mill. In the French Mediterranean Alps. *Mol Ecol* 25(3):776–794. <https://doi.org/10.1111/mec.13516>
- Rousset F (2008) Genepop'007: A complete re-implementation of the Genepop Software for Windows and Linux. *Mol Ecol Res* 8(1):103–106. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x>
- Rousset F (2017) Genepop version 4.6. 9. Semantic Scholar. <https://www.semanticscholar.org/paper/Genepop-version-4.6.9-Rousset/88ae28e934a876a0fd981468cfe8d0517b40714b>. Accessed 30 October 2020
- Scandura M, Capitani C, Iacolina L, Marco A (2006) An empirical approach for reliable microsatellite genotyping of wolf DNA from multiple non-invasive sources. *Conserv Genet* 7:813–823. <https://doi.org/10.1007/s10592-005-9106-5>
- Schaber J, Badeck, FW (2002) Evaluation of methods for the combination of phenological time series and outlier detection. *Tree Physiol* 22(14):973–982. <https://doi.org/10.1093/treephys/22.14.973>
- Schuster D, Appleby D (1983) Does freezing and thawing of DNA solutions insert nicks in the double helix. *Focus* 5(2):1. <https://doi.org/10.1.1.713.3395>
- Schwarz G (1978) Estimating the dimension of a model. *Ann Stat* 6(2):462–464.
- Seifert T, Müller-Starck G (2009) Impacts of fructification on biomass production and correlated genetic effects in Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.). *Eur J For Res* 128:155. <https://doi.org/10.1007/s10342-008-0219-5>

- Selkoe KA, Toonen RJ (2006) Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecol Lett* 9(5):615-629. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00889.x>
- Semagn K, Babu R, Hearne S, Olsen M (2014) Single nucleotide polymorphism genotyping using kompetitive allele specific PCR (KASP): overview of the technology and its application in crop improvement. *Mol Breed* 33(1):1–14. <https://doi.org/10.1007/s11032-013-9917-x>
- Sgueglia J, Geiger S, Davis J (2003) Precision studies using the ABI Prism 3100 Genetic Analyzer for forensic DNA analysis. *Anal Bioanal Chem* 376:1247-1254. <https://doi.org/10.1007/s00216-003-1998-7>
- Signorell A (2020) Tools for Descriptive Statistics. DescTools. <https://cran.r-project.org/package=DescTools>. Accessed 30 October 2020
- Slatkin M (1985) Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution* 39(1):53-65. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1985.tb04079.x>
- Slatkin M (1987) Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science* 236(4803):787-792. <https://doi.org/10.1126/science.3576198>
- Slatkin M, Barton NH (1989) A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution* 43(7):1349-1368. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1989.tb02587.x>
- Slatkin, M (2008) Linkage disequilibrium: understanding the genetic past and mapping the medical future. *Nat Rev Genet* 9(6):477–485. <https://doi.org/10.1038/nrg2361>. Linkage
- Smouse PE, Sork VL (2004) Measuring pollen flow in forest trees: a comparison of alternative approaches. *Forest Ecol Manage* 197:21-38. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2004.05.049>
- Soltis PS, Soltis DE (1993) Ancient DNA. Prospects and limitations. *N Z J Bot* 31:203-209. <https://doi.org/10.1080/0028825X.1993.10419497>
- Sork VL, Nason J, Campbell DR, Fernández, J F (1999) Landscape approaches to the study of gene flow in plants. *Trends in Ecol Evol* 14(6):219-224. [https://doi.org/10.1016/s0169-5347\(98\)01585-7](https://doi.org/10.1016/s0169-5347(98)01585-7)
- Sork VL, Smouse PE (2006) Genetic analysis of landscape connectivity in tree populations. *Landscape Ecol* 21(6):821-836. <https://doi.org/10.1007/s10980-005-5415-9>
- Stocks JJ, Metheringham CL, Plumb WJ, Lee SJ, Kelly LJ, Nichols RA, Buggs, RJA (2019) Genomic basis of European ash tree resistance to ash dieback fungus. *Nat Ecol Evol* 3(12):1686-1696. <https://doi.org/10.1038/s41559-019-1036-6>
- Summers K, Amos W (1997) Behavioral, ecological, and molecular genetic analyses of reproductive strategies in the Amazonian Dart-Poison Frog, *Dendrobates ventrimaculatus*. *Behav Ecol* 8(3):260-267. <https://doi.org/10.1093/beheco/8.3.260>
- Sytsma KJ, Schaal BA (1985) Genetic variation, differentiation, and evolution in a species complex of tropical shrubs based on isozymic data. *Evolution* 39:582-593. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1985.tb00396.x>
- Taberlet P, Griffin S, Goossens B, Questiau S, Manceau V, Escaravage N, Waits LP, Bouvet J (1996) Reliable genotyping of samples with very low DNA quantities using PCR. *Nucleic Acids Res* 24(16):3189-3194. <https://doi.org/10.1093/nar/24.16.3189>
- Thomas WK, Paabo S (1994) DNA sequences from old tissue remains. In: Zimmer EA, White TJ, Cann RL, Wilson AC (eds) *Methods in Enzymology. Molecular Evolution: Producing the Biochemical Data*. Academic Press, San Diego, pp 406-419.
- Tyrmi JS, Vuosku J, Acosta JJ, Li Z, Sterck L, Cervera MT, Savolainen O, Pyhäjärvi T (2020) Genomics of clinal local adaptation in *Pinus sylvestris* under continuous environmental and spatial genetic setting. *G3: Genes, Genomes, Genetics* 10(8):2683-2696. <https://doi.org/10.1534/g3.120.401285>
- Urbanek S, Horner J (2020) Cairo: R graphics device using cairo graphics library for creating high-quality bitmap (PNG, JPEG, TIFF), vector (PDF, SVG, PostScript) and display (X11 and Win32) output. R Package Version 1.5-12.2. <https://CRAN.R-Project.Org/Package=Cairo>. Accessed 28 October 2020
- Urquhart A, Kimpton CP, Downes TJ, Gill P (1994) Variation in Short Tandem Repeat sequences—a survey of twelve microsatellite loci for use as forensic identification markers. *International Journal of Legal Medicine* 107:13–20. <https://doi.org/10.1007/BF01247268>
- Vallone PM, Butler JM (2004) AutoDimer: a screening tool for primer dimer and hairpin structures. *BioTechniques* 37:226-231. <https://doi.org/10.2144/04372ST03>
- Vallone PM, Hill CR, Butler JM (2008) Demonstration of rapid multiplex PCR amplification involving 16 genetic loci. *Forensic Sci Int Genet* 3:42-45. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2008.09.005>
- van Asch B, Pinheiro R, Pereira R et al (2010) A framework for the development of STR genotyping in domestic animal species: characterization and population study of 12 canine X-chromosome loci. *Electrophoresis* 31:303-308. <https://doi.org/10.1002/elps.200900389>

- Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DP, Shipley P (2004) MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol Ecol Notes* 4(3):535-538. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x>
- Walters C, Reilley AA, Reeves PA, Baszczak J, Richards CM (2006) The utility of aged seeds in DNA banks. *Seed Sci Res* 16(3):169. <https://doi.org/10.1079/SSR2006246>
- Waples RS, Do C (2010) Linkage disequilibrium estimates of contemporary Ne using highly variable genetic markers: a largely untapped resource for applied conservation and evolution. *Evol Appl* 3(3):244-262.
- Weeks DE, Conley YP, Ferrell RE, Mah TS, Gorin MB (2002) A tale of two genotypes: consistency between two high-throughput genotyping centers. *Genome Res* 12:430-435. <https://dx.doi.org/10.1101/gr.211502>
- Weir BS (1979) Inferences about linkage disequilibrium. *Biometric* 35(1):235-254. <https://doi.org/10.2307/2529947>
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* 38(6):1358-1370. <https://doi.org/10.2307/2408641>
- Weiss KM, Clark AG (2002) Linkage disequilibrium and the mapping of complex human traits. *Trends Genet* 18:19-24. [https://doi.org/10.1016/s0168-9525\(01\)02550-1](https://doi.org/10.1016/s0168-9525(01)02550-1)
- Whitlock MC, Lotterhos KE (2015) Reliable detection of loci responsible for local adaptation: Inference of a null model through trimming the distribution of FST. *Am Nat* 186:S24-S36. <https://doi.org/10.1086/682949>
- Whittaker, JC, Harbord RM, Boxall N, Mackay I, Dawson G, Sibly RM (2003) Likelihood-based estimation of microsatellite mutation rates. *Genetics* 164(2):781-787.
- Wickham H (2016) Ggplot2: Elegant graphics for data analysis. Springer-Verlag, New York
- Wickham H, François R, Henry L, Müller K (2020) Dplyr: A grammar of data manipulation. Cran. <https://CRAN.R-project.org/package=dplyr>. Accessed 29 October 2020
- Wickham H, Henry L (2020) Tidy: Easily tidy data with 'spread' and 'gather' functions. Cran. <https://cran.r-project.org/web/packages/tidy/index.html>. Accessed 28 October 2020
- Wickneswari R, Ho WS, Lee KS, Lee CT (2004) Impact of disturbance on population and genetic structure of tropical forest trees. *For Genet* 11(3-4):193-201.
- Wilfinger WW, Mackey K, Chomczynski P (1997) Effect of pH and ionic strength on the spectrophotometric assessment of nucleic acid purity. *BioTechniques* 22:474-481. <https://doi.org/10.2144/97223st01>
- Willoughby JR, Ivy, JA, Lacy RC, Doyle JM, DeWoody JA (2017) Inbreeding and selection shape genomic diversity in captive populations: Implications for the conservation of endangered species. *PLoS ONE* 12(4):e0175996. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175996>
- Winter DJ (2012) MMOD: an R library for the calculation of population differentiation statistics. *Molecular Ecology Resources* 12(6):1158-1160. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2012.03174.x>
- Wright S (1931) *Evolution in Mendelian populations*. University of Chicago Press, Chicago
- Wright S (1938) Size of population and breeding structure in relation to evolution. *Science* 87:430-431. <https://www.jstor.org/stable/2457575>
- Wright S (1969) *Evolution and the genetics of populations: The theory of gene frequencies*. The University of Chicago Press, Chicago
- Xie, Y (2020) Knitr: A General-Purpose Package for Dynamic Report Generation in R. R Package Version 1.28. Cran. <https://cran.r-project.org/web/packages/knitr/index.html>. Accessed 28 October 2020
- Yagi N, Satonaka K, Horio M, Shimogaki H et al (1996) The role of DNase and EDTA on DNA degradation in formaldehyde fixed tissues. *Biotech Histochem* 71:123-129. <https://doi.org/10.3109/10520299609117148>
- Yamamichi M, Innan H (2012) Estimating the migration rate from genetic variation data. *Heredity* 108(4):362-363. <https://doi.org/10.1038/hdy.2011.83>
- Ziemann M, Eren Y, El-Osta A (2016) Gene name errors are widespread in the scientific literature. *Genome Biol* 17:177. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1044-7>





Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών

Κεφάλαιο 7

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΚΟΣΤΟΥΣ

Marko BAJC¹, Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ³, Darius KAVALIAUSKAS²,
Marjana WESTERGRÉN¹, Φώτιος ΚΙΟΥΡΤΣΗΣ⁴, Ευαγγελία ΑΒΡΑΜΙΔΟΥ^{3,6},
Παύλος ΜΠΕΚΙΑΡΟΓΛΟΥ⁴, Παύλος ΧΑΣΙΛΙΔΗΣ⁴, Rok DAMJANIČ¹, Natalija DOVČ¹,
Domen FINŽGAR^{1,5}, Barbara FUSSI², Ερμιόνη ΜΑΛΛΙΑΡΟΥ³, Γεώργιος ΡΟΥΣΑΚΗΣ⁴,
Χρυσή ΣΑΡΒΑΝΗ⁴, Hojka KRAIGHER¹

Απόδοση στα ελληνικά

Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ, Φανή ΛΥΡΟΥ, Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ

Βιβλιογραφική αναφορά: Βαϊς κ. ά. (2020) Εκτίμηση κόστους. Στο: Βαϊς κ. ά. (Επιμ.) Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας; Silva Slovenica Publishing Centre, Λιουμπλιάνα, σσ. 151-167. <http://dx.doi.org/10.20315/SFS.167>

Affiliations:

1. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας (GIS), Σλοβενίας
2. Βαυαρικό Γραφείο Δασικής Γενετικής (AWG), Γερμανία
3. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), Ελλάδα
4. Αποκεντρωμένη Διοίκηση Μακεδονίας Θράκης, Γενική Διεύθυνση Δασών & Αγροτικών Υποθέσεων, Ελλάδα
5. Ινστιτούτο Εξελικτικής Βιολογίας, Πανεπιστήμιο του Εδιμβούργου, Ηνωμένο Βασίλειο
6. Τρέχουσα διεύθυνση: Ινστιτούτο Μεσογειακών Δασικών Οικοσυστημάτων, ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ, Ελλάδα

7.1 Εισαγωγή

Ο σκοπός αυτού του κεφαλαίου είναι η παρουσίαση του κόστους που σχετίζεται με την εφαρμογή της δασικής γενετικής παρακολούθησης. Η εκτίμηση του κόστους που παρουσιάζεται βασίστηκε στην ανάλυση του πραγματικού κόστους των δραστηριοτήτων που πραγματοποιήθηκαν στο έργο LIFEGENMON. Κάθε συμμετέχον ίδρυμα κατέγραψε τα κόστη του, περιλαμβανομένου του κόστους υλικών, μετακινήσεων, εξωτερικών αναθέσεων και του εργατικού κόστους, καθ' όλη τη διάρκεια του έργου. Τα κόστη διακρίθηκαν σε τρεις βασικές κατηγορίες: 1) κόστη υλικών, 2) εργατικά κόστη (βασισμένα στο χρόνο πραγματικής εργασίας) και 3) κόστη μετακινήσεων. Δεδομένου ότι το κόστος ανθρωπόωρας ανά κατηγορία προσωπικού μπορεί να διαφέρει σημαντικά μεταξύ των ευρωπαϊκών κρατών, το κόστος εργασίας παρουσιάζεται, τόσο ως ώρες εργασίας ανά κατηγορία προσωπικού, όσο και ως κόστος βασισμένο στο χρόνο πραγματικής εργασίας. Το κόστος υπολογίστηκε ανά: δασοπονικό είδος / χώρα / επίπεδο παρακολούθησης / δείκτη / επαληθευτή.

7.2 Εκτίμηση Κόστους

7.2.1 Υποθέσεις εκτίμησης κόστους

Καθώς το απαιτούμενο κόστος για τη διεξαγωγή της γενετικής παρακολούθησης δασών εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως η βιολογία των υπό παρακολούθηση δασοπονικών ειδών και η απόσταση μετακίνησης στις επιφάνειες, ελήφθησαν υπόψη ορισμένες παραδοχές για τους υπολογισμούς του κόστους που παρουσιάζονται, προκειμένου τα ποσά να είναι κατά το δυνατόν συγκρίσιμα μεταξύ κρατών:

1. Τα κόστη υπολογίστηκαν για διάστημα γενετικής παρακολούθησης 10 ετών.
2. Τα δασοπονικά είδη που αξιολογήθηκαν, η ευρωπαϊκή οξιά (*Fagus sylvatica* L.) και η λευκή ελάτη / υβριδογενής ελάτη *Abies alba* Mill. / *Abies borisii-regis* Mattf. είναι είδη που σχηματίζουν συστάδες. Αναμένεται ότι για τα είδη τα οποία σχηματίζουν πληθυσμούς διάσπαρτων ατόμων, όλες οι εργασίες πεδίου θα απαιτήσουν αναπόφευκτα περισσότερες ανθρωπόωρες για να ολοκληρωθούν.
3. Τα κόστη παρουσιάζονται με συνυπολογισμένο τον ΦΠΑ (Γερμανία 19%, Ελλάδα 24%, Σλοβενία 22%).
4. Τα κόστη παρουσιάζονται για βελτιστοποιημένες δραστηριότητες όπως αυτές εκτελούνται από πλήρως εκπαιδευμένο και έμπειρο προσωπικό. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι κατά την εισαγωγή νέων μεθόδων ή προσεγγίσεων, ενδέχεται να προκύψουν πρόσθετα κόστη εκπαίδευσης κατά την αρχική φάση και τη φάση βελτιστοποίησης διαδικασιών.
5. **Επιλογή επιφάνειας:** Για τη διαδικασία επιλογής επιφάνειας, υπολογίστηκαν πέντε (5) επισκέψεις στις υπό αξιολόγηση επιφάνειες με μέση απόσταση 100 χλμ. από τον κατά περίπτωση Φορέα.
6. **Κόστος υλικών:** Στους υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκαν τα πραγματικά κόστη των υλικών και εξωτερικών αναθέσεων, όπως καταγράφηκαν από τους εταίρους του προγράμματος LIFEGENMON.
7. **Εργατικά κόστη:** Οι υπολογισμοί πραγματοποιήθηκαν για το μέσο συνολικό κόστος ανθρωπόωρας, ανά κατηγορία προσωπικού και ανά χώρα.
8. **Κόστος μετακινήσεων:** Το κόστος υπολογίστηκε για απόσταση 100 χιλιομέτρων από τον κατά περίπτωση Φορέα έως τις επιφάνειες για όλες τις χώρες και τα δασοπονικά είδη. Οι χρόνοι μετακινήσεων υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας τη μέση ταχύτητα μετακίνησης προς τις επιφάνειες LIFEGENMON ΓΠΔ για κάθε χώρα.
9. **Ίδρυση επιφάνειας:** Κατά τη διάρκεια του έργου LIFEGENMON έγιναν αρκετές αλλαγές στο αρχικό σύστημα ΓΠΔ: 1) Ο σχεδιασμός της επιφάνειας ΓΠΔ άλλαξε ώστε να περιλαμβάνει τυχαία επιλογή της θέσης της επιφάνειας εντός της παρακολουθούμενης τοποθεσίας και τυχαία επιλογή των μεμονωμένων δέντρων μέσα στην επιφάνεια όπου αυτό είναι εφικτό. 2) Ο αριθμός των δειγμάτων μειώθηκε από 250 σε 50 για ενήλικα δέντρα και από 200 σε 50 για φυτάρια φυσικής αναγέννησης (ΦΑ) ως αποτέλεσμα της εύρεσης του ελάχιστου απαιτούμενου αριθμού δειγμάτων για την αξιολόγηση επαληθευτών που βασίζονται σε μοριακούς δείκτες έπειτα από ανάλυση των δεδομένων που προέκυψαν από την πρώτη αξιολόγηση ΓΠΔ. Επιπλέον, ο

ορισμός υποεπιφανειών ΦΑ εντός μίας επιφάνειας ΓΠΔ, μεταβλήθηκε από τέσσερες σε είκοσι υποεπιφάνειες ΦΑ (βλ. Κεφ. 3 «Ίδρυση και συντήρηση επιφανειών» για λεπτομέρειες). Ο νέος σχεδιασμός επιφανειών δοκιμάστηκε στη Σλοβενία. Τα κόστη που επηρεάστηκαν από την αλλαγή του σχεδιασμού της επιφάνειας και του μειωμένου αριθμού δειγμάτων υπολογίστηκαν προσαρμόζοντας με τον ίδιο συντελεστή μετατροπής, το κόστος από όλους τους συνεργάτες. Ο συντελεστής αυτός υπολογίστηκε έπειτα από σύγκριση του κόστους του βελτιωμένου σχεδιασμού επιφάνειας με το κόστος του αρχικού σχεδιασμού στη Σλοβενία.

10. Παρατηρήσεις και μετρήσεις πεδίου:

Ο αριθμός των απαραίτητων επισκέψεων για την καταγραφή των παρατηρήσεων πεδίου που χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό του κόστους, προέκυψε από τον μέσο όρο των επισκέψεων στις τρεις χώρες που συμμετέχουν στο έργο LIFEGENMON. Ο πραγματικός αριθμός επισκέψεων ενδέχεται να διαφέρει ανάλογα με το υπό παρακολούθηση δασοπονικό είδος και τις τοπικές περιβαλλοντικές συνθήκες.

α. **Θνησιμότητα / Επιβίωση:** Λήφθηκε υπόψη μία (1) αξιολόγηση των 50 παρακολουθούμενων δέντρων ανά περίοδο παρακολούθησης για όλα τα επίπεδα.

β. Έκπτυξη οφθαλμών:

Βασικό επίπεδο: Δεν αξιολογείται.

Τυπικό επίπεδο: Δύο (2) αξιολογήσεις ανά περίοδο παρακολούθησης, έξι (6) παρατηρήσεις ανά αξιολόγηση

Προχωρημένο επίπεδο: Δέκα (10) αξιολογήσεις ανά περίοδο παρακολούθησης, έξι (6) παρατηρήσεις ανά αξιολόγηση.

γ. Ανθοφορία:

Βασικό επίπεδο: Δέκα (10) αξιολογήσεις σε επίπεδο επιφάνειας ανά περίοδο παρακολούθησης, μία (1) παρατήρηση ανά αξιολόγηση

Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο: Δύο (2) αξιολογήσεις σε επίπεδο μεμονωμένων δέντρων ανά περίοδο παρακολούθησης, δύο (2) παρατηρήσεις ανά αξιολόγηση.

δ. Καρποφορία:

Βασικό επίπεδο: Δέκα (10) αξιολογήσεις σε επίπεδο επιφάνειας ανά περίοδο παρακολούθησης, μία (1) παρατήρηση ανά αξιολόγηση.

Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο: Δύο (2) μεμονωμένες αξιολογήσεις σε επίπεδο μεμονωμένων δέντρων ανά περίοδο παρακολούθησης, μία (1) παρατήρηση ανά αξιολόγηση.

ε. Αφθονία φυσικής αναγέννησης (ΦΑ):

Βασικό επίπεδο: Δέκα (10) αξιολογήσεις σε επίπεδο επιφάνειας ανά περίοδο παρακολούθησης, μία (1) παρατήρηση ανά αξιολόγηση

Τυπικό επίπεδο: Τρεις (3) αξιολογήσεις των υποεπιφανειών ΦΑ ανά περίοδο παρακολούθησης, μία (1) παρατήρηση ανά αξιολόγηση

Προχωρημένο επίπεδο: Τρεις (3) αξιολογήσεις των υποεπιφανειών ΦΑ κατά την πρώτη περίοδο παρακολούθησης, έξι (6) αξιολογήσεις των υποεπιφανειών ΦΑ σε επόμενες περιόδους παρακολούθησης, μία (1) παρατήρηση ανά αξιολόγηση.

στ. Φυλλόπτωση:

Βασικό επίπεδο: δεν αξιολογείται

Τυπικό επίπεδο: Δύο (2) αξιολογήσεις ανά περίοδο παρακολούθησης, δύο (2) παρατηρήσεις ανά αξιολόγηση.

Προχωρημένο επίπεδο: Δέκα (10) αξιολογήσεις ανά περίοδο παρακολούθησης, δύο (2) παρατηρήσεις ανά αξιολόγηση.

ζ. Κατανομή κλάσεων στηθιαίας διαμέτρου:

Βασικό επίπεδο: δεν αξιολογείται

Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο: Μία (1) αξιολόγηση και των 50 υπό παρακολούθηση ενηλίκων δέντρων ανά περίοδο παρακολούθησης, μία (1) παρατήρηση ανά αξιολόγηση.

η. Κατανομή κλάσεων ύψους:

Βασικό επίπεδο: δεν αξιολογείται

Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο: Μία (1) αξιολόγηση και των 50 υπό παρακολούθηση ενηλίκων δέντρων ανά διάστημα παρακολούθησης, μία (1) παρατήρηση ανά αξιολόγηση.

θ. Στην Ελλάδα, οι παρατηρήσεις πεδίου (αξιολόγηση φαινολογίας) πραγματοποιήθηκαν με λήψη φωτογραφιών υψηλής ανάλυσης και εικόνων από τηλεκατευθυνόμενο αερόχημα (drone), ακολουθούμενη από ανάλυση ψηφιακής εικόνας. Παρόλο που αυτή η προσέγγιση παρέχει πλήρη τεκμηρίωση και επαλήθευση των παρατηρήσεων, αποδείχθηκε πολύ πιο χρονοβόρα και κοπιαστική σε σύγκριση με την οπτική παρατήρηση και συνεπώς δεν συνιστάται η εφαρμογή της στη ΓΠΔ.

11. Δειγματοληψία για εργαστηριακές αναλύσεις:

α. Ενήλικα δέντρα:

Βασικό επίπεδο: δεν αξιολογείται

Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο: Μία (1) δειγματοληψία των 50 παρακολουθούμενων ενήλικων δέντρων, μόνο στην πρώτη περίοδο ΓΠΔ.

β. Φυσική αναγέννηση (ΦΑ):

Βασικό επίπεδο: δεν αξιολογείται

Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο: Μία (1) δειγματοληψία 50 δενδρυλλίων ΦΑ για κάθε αξιολογημένο συμβάν καρποφορίας ανά περίοδο παρακολούθησης, το οποίο ισοδυναμεί με δύο (2) επισκέψεις με σκοπό τη δειγματοληψία και 100 δείγματα ΦΑ ανά περίοδο παρακολούθησης.

γ. Σπέρματα:

Βασικό και τυπικό επίπεδο: δεν αξιολογείται

Προχωρημένο επίπεδο: Δειγματοληψία σπερμάτων από 20 δέντρα που επιλέγονται τυχαία από τα 50 παρακολουθούμενα ενήλικα δέντρα για κάθε συμβάν καρποφορίας που αξιολογείται ανά περίοδο παρακολούθησης. Αυτό ισοδυναμεί με δύο (2) επισκέψεις με σκοπό τη δειγματοληψία ανά περίοδο παρακολούθησης.

12. **Εργαστηριακές αναλύσεις:** Για τη γενετική, μόνο η ανάλυση των μικροδορυφορικών μοριακών δεικτών (SSR) λήφθηκε υπόψη στη συνολική αξιολόγηση. Στο έργο LIFEGENMON πραγματοποιήθηκαν επίσης αναλύσεις με τη χρήση δεικτών απλών νουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNP), αλλά μόνο για ένα υποσύνολο των δειγμάτων από την πρώτη περίοδο αξιολόγησης. Κατά συνέπεια δεν ήταν εφικτό να πραγματοποιηθούν όλες οι συγκριτικές αναλύσεις στο σύνολο των δεδομένων SNP. Επιπλέον, για κάθε υπό παρακολούθηση δασοπονικό είδος, αναλύθηκε διαφορετικός αριθμός SNP και δειγμάτων, με αποτέλεσμα η σύγκριση του κόστους να είναι λιγότερο ακριβής.

13. Όλες οι τιμές στρογγυλοποιήθηκαν στην πλησιέστερη ακέραια τιμή στους πίνακες που παρουσιάζονται παρακάτω.

14. Όλα τα κόστη υπολογίστηκαν για τη γενετική παρακολούθηση μίας επιφάνειας ανά δασοπονικό είδος.

15. Τα κόστη μίας τυπικής δεκαετούς περιόδου γενετικής παρακολούθησης υπολογίστηκαν βάσει του μέσου όρου των πρώτων 50 ετών παρακολούθησης (πρώτες πέντε περίοδοι παρακολούθησης).

7.2.2 Εκτίμηση κόστους

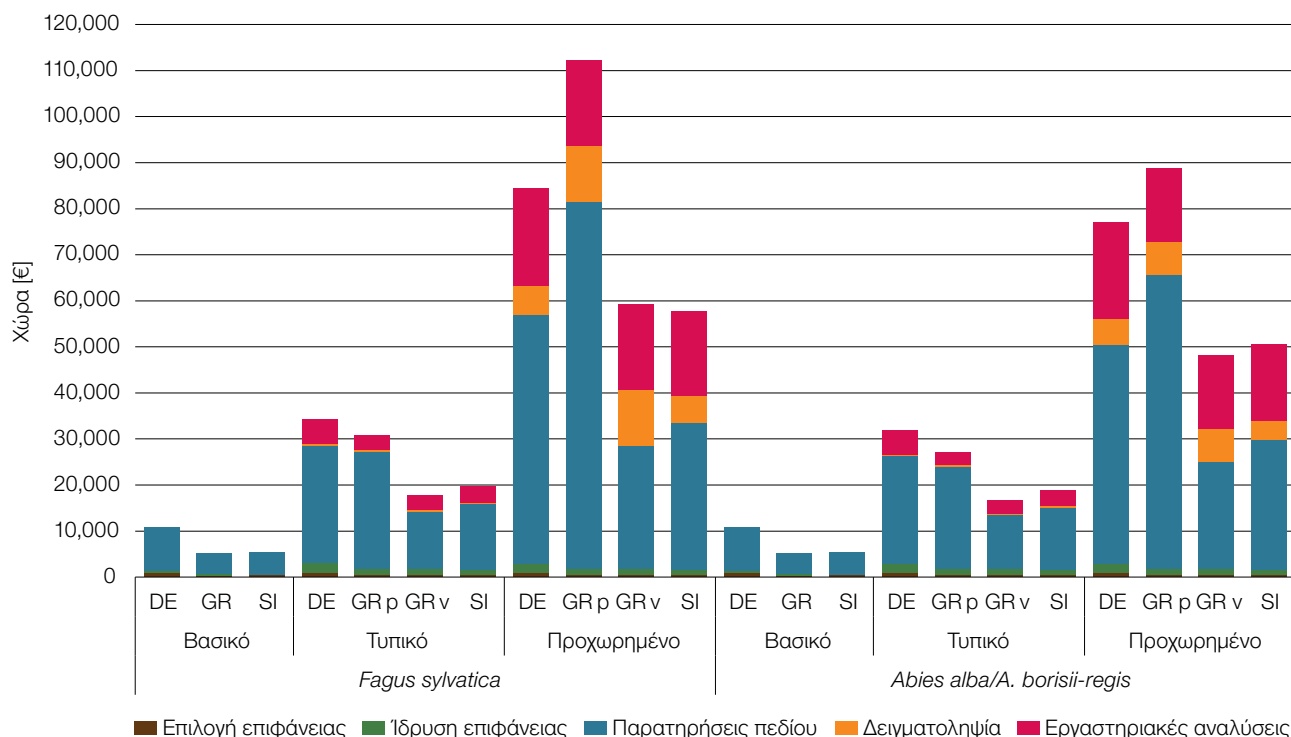
7.2.2.1 Κόστος για ένα μέσο διάστημα γενετικής παρακολούθησης 10 ετών ανά είδος, χώρα και επίπεδο παρακολούθησης

Περισσότερες λεπτομέρειες αναφορικά με την εκτίμηση του κόστους, περιλαμβανομένων πληροφοριών σχετικά με τον αριθμό των ανθρωπων ανά κατηγορία προσωπικού που απαιτείται για την ολοκλήρωση των διάφορων δραστηριοτήτων στο πλαίσιο της παρακολούθησης, παρουσιάζονται στις Συμπληρωματικές Πληροφορίες, υποκεφάλαιο 10.6

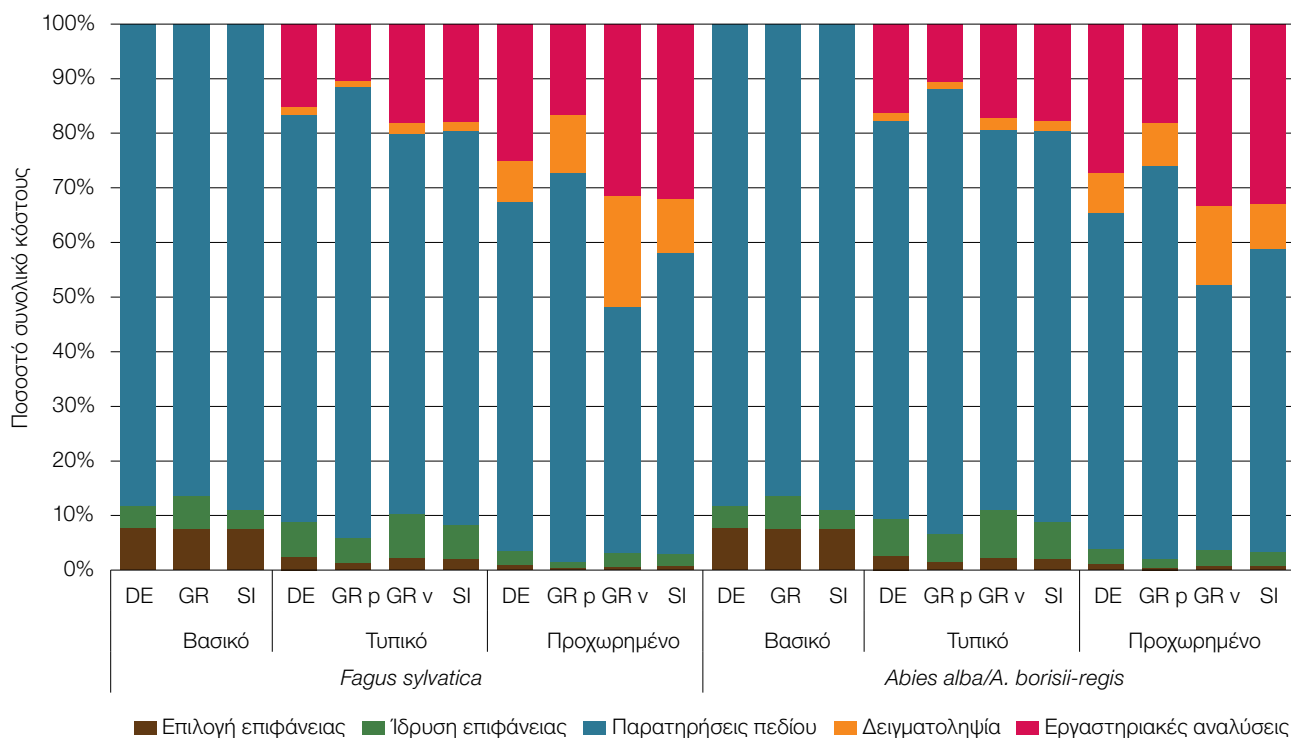
Πίνακας 7.1: Κόστος μίας τυπικής δεκαετούς περιόδου παρακολούθησης ανά επιφάνεια, είδος, χώρα και επίπεδο παρακολούθησης. Οι τιμές παρουσιάζονται σε ευρώ (€). DE – Γερμανία, GR ρ- Ελλάδα, φωτογραφικές παρατηρήσεις, GR ν - Ελλάδα, οπτικές παρατηρήσεις, SI - Σλοβενία.

<i>Fagus sylvatica</i> L.							
Επίπεδο	Χώρα	Επιλογή επιφάνειας	Ίδρυση επιφάνειας	Παρατηρήσεις πεδίου	Δειγματοληψία	Εργαστηριακές αναλύσεις	Σύνολο
Βασικό	DE	832	426	9,472	0	0	10,730
	GR	388	307	4,422	0	0	5,117
	SI	415	186	4,883	0	0	5,484
Τυπικό	DE	832	2,184	25,530	460	5,198	34,203
	GR ρ *	388	1,455	25,328	377	3,182	30,729
	GR ν *	388	1,455	12,329	377	3,182	17,730
	SI	415	1,235	14,286	346	3,522	19,805
Προχωρημένο	DE	832	2,184	53,872	6,434	21,088	84,409
	GR ρ *	388	1,455	79,735	12,036	18,605	112,219
	GR ν *	388	1,455	26,697	12,036	18,605	59,181
	SI	415	1,235	31,880	5,748	18,394	57,674
<i>Abies alba</i> Mill./ <i>Abies borisii-regis</i> Mafft.							
Επίπεδο	Χώρα	Επιλογή επιφάνειας	Ίδρυση επιφάνειας	Παρατηρήσεις πεδίου	Δειγματοληψία	Εργαστηριακές αναλύσεις	Σύνολο
Βασικό	DE	832	426	9,472	0	0	10,730
	GR	388	307	4,422	0	0	5,117
	SI	415	186	4,883	0	0	5,484
Τυπικό	DE	832	2,184	23,272	415	5,198	31,900
	GR ρ *	388	1,455	22,156	377	2,856	27,232
	GR ν *	388	1,455	11,642	377	2,856	16,718
	SI	415	1,235	13,420	346	3,309	18,726
Προχωρημένο	DE	832	2,184	47,367	5,670	20,892	76,945
	GR ρ *	388	1,455	63,843	7,044	16,007	88,737
	GR ν *	388	1,455	23,330	7,044	16,007	48,224
	SI	415	1,235	28,147	4,184	16,577	50,559

* Οι φαινολογικές παρατηρήσεις (παρατηρήσεις πεδίου) στην Ελλάδα πραγματοποιήθηκαν με λήψη ψηφιακών φωτογραφιών υψηλής ανάλυσης και μετέπειτα ανάλυση εικόνας, γεγονός το οποίο αύξησε σημαντικά το συνολικό κόστος της ΓΠΔ σε σύγκριση με την προσέγγιση που χρησιμοποιήθηκε στη Γερμανία και τη Σλοβενία, η οποία βασίστηκε στην οπτική παρατήρηση. Προκειμένου να παρουσιαστούν πιο συγκρίσιμα αποτελέσματα, το αναμενόμενο κόστος των οπτικών παρατηρήσεων της φαινολογίας στην Ελλάδα αξιολογήθηκε επίσης βάσει δεδομένων από τη Γερμανία και τη Σλοβενία.



Σχήμα 7.1: Εκτιμώμενο κόστος της γενετικής παρακολούθησης των δασών της ευρωπαϊκής οξιάς (*Fagus sylvatica*) και της *Abies alba* / *Abies borisii-regis* για μία μέση περίοδο παρακολούθησης 10 ετών. DE – Γερμανία, GR p- Ελλάδα, φωτογραφικές παρατηρήσεις, GR v - Ελλάδα, οπτικές παρατηρήσεις, SI - Σλοβενία.

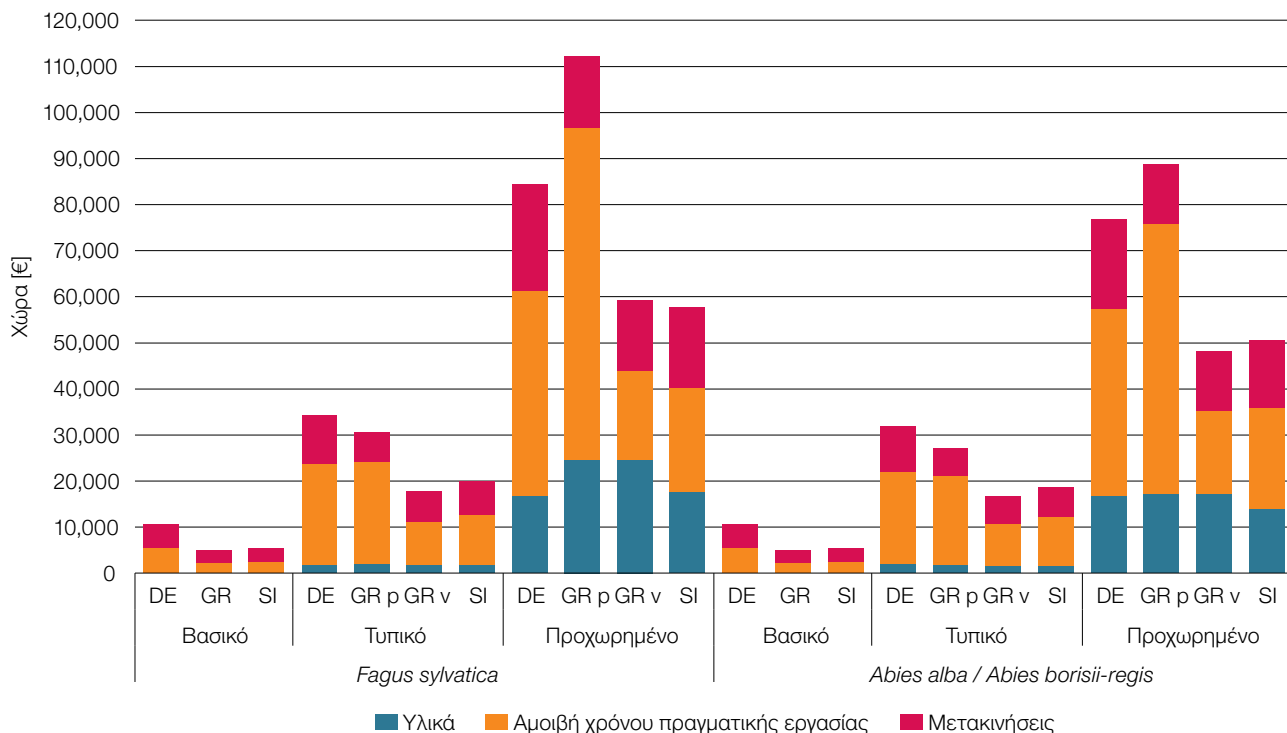


Σχήμα 7.2: Σχετική συνεισφορά διαφορετικών δραστηριοτήτων γενετικής παρακολούθησης δασών στο συνολικό κόστος για μία μέση περίοδο παρακολούθησης 10 ετών για την ευρωπαϊκή οξιά (*Fagus sylvatica*) και τη λευκή ελάτη/ υβριδογενή ελάτη *Abies alba* / *Abies borisii-regis*. DE – Γερμανία, GR p- Ελλάδα, φωτογραφικές παρατηρήσεις, GR v - Ελλάδα, οπτικές παρατηρήσεις, SI - Σλοβενία.

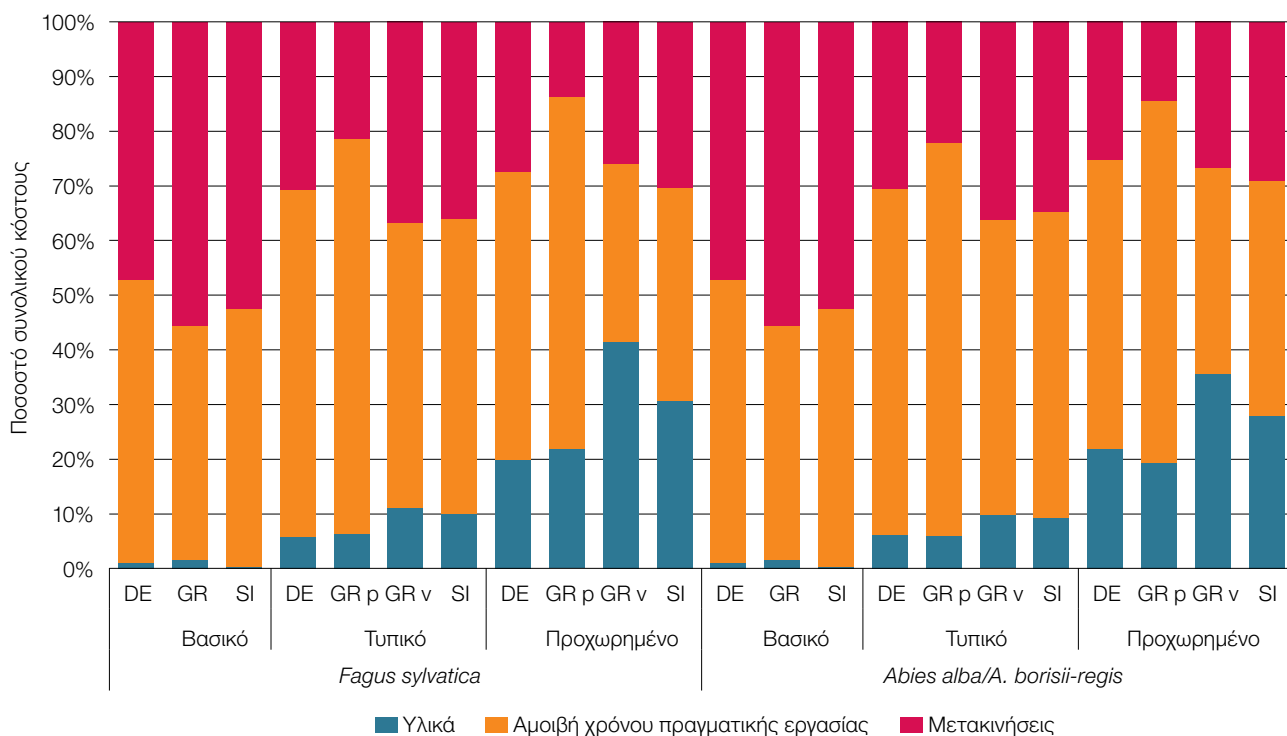
Πίνακας 7.2: Συνεισφορά διαφορετικών κατηγοριών κόστους στο συνολικό κόστος μίας τυπικής 10-ετούς περιόδου γενετικής παρακολούθησης ανά δασοπονικό είδος, χώρα και επίπεδο παρακολούθησης. Τα κόστη μετακινήσεων περιλαμβάνουν το κόστος της χιλιομετρικής απόστασης, την ημερήσια αποζημίωση και τις ανθρωπώρες που δαπανήθηκαν κατά την οδήγηση. DE – Γερμανία, GR p- Ελλάδα, φωτογραφικές παρατηρήσεις, GR v - Ελλάδα, οπτικές παρατηρήσεις, SI - Σλοβενία.

<i>Fagus sylvatica</i> L.					
Επίπεδο	Χώρα	Υλικά [€]	Αμοιβή χρόνου πραγματικής εργασίας [€]	Μετακινήσεις [€]	Σύνολο [€]
Βασικό	DE	105	5,565	5,060	10,730
	GR	87	2,188	2,842	5,117
	SI	13	2,596	2,875	5,484
Τυπικό	DE	1,972	21,744	10,487	34,203
	GR p*	1,957	22,240	6,532	30,729
	GR v*	1,957	9,241	6,532	17,730
	SI	1,978	10,693	7,134	19,805
Προχωρημένο	DE	16,828	44,459	23,122	84,409
	GR p*	24,601	72,227	15,391	112,219
	GR v*	24,601	19,188	15,391	59,181
	SI	17,735	22,434	17,505	57,674
<i>Abies alba</i> Mill./ <i>Abies borisii-regis</i> Maff.					
Επίπεδο	Χώρα	Υλικά [€]	Αμοιβή χρόνου πραγματικής εργασίας [€]	Μετακινήσεις [€]	Σύνολο [€]
Βασικό	DE	105	5,565	5,060	10,730
	GR	87	2,188	2,842	5,117
	SI	13	2,596	2,875	5,484
Τυπικό	DE	1,972	20,164	9,764	31,900
	GR p*	1,659	19,536	6,037	27,232
	GR v*	1,659	9,022	6,037	16,718
	SI	1,737	10,474	6,515	18,726
Προχωρημένο	DE	16,852	40,640	19,453	76,945
	GR p*	17,147	58,707	12,883	88,737
	GR v*	17,147	18,194	12,883	48,224
	SI	14,078	21,805	14,676	50,559

* Οι φαινολογικές παρατηρήσεις (παρατηρήσεις πεδίου) στην Ελλάδα πραγματοποιήθηκαν με λήψη ψηφιακών φωτογραφιών υψηλής ανάλυσης και ανάλυση εικόνας, γεγονός το οποίο αύξησε σημαντικά το συνολικό κόστος της ΓΠΔ σε σύγκριση με την προσέγγιση που χρησιμοποιήθηκε στη Γερμανία και τη Σλοβενία, η οποία βασίστηκε στην οπτική παρατήρηση. Προκειμένου να παρουσιαστούν πιο συγκρίσιμα αποτελέσματα, το αναμενόμενο κόστος των οπτικών παρατηρήσεων της φαινολογίας στην Ελλάδα αξιολογήθηκε επίσης βάσει δεδομένων από τη Γερμανία και τη Σλοβενία.



Σχήμα 7.3: Συνεισφορές διαφορετικών κατηγοριών κόστους στο συνολικό κόστος μίας τυπικής 10-ετούς περιόδου γενετικής παρακολούθησης ανά επιφάνεια για την ευρωπαϊκή οξιά (*Fagus sylvatica*) και τη λευκή ελάτη / υβριδογενή ελάτη *Abies alba / Abies borisii-regis*. Τα έξοδα μετακινήσεων περιλαμβάνουν το κόστος διανυθέντων χιλιομέτρων, την ημερησία αποζημίωση και τις ανθρωπόωρες κατά τη μετακίνηση. DE - Γερμανία, GR p - Ελλάδα, παρατηρήσεις φωτογραφικού πεδίου GR v - Ελλάδα, παρατηρήσεις οπτικού πεδίου SI - Σλοβενία.



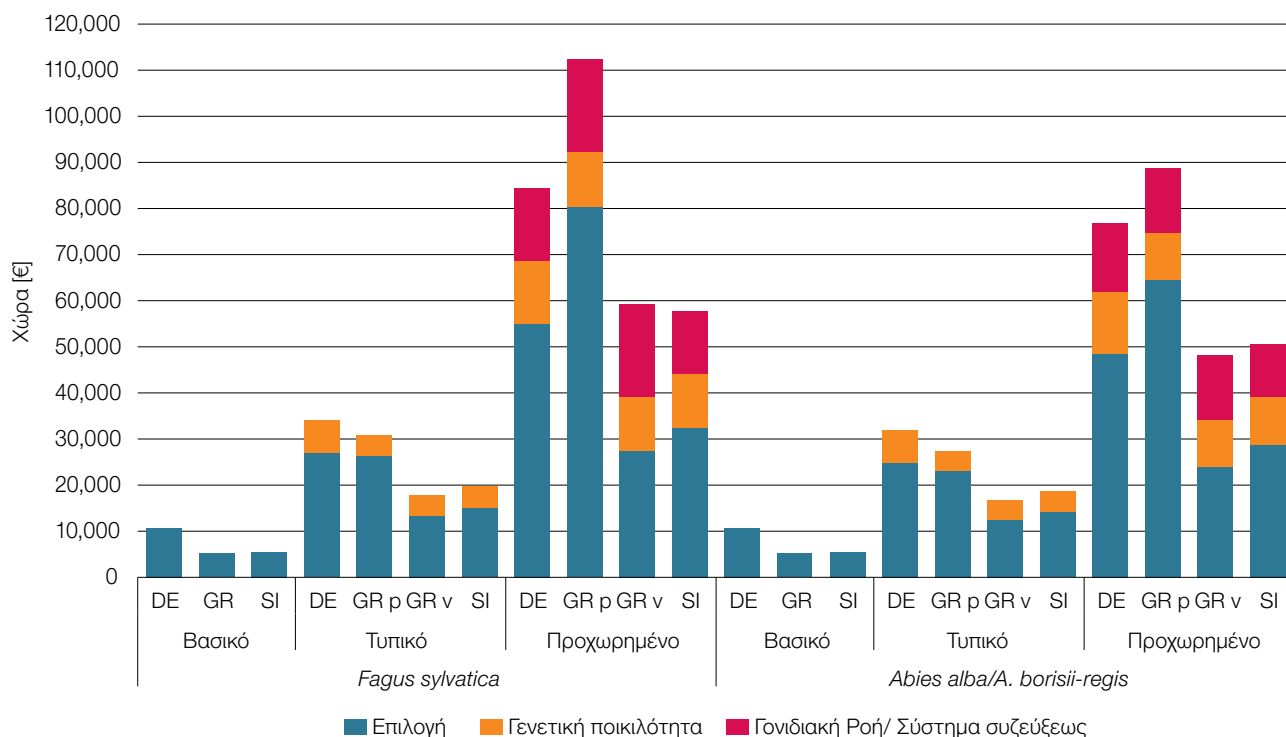
Σχήμα 7.4: Σχετικές συνεισφορές διαφορετικών κατηγοριών κόστους στο συνολικό κόστος μίας τυπικής 10-ετούς περιόδου γενετικής παρακολούθησης ανά επιφάνεια για την ευρωπαϊκή οξιά (*Fagus sylvatica*) και την *Abies alba / Abies borisii-regis*. Τα έξοδα μετακίνησης περιλαμβάνουν το κόστος διανυθέντων χιλιομέτρων, την καθημερινή διαμονή και τις ανθρωπόωρες που δαπανήθηκαν κατά την οδήγηση. DE - Γερμανία, GR p - Ελλάδα, παρατηρήσεις φωτογραφικού πεδίου GR v - Ελλάδα, παρατηρήσεις οπτικού πεδίου SI - Σλοβενία.

7.2.2.2 Κόστος ανά δείκτη

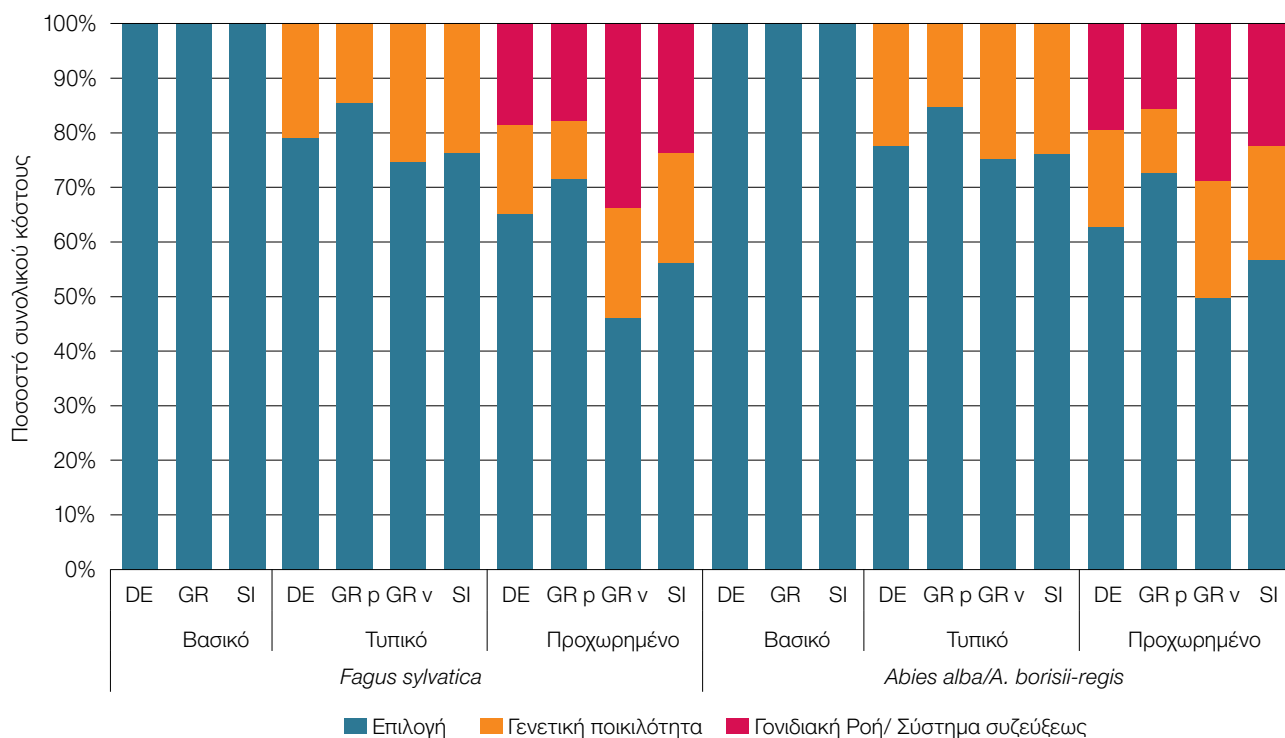
Πίνακας 7.3: Συμβολή των δεικτών γενετικής παρακολούθησης *Επιλογή, Γενετική ποικιλότητα και Γονιδιακή Ροή/ Σύστημα Συζεύξεως* στο συνολικό κόστος ενός μέσου 10ετούς διαστήματος ΓΠΔ, ανά επιφάνεια, είδος, χώρα και επίπεδο παρακολούθησης. DE - Γερμανία, GR - Ελλάδα, παρατηρήσεις φωτογραφικού πεδίου GR - Ελλάδα, παρατηρήσεις οπτικού πεδίου SI - Σλοβενία.

<i>Fagus sylvatica</i> L.					
Επίπεδο	Χώρα	Επιλογή [€]	Γενετική ποικιλότητα [€]	Γονιδιακή Ροή/ Σύστημα συζεύξεως [€]	Σύνολο [€]
Βασικό	DE	10,730	0	0	10,730
	GR	5,117	0	0	5,117
	SI	5,484	0	0	5,484
Τυπικό	DE	27,038	7,166	0	34,203
	GR p*	26,249	4,480	0	30,729
	GR v*	13,251	4,480	0	17,730
	SI	15,111	4,693	0	19,805
Προχωρημένο	DE	54,877	13,766	15,766	84,409
	GR p*	80,350	11,844	20,025	112,219
	GR v*	27,311	11,844	20,025	59,181
	SI	32,430	11,626	13,617	57,674
<i>Abies alba</i> Mill./ <i>Abies borisii-regis</i> Maff.					
Επίπεδο	Χώρα	Επιλογή [€]	Γενετική ποικιλότητα [€]	Γονιδιακή Ροή/ Σύστημα συζεύξεως [€]	Σύνολο [€]
Βασικό	DE	10,730	0	0	10,730
	GR	5,117	0	0	5,117
	SI	5,484	0	0	5,484
Τυπικό	DE	24,780	7,121	0	31,900
	GR p*	23,078	4,154	0	27,232
	GR v*	12,564	4,154	0	16,718
	SI	14,246	4,480	0	18,726
Προχωρημένο	DE	48,372	13,607	14,966	76,945
	GR p*	64,457	10,328	13,951	88,737
	GR v*	23,945	10,328	13,951	48,224
	SI	28,697	10,566	11,296	50,559

* Οι φαινολογικές παρατηρήσεις (παρατηρήσεις πεδίου) στην Ελλάδα πραγματοποιήθηκαν με λήψη ψηφιακών φωτογραφιών υψηλής ανάλυσης και ανάλυση εικόνας, γεγονός το οποίο αύξησε σημαντικά το συνολικό κόστος της ΓΠΔ σε σύγκριση με την προσέγγιση που χρησιμοποιήθηκε στη Γερμανία και τη Σλοβενία, η οποία βασίστηκε στην οπτική παρατήρηση. Προκειμένου να παρουσιαστούν πιο συγκρίσιμα αποτελέσματα, το αναμενόμενο κόστος των οπτικών παρατηρήσεων της φαινολογίας στην Ελλάδα αξιολογήθηκε επίσης βάσει δεδομένων από τη Γερμανία και τη Σλοβενία.



Σχήμα 7.5: Συνεισφορές των διαφορετικών δεικτών - Επιλογή, Γενετική ποικιλότητα & Γονιδιακή Ροή/Σύστημα Συζεύξεως στο συνολικό κόστος μίας τυπικής 10-ετούς περιόδου ΓΠΔ, ανά επιφάνεια για την ευρωπαϊκή οξιά (*Fagus sylvatica*) και την *Abies alba / Abies borisii-regis*. DE - Γερμανία, GR p - Ελλάδα, παρατηρήσεις φωτογραφικού πεδίου GR v - Ελλάδα, παρατηρήσεις οπτικού πεδίου SI - Σλοβενία.



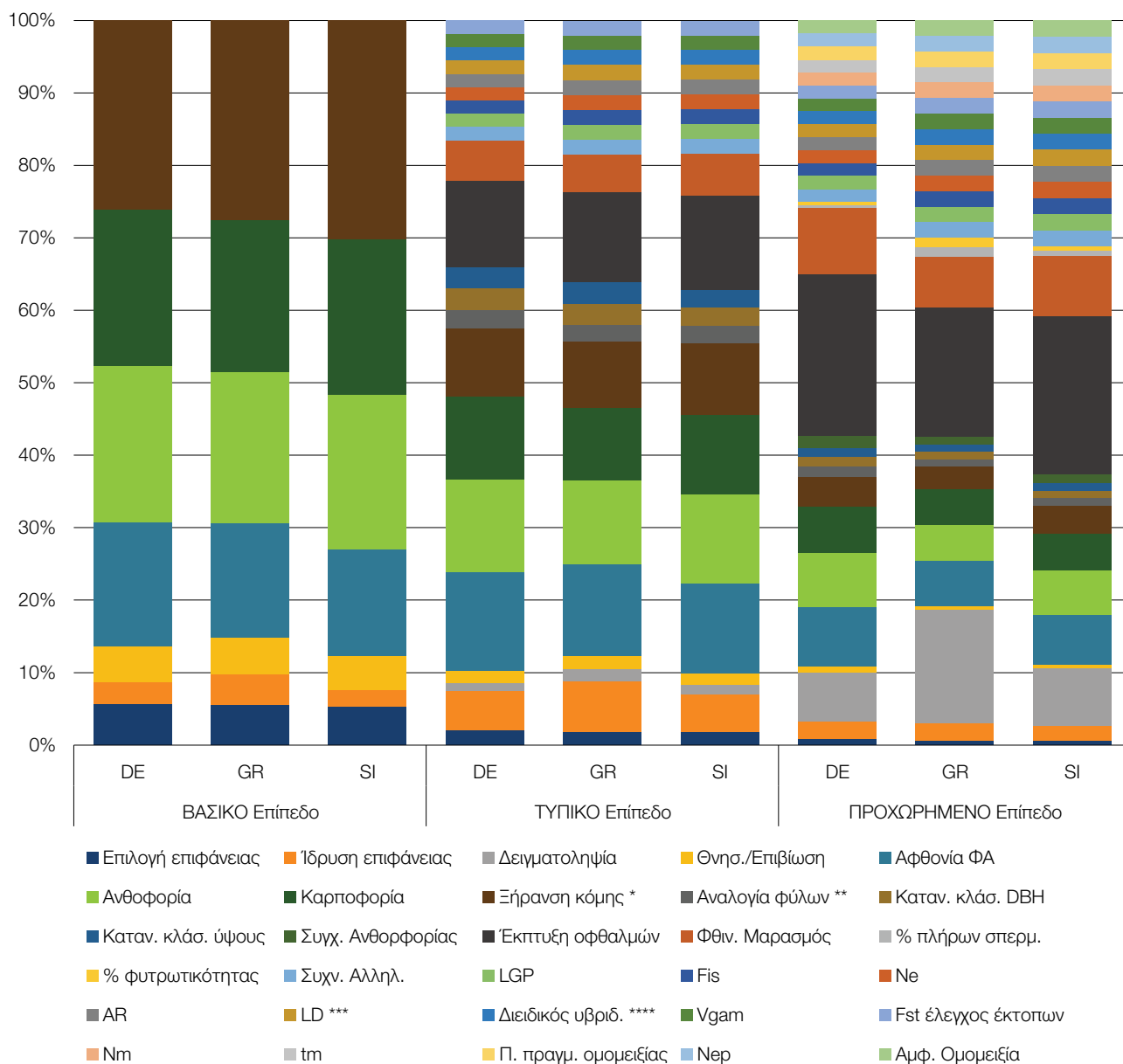
Σχήμα 7.6: Σχετικές συνεισφορές των διαφορετικών δεικτών - Επιλογή, Γενετική ποικιλότητα και Γονιδιακή Ροή/Σύστημα Συζεύξεως στο συνολικό κόστος μίας τυπικής 10-ετούς περιόδου ΓΠΔ, ανά επιφάνεια για την ευρωπαϊκή οξιά (*Fagus sylvatica*) και την *Abies alba / Abies borisii-regis*. DE - Γερμανία, GR p - Ελλάδα, παρατηρήσεις φωτογραφικού πεδίου GR v - Ελλάδα, παρατηρήσεις οπτικού πεδίου SI - Σλοβενία.

7.2.2.3 Κόστος ανά επαληθευτή

Πίνακας 7.4: Κόστος μεμονωμένων επαληθευτών / επιπλέον πληροφοριών μίας τυπικής 10-ετούς περιόδου ΓΠΔ, ανά επιφάνεια, χώρα και επίπεδο παρακολούθησης βάσει των μέσων όρων για την ευρωπαϊκή οξιά και τη λευκή / υβριδογενή ελάτη. Για την Ελλάδα, μόνο το αναμενόμενο κόστος παρακολούθησης μέσω οπτικών παρατηρήσεων στο πεδίο χρησιμοποιήθηκε στους υπολογισμούς. Η απόσταση από την επιφάνεια ΓΠΔ ορίστηκε στα 100 χλμ. για όλες τις χώρες. DE – Γερμανία, GR – Ελλάδα, SI - Σλοβενία. Επιλογή επιφάνειας. – Ίδρυση επιφάνειας – Παρατηρήσεις πεδίου – Δειγματοληψίες - Εργαστηριακές αναλύσεις. Αφθονία ΦΑ – Κατανομή κλάσεων στηθιαίας διαμέτρου – Κατανομή κλάσεων ύψους – Συγχρονισμός ανθοφορίας. AF - Συχνότητα αλληλομόρφων. LGP - Λανθάνον γενετικό δυναμικό. F_{IS} - Συντελεστής ομομιξίας. N_e - Αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού. AR – Αλληλομορφικός πλούτος, LD – Ανισορροπία σύνδεσης. Διειδικός υβριδισμός, t_m – Αναλογία σταυρογονιμοποίησης με βάση πολλαπλές γονιδιακές θέσεις. N_m – Γονιδιακή Ροή, V_{GAM} - Γενετική ποικιλότητα (hypothetic gametic multilocus diversity). N_{ep} - Αποτελεσματικός αριθμός δοτών γύρης – Αμφιγονεϊκή ομομιξία. Τύπος: V - Επαληθευτής, B - "Επιπλέον πληροφορία. Δείκτης: I – Επιλογή, II - Γενετική ποικιλότητα, III – Γονιδιακή Ροή / Σύστημα συζεύξεως. Σύνολο 1 - Συνολικό κόστος για ένα τυπικό μονοκικό δασοπονικό είδος το οποίο δεν παρουσιάζει διειδικά υβρίδια. Σύνολο 2 – Συνολικό κόστος για ένα δίοικο δασοπονικό είδος το οποίο απαιτεί την καταγραφή όλων των επαληθευτών / επιπλέον πληροφοριών

Δραστηριότητα	Παράμετρος	Τύπος	Δείκτης	Κόστος, Βασικό Επίπεδο [€]			Κόστος, Τυπικό Επίπεδο [€]			Κόστος, Προχωρημένο Επίπεδο [€]		
				DE	GR	SI	DE	GR	SI	DE	GR	SI
Plot select.	NA	NA	NA	832	388	415	832	388	415	832	388	415
Plot establ.	NA	NA	NA	426	307	186	2,184	1,455	1,235	2,184	1,455	1,235
Δειγματολ.	NA	NA	NA	-	-	-	460	377	346	6,434	9,540	4,966
Παρατηρήσεις πεδίου	Θνησιμότητα/Επιβίωση	V	I	717	351	364	717	351	364	717	351	364
	Αφθονία ΦΑ	V	I	2,489	1,116	1,158	5,477	2,675	2,947	7,721	3,819	4,264
	Ανθοφορία	V	I	3,132	1,477	1,680	5,174	2,420	2,952	7,017	3,060	3,862
	Καρποφορία	V	I	3,132	1,477	1,680	4,671	2,093	2,590	6,080	2,947	3,173
	Νέκρωση κόμης *	BI	I	3,788	1,950	2,370	3,788	1,950	2,370	3,788	1,950	2,370
	Αναλογία φύλων**	BI	I	-	-	-	1,030	481	562	1,403	633	758
	Κατανομή κλάσεων διαμ.	BI	I	-	-	-	1,207	612	595	1,207	612	595
	Κατανομή κλάσεων ύψους	BI	I	-	-	-	1,207	612	595	1,207	612	595
	Συγχρονισμός ανθοφορίας	BI	I	-	-	-	-	-	-	1,597	642	832
	Έκπτυξη οφθαλμών	BI	I	-	-	-	4,801	2,600	3,090	20,868	10,913	13,661
	Φθιν. μαρσαμός	BI	I	-	-	-	2,283	1,101	1,372	8,574	4,260	5,233
	Εργ. Αναλύσεις	% πλήρων σπερμάτων	V	I	-	-	-	-	-	-	416	808
% φυτρωτικότητας		V	I	-	-	-	-	-	-	416	808	374
Συχνότητα αλληλομόρφων		V	II	-	-	-	743	431	488	1,680	1,308	1,395
LGP		V	II	-	-	-	743	431	488	1,680	1,308	1,395
F_{IS}		V	II	-	-	-	743	431	488	1,680	1,308	1,395
N_e		V	II	-	-	-	743	431	488	1,680	1,308	1,395
AR ***		V	II	-	-	-	743	431	488	1,680	1,308	1,395
LD ***		BI	II	-	-	-	743	431	488	1,680	1,308	1,395
Διειδικός υβριδ. ****		BI	II	-	-	-	743	431	488	1,680	1,308	1,395
V_{GAM}		BI	II	-	-	-	743	431	488	1,680	1,308	1,395
F_{ST} Έλεγχος έκτοπων		BI	II	-	-	-	743	431	488	1,680	1,308	1,395
N_m		V	III	-	-	-	-	-	-	1,680	1,308	1,395
t_m		V	III	-	-	-	-	-	-	1,680	1,308	1,395
Ποσοστό πραγμ. ομομιξίας		V	III	-	-	-	-	-	-	1,680	1,308	1,395
N_{ep}		BI	III	-	-	-	-	-	-	1,680	1,308	1,395
Αμφιγονεϊκή ομομιξία		BI	III	-	-	-	-	-	-	1,680	1,308	1,395
Σύνολο 1 [€]					10,728	5,117	5,484	34,210	17,701	19,919	85,428	55,905
Σύνολο 2 [€]				14,516	7,067	7,855	39,770	20,564	23,339	92,300	59,795	61,206

* μόνο για *Fraxinus excelsior*, ** Δίοικα δασοπονικά είδη, *** AR – SSR δείκτες μόνο, LD – SNP δείκτες μόνο, **** Μόνο για δασοπονικά είδη τα οποία παρουσιάζουν διειδικά υβρίδια στη φύση.



Σχήμα 7.7: Σχετική συμβολή επαληθευτών και επιπλέον πληροφοριών στο συνολικό κόστος μίας τυπικής 10-ετούς περιόδου γενετικής παρακολούθησης ανά επιφάνεια, χώρα και επίπεδο παρακολούθησης για την ευρωπαϊκή οξυά και τη λευκή / υβριδογενή ελάτη. Για την Ελλάδα, μόνο το αναμενόμενο κόστος παρακολούθησης μέσω οπτικών παρατηρήσεων στο πεδίο χρησιμοποιήθηκε στους υπολογισμούς. Η απόσταση από την επιφάνεια ΓΠΔ ορίστηκε στα 100 χλμ. για όλες τις χώρες. DE – Γερμανία, GR – Ελλάδα, SI - Σλοβενία. Επιλογή επιφάνειας. – Ίδρυση επιφάνειας – Παρατηρήσεις πεδίου – Δειγματοληψίες - Εργαστηριακές αναλύσεις. Αφθονία ΦΑ – Κατανομή κλάσεων στηθιαίας διαμέτρου – Κατανομή κλάσεων ύψους – Συγχρονισμός ανθοφορίας. AF - Συχνότητα αλληλομόρφων. LGP - Λανθάνον γενετικό δυναμικό. F_{IS} - Συντελεστής ομομιξίας. Ne - Αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού. AR – Αλληλομορφικός πλούτος. LD – Ανισορροπία σύνδεσης. Δειδικός υβριδισμός, t_m – Αναλογία σταυρογονιμοποίησης με βάση πολλαπλές γονιδιακές θέσεις. N_m – Γονιδιακή Ροή, V_{GAM} - Γενετική πολλαπλότητα, N_{ep} - Αποτελεσματικός αριθμός δοτών γύρης – Αμφιγονεϊκή ομομιξία.

* μόνο για *Fraxinus excelsior*, ** Δίοικα δασοπονικά είδη, *** AR – SSR δείκτες μόνο, LD – SNP δείκτες μόνο, **** Μόνο για δασοπονικά είδη τα οποία παρουσιάζουν διειδικά υβρίδια στη φύση.

7.2.2.4 Κόστος μέσου διαστήματος παρακολούθησης 10 ετών

Πίνακας 7.5: Κόστος τυπικής 10-ετούς περιόδου ΓΠΔ, ανά επιφάνεια και επίπεδο παρακολούθησης. Οι μέσες τιμές υπολογίστηκαν από δεδομένα των τριών χωρών για τα δύο δασοπονικά είδη. Για την Ελλάδα, μόνο το αναμενόμενο κόστος παρακολούθησης μέσω οπτικών παρατηρήσεων στο πεδίο, χρησιμοποιήθηκε στους υπολογισμούς. Η απόσταση από την επιφάνεια ΓΠΔ ορίστηκε στα 100 χλμ. για όλες τις χώρες. SD - τυπική απόκλιση.

Επίπεδο	Επιλογή επιφάνειας		Ίδρυση επιφάνειας		Παρατηρήσεις πεδίου		Δειγματοληψία		Εργαστηριακές αναλύσεις		Σύνολο	
	[€]	SD	[€]	SD	[€]	SD	[€]	SD	[€]	SD	[€]	SD
Βασικό	545	203	307	98	6,259	2,280	0	0	0	0	7,110	2,564
Τυπικό	545	203	1,625	406	16,747	5,514	387	40	3,878	954	23,180	7,074
Προχωρημένο	545	203	1,625	406	35,215	11,333	6,853	2,477	18,594	1,928	62,832	13,346

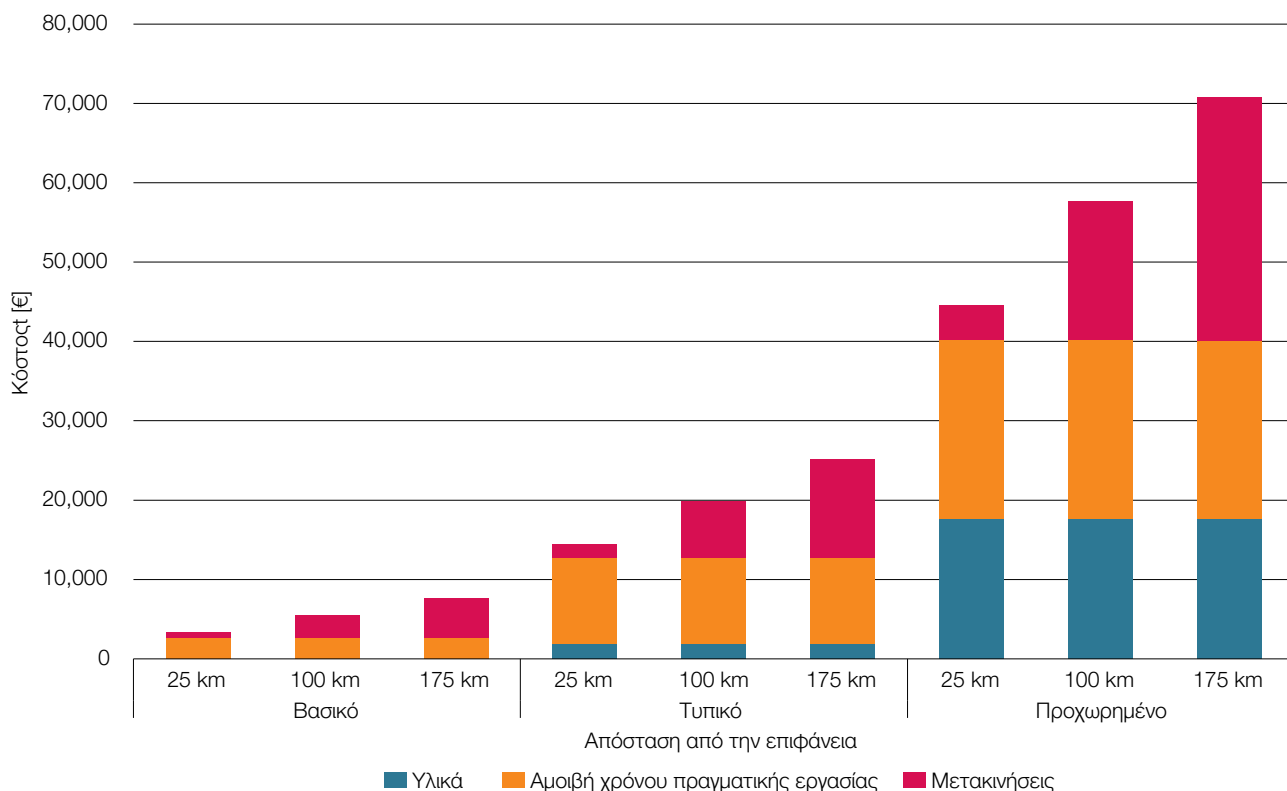
Πίνακας 7.6: Συμβολή διαφορετικών κατηγοριών κόστους στο συνολικό κόστος τυπικής 10-ετούς περιόδου ΓΠΔ, ανά επιφάνεια και επίπεδο παρακολούθησης. Οι μέσες τιμές υπολογίστηκαν από δεδομένα των τριών χωρών και για τα δύο είδη. Για την Ελλάδα, μόνο για το υπολογισμό των μέσων τιμών, ελήφθη υπόψη μόνο το αναμενόμενο κόστος παρακολούθησης με παρατηρήσεις οπτικού πεδίου. Μια απόσταση 100 χλμ. από την επιφάνεια εξετάστηκε για όλες τις χώρες και τα είδη. SD - τυπική απόκλιση.

Επίπεδο	Υλικά		Χρόνος πραγματικής εργασίας		Αμοιβή χρόνου πραγματικής εργασίας		Μετακινήσεις		Μετακινήσεις		Σύνολο	
	[€]	SD	ανθρω- πόωρες	SD	[€]	SD	ανθρω- πόωρες	SD	[€]	SD	[€]	SD
Βασικό	68	40	152	3	3,450	1,505	93	7	3,593	1,038	7,110	2,564
Τυπικό	1,879	130	614	28	13,556	5,285	233	42	7,745	1,726	23,180	7,074
Προχωρημένο	17,873	3,224	1,314	68	27,786	10,595	551	152	17,172	3,379	62,832	13,346

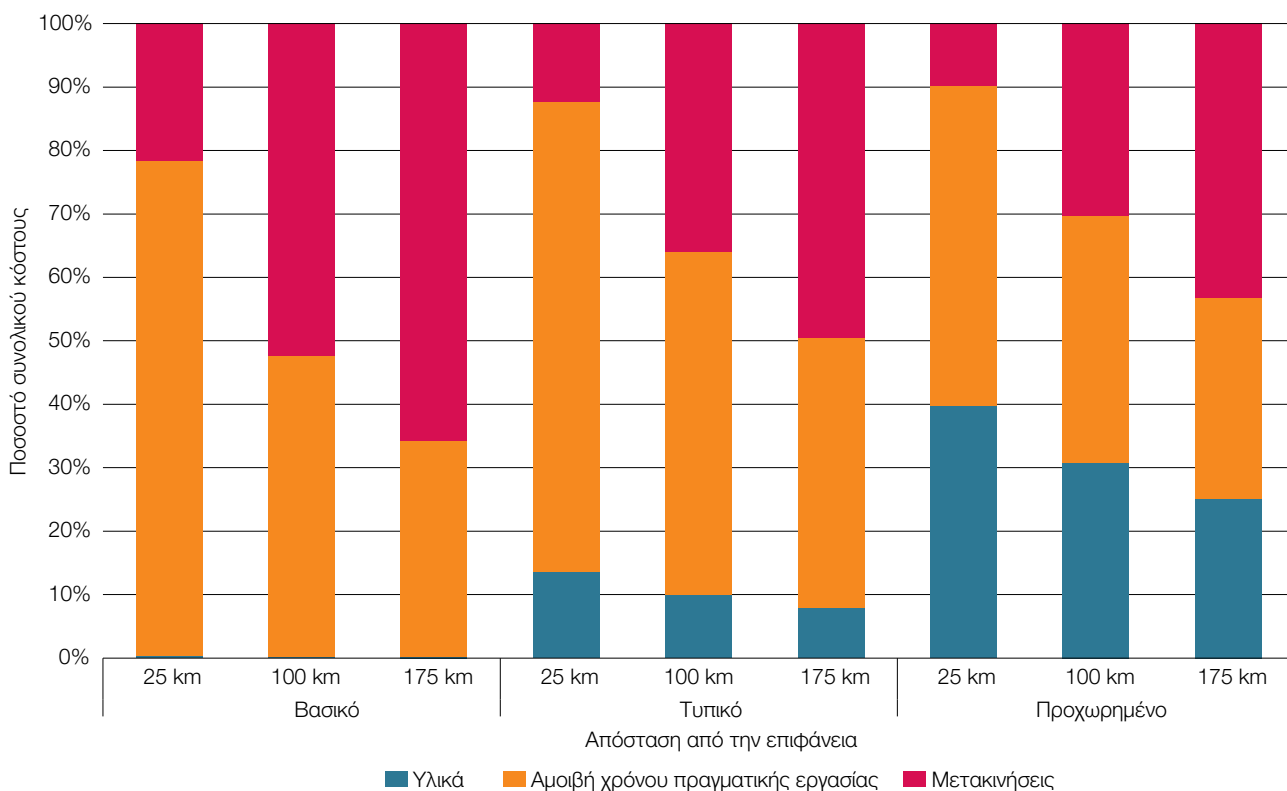
7.2.2.5 Επιδράσεις της απόστασης μετακίνησης στο κόστος μίας τυπικής 10-ετούς περιόδου γενετικής παρακολούθησης

Το κόστος μετακινήσεων μπορεί να συμβάλει σημαντικά στο συνολικό κόστος της γενετικής παρακολούθησης των δασών, αντιπροσωπεύοντας κατά μέσο όρο το 50%, το 36% και το 33% του συνολικού κόστους για το βασικό, τυπικό και προχωρημένο επίπεδο αντίστοιχα, όπως υπολογίστηκαν για απόσταση 100 χλμ. από την επιφάνεια ΓΠΔ. Οι αποστάσεις από τις επιφάνειες ΓΠΔ αναπόφευκτα θα ποικίλουν. Για παράδειγμα, στο έργο LIFEGENMON, η απόσταση των επιφανειών από τις εγκαταστάσεις του κάθε φορέα-εταίρου, κυμαινόταν από 15 έως 175 χιλιόμετρα. Κατά συνέπεια, οι επιπτώσεις της απόστασης μετακίνησης στο συνολικό κόστος μίας τυπικής δεκαετούς περιόδου γενετικής παρακολούθησης αξιολογήθηκαν χρησιμοποιώντας ως παράδειγμα την εφαρμογή της γενετικής παρακολούθησης στην ευρωπαϊκή οξιά στη Σλοβενία:

- Το κόστος υπολογίστηκε για μία περίοδο 10 ΓΠΔ ετών, βάσει του μέσου όρου των πρώτων 50 ετών παρακολούθησης.
- Το κόστος μετακινήσεων υπολογίστηκε για τις τρεις αποστάσεις των φορέων προς την επιφάνεια: 25 χλμ., 100 χλμ. και 175 χλμ. Άλλες κατηγορίες κόστους, όπως το κόστος υλικών και το κόστος αποτελεσματικής εργασίας, παρέμειναν αμετάβλητες.



Σχήμα 7.8: Συμβολή διαφορετικών κατηγοριών κόστους στο συνολικό κόστος τυπικής δεκαετούς περιόδου γενετικής παρακολούθησης σε επιφάνεια ευρωπαϊκής οξιάς (*Fagus sylvatica* L.) στη Σλοβενία συγκριτικά με την απόσταση μετακίνησης. Παρουσιάζονται τιμές για τα τρία επίπεδα ΓΠΔ, βασικό, τυπικό και προχωρημένο.



Σχήμα 7.9: Σχετική συνεισφορά διαφορετικών κατηγοριών κόστους στο συνολικό κόστος τυπικής 10-ετούς περιόδου γενετικής παρακολούθησης σε επιφάνεια ευρωπαϊκής οξιάς (*Fagus sylvatica* L.) στη Σλοβενία, σε σχέση με την απόσταση μετακίνησης. Παρουσιάζονται τιμές και για τα τρία επίπεδα ΓΠΔ, βασικό, τυπικό και προχωρημένο

Πίνακας 7.7: Συμβολή διαφορετικών κατηγοριών κόστους στο συνολικό κόστος μίας τυπικής δεκαετούς περιόδου γενετικής παρακολούθησης σε επιφάνεια ευρωπαϊκής οξιάς (*Fagus sylvatica* L.) στη Σλοβενία, συγκριτικά με την απόσταση μετακίνησης.

Επίπεδο	Απόσταση από επιφάνεια [km]	Υλικά [€]	Αμοιβή χρόνου πραγματικής εργασίας [€]	Μετακινήσεις [€]	Σύνολο [€]
Βασικό	25	13	2,596	719	3,328
	100	13	2,596	2,875	5,484
	175	13	2,596	5,031	7,641
Τυπικό	25	1,978	10,693	1,784	14,454
	100	1,978	10,693	7,134	19,805
	175	1,978	10,693	12,485	25,156
Προχωρημένο	25	17,735	22,434	4,376	44,544
	100	17,735	22,434	17,505	57,674
	175	17,735	22,434	30,635	70,803

7.3 Συμπεράσματα και προτάσεις

Όσον αφορά τις δραστηριότητες που είναι απαραίτητες για τη διεξαγωγή της ΓΠΔ, η κατηγορία «Παρατηρήσεις και μετρήσεις πεδίου», συμβάλλει σε μεγαλύτερο βαθμό στο συνολικό κόστος της ΓΠΔ (Πίν. 1, Σχ. 1 και 2). Για απόσταση 100 χλμ. από την επιφάνεια η κατηγορία «Παρατηρήσεις και μετρήσεις πεδίου» αντιπροσωπεύει κατά μέσο όρο 88%, 72% και 55% του συνολικού κόστους για το βασικό, το τυπικό και το προχωρημένο επίπεδο παρακολούθησης αντίστοιχα.

Από τις τρεις κατηγορίες κόστους, η κατηγορία «Αμοιβή χρόνου πραγματικής εργασίας» συμβάλλει σε μεγαλύτερο βαθμό στο συνολικό κόστος της ΓΠΔ. Για απόσταση 100 χιλιομέτρων από την επιφάνεια, η κατηγορία «Αμοιβή χρόνου πραγματικής εργασίας» αντιπροσωπεύει κατά μέσο όρο 47%, 57% και 43% του συνολικού κόστους για το βασικό, το τυπικό και το προχωρημένο επίπεδο παρακολούθησης αντίστοιχα.

Η κατηγορία κόστους «Κόστη μετακινήσεων» (χιλιομετρική απόσταση, ημερήσια αποζημίωση, ώρες εργασίας που δαπανώνται κατά τη μετακίνηση), μπορεί να έχει σημαντική επίδραση στο συνολικό κόστος της γενετικής παρακολούθησης. Για απόσταση 100 χλμ. από την επιφάνεια η κατηγορία «Κόστη μετακινήσεων» αντιπροσωπεύει κατά μέσο όρο το 52%, 34% και 27% του συνολικού κόστους για το βασικό, το τυπικό και το προχωρημένο επίπεδο παρακολούθησης αντίστοιχα. Η συνεισφορά του κόστους μετακίνησης στο συνολικό κόστος της ΓΠΔ, εξαρτάται άμεσα από την απόσταση και ενδέχεται, για μεγαλύτερες αποστάσεις (βλ. Πιν. 7, Σχ. 10 και 11), να υπερβαίνει το 40% του συνολικού κόστους για όλα τα επίπεδα παρακολούθησης.

Η κατηγορία «Κόστος Υλικών» (αναλώσιμα, υλικά και εξωτερική ανάθεση απαραίτητη για την εκτέλεση δραστηριοτήτων ΓΠΔ), αντιπροσωπεύει ένα σχετικά μικρό μερίδιο του συνολικού κόστους της ΓΠΔ, αντιπροσωπεύοντας κατά μέσο όρο το 1%, το 9% και το 30% του συνολικού κόστους για το βασικό, το τυπικό και το προχωρημένο επίπεδο παρακολούθησης αντίστοιχα. Πέρα από το κόστος αναλωσίμων για εργαστηριακές αναλύσεις, η «Δειγματοληψία» συμβάλει σημαντικά στην κατηγορία «Κόστος Υλικών» του προχωρημένου επιπέδου, με ένα μερίδιο 25% κατά μέσο όρο.

Δεν εντοπίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο κόστος ΓΠΔ μεταξύ των δύο δασοπονικών ειδών για το βασικό επίπεδο. Ωστόσο το συνολικό κόστος ΓΠΔ για τη λευκή / υβριδογενή ελάτη ήταν κατά μέσο όρο 6% και 13% χαμηλότερο συγκριτικά με την ευρωπαϊκή οξιά, στο τυπικό και στο προχωρημένο επίπεδο αντίστοιχα. Η αιτία αυτής της διαφοράς έγκειται στο γεγονός ότι η παράμετρος «Φθινοπωρινός Μαρασμός» δεν καταγράφεται για την ελάτη. Το φαινόμενο αυτό αναμένεται να παρατηρηθεί και σε άλλες συγκρίσεις μεταξύ φυλλοβόλων και κωνοφόρων δασοπονικών ειδών, τα οποία σχηματίζουν συστάδες.

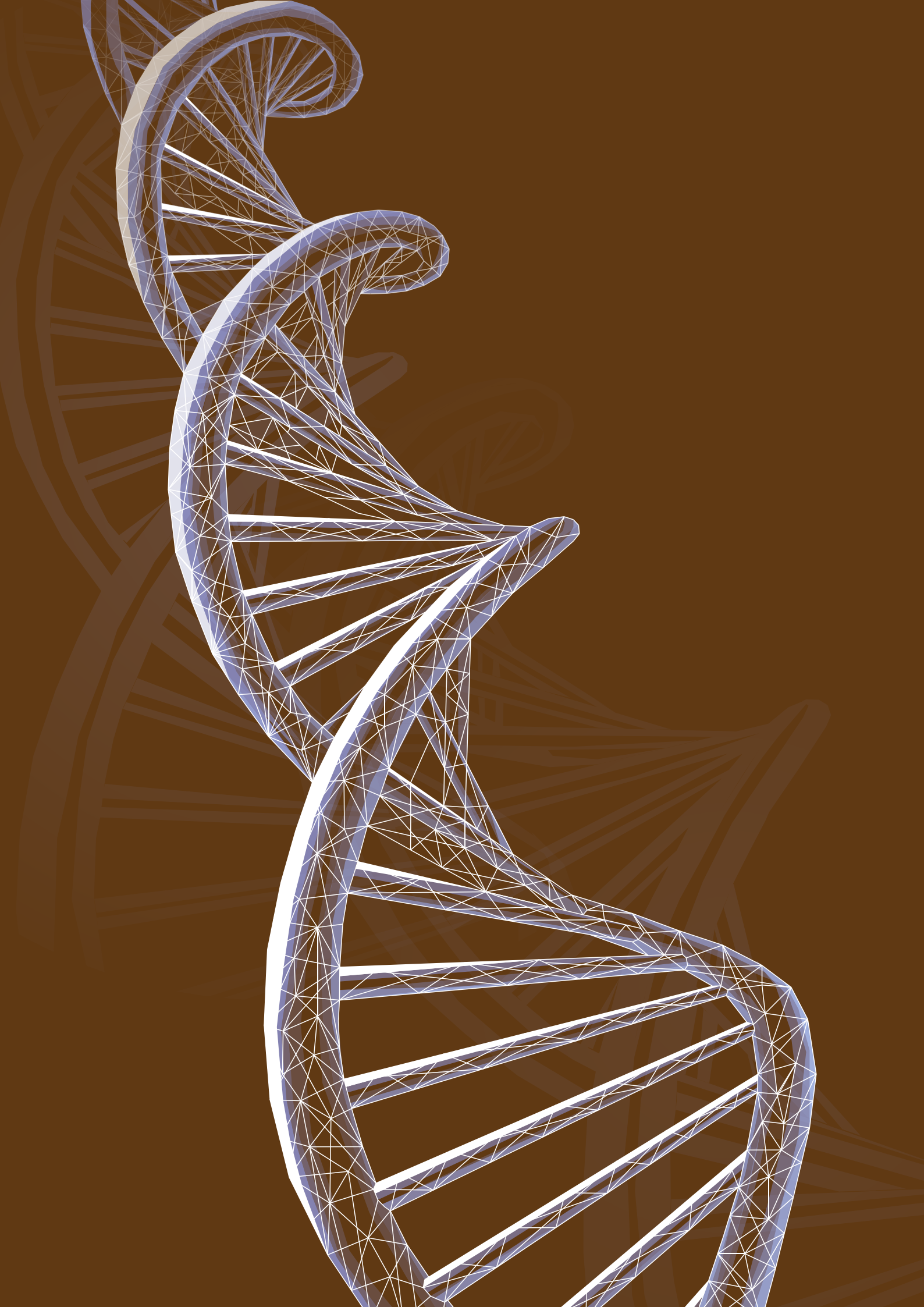
Τα δύο δασοπονικά είδη που αναλύθηκαν στο έργο LIFE GENMON είναι μόνοικα και σχηματίζουν συστάδες. Το κόστος ΓΠΔ για είδη με διάσπαρτη κατανομή, δίοικα είδη και είδη που σχηματίζουν διειδικά υβρίδια ή / και λόχμες κλώνων, αναμένεται να είναι υψηλότερο λόγω αυξημένου φόρτου στις εργασίες πεδίου, στις παρατηρήσεις (αναλογία φύλων, ξήρανση κόμης στον *Fraxinus excelsior*) ή / και λόγω επαυξημένων εργαστηριακών αναλύσεων (ταυτοποίηση κλώνων, υβριδίων) οι οποίες ενδέχεται να απαιτηθούν. Με βάση την εκτίμηση του κόστους καταγραφής επαληθευτών και επιπλέον πληροφοριών (Πίν. 4), το συνολικό κόστος ΓΠΔ για δίοικα δασοπονικά είδη με διάσπαρτη κατανομή, τα οποία απαιτούν την καταγραφή των προτεινόμενων επαληθευτών και υποκειμένων πληροφοριών αναμένεται να είναι τουλάχιστον 39% υψηλότερο στο βασικό επίπεδο, 17% στο τυπικό επίπεδο και 8% στο προχωρημένο επίπεδο αντίστοιχα.

Το εκτιμηθέν κόστος ΓΠΔ είναι υψηλότερο στη Γερμανία – κατά μέσο όρο 84% υψηλότερο από ότι στην Ελλάδα και 72% υψηλότερο σε σύγκριση με τη Σλοβενία, ενώ το κόστος ΓΠΔ είναι 7% υψηλότερο στη Σλοβενία σε σχέση με την Ελλάδα. Μακράν το σημαντικότερο αίτιο για αυτές τις διαφορές μεταξύ κρατών είναι το κόστος της ανθρωπόωρας ανά κατηγορία προσωπικού.

7.3.1 Προτάσεις για εξοικονόμηση κόστους

1. Συνιστάται όπως επιστρατευτεί πλήρως εκπαιδευμένο και έμπειρο προσωπικό για την εκτέλεση όλων των δραστηριοτήτων της ΓΠΔ. Το έμπειρο προσωπικό αναμένεται να εκτελεί τις εργασίες πιο γρήγορα και με λιγότερα λάθη που θα απαιτούσαν την επανάληψη της εργασίας, εξοικονομώντας έτσι χρόνο και πόρους.
2. Επιβάλλεται καλή οργάνωση. Ορισμένες παρατηρήσεις ή μετρήσεις πεδίου, δύνανται να πραγματοποιηθούν στο πλαίσιο της ίδιας επίσκεψης στην επιφάνεια. Για παράδειγμα, η καταγραφή συντεταγμένων GPS, η μέτρηση σθηθιαίας διαμέτρου και ύψους των επιλεγμένων δέντρων μπορούν να καταγραφούν την ίδια μέρα από δύο τεχνικούς πεδίου. Μια τέτοια προσέγγιση θα μειώσει τον αριθμό των μετακινήσεων προς την επιφάνεια και κατά συνέπεια θα μειώσει το συνολικό κόστος τους.
3. Συνιστάται η φωτογράφιση να μην αποτελεί το βασικό μέσο καταγραφής της φαινολογίας, καθώς αυξάνει το συνολικό κόστος του τυπικού και του προχωρημένου επιπέδου ΓΠΔ κατά 77% κατά μέσο όρο!
4. Η κατηγορία κόστους με τη μεγαλύτερη μεταβλητότητα είναι τα «Κόστη μετακινήσεων». Καθώς η ΓΠΔ είναι μια μακροπρόθεσμη διαδικασία, το κόστος μετακίνησης μπορεί να συμβάλει σημαντικά στο συνολικό κόστος της ΓΠΔ. Προκειμένου να μειωθεί η συνεισφορά του κόστους μετακίνησης στο συνολικό κόστος της ΓΠΔ, μπορούν να ληφθούν τα ακόλουθα μέτρα:
 - Κατά τη διαδικασία επιλογής επιφανειών ΓΠΔ, συνήθως ελέγχεται και εκτιμάται η καταλληλότητα πολλαπλών επιφανειών. Εάν διάφορες επιφάνειες πληρούν όλα τα κριτήρια για ΓΠΔ (Κεφάλαιο 2), συνιστάται να επιλεγεί η εγγύτερη επιφάνεια στο ίδρυμα που έχει αναλάβει την εκτέλεση της ΓΠΔ.
 - Συνιστάται όπως συμπεριλάβετε την αρμόδια δασική υπηρεσία (ή ανάλογη υπηρεσία) ως εταίρο στη ΓΠΔ για την εκτέλεση παρατηρήσεων και μετρήσεων πεδίου. Η δασική υπηρεσία οργανώνεται συνήθως ως δίκτυο με τοπικά παραρτήματα σε ολόκληρη τη χώρα. Οι τοπικοί δασολόγοι έχουν υψηλό βαθμό εξοικείωσης με τα δάση στην περιοχή ευθύνης τους και θα χρειαστούν να διανύσουν πολύ μικρότερες αποστάσεις εάν η επιφάνεια ΓΠΔ βρίσκεται στην περιοχή ευθύνης τους. Η σωστή εκπαίδευση δασολόγων (ή άλλου προσωπικού) είναι υψίστης σημασίας για να διασφαλιστεί η συνέπεια και η συγκρισιμότητα των μετρήσεων και των παρατηρήσεων πεδίου. Επίσης συνιστάται η οργάνωση εκπαιδευτικών σεμιναρίων ή άλλων διαδικασιών εκπαίδευσης.
 - Όταν οι εργασίες πεδίου δεν δύνανται να ολοκληρωθούν εντός μιας ημέρας σε επιφάνειες ΓΠΔ που απαιτούν μεγαλύτερους χρόνους μετακίνησης, όπως στην περίπτωση της εγκατάστασης επιφάνειας ή της δειγματοληψίας σπερμάτων, συνιστάται η διανυκτέρευση του προσωπικού αντί των επαναλαμβανόμενων ημερήσιων μετακινήσεων. Με αυτόν τον τρόπο απαιτούνται λιγότερες συνολικά μετακινήσεις και αυξάνεται ο ημερήσιος χρόνος εργασίας στο πεδίο, μειώνοντας τελικά το συνολικό κόστος τέτοιων δραστηριοτήτων, παρά τα επιπρόσθετα έξοδα διαμονής.

- Για την εκτέλεση εργασιών πεδίου, συνιστάται όπως διατεθεί περισσότερο προσωπικό στην εκάστοτε εργασία, εφόσον κάτι τέτοιο καταστεί δυνατόν. Πολυπληθέστερο προσωπικό μπορεί να εκτελέσει περισσότερη δουλειά σε ένα δεδομένο χρονικό διάστημα, ενώ ταυτόχρονα μπορεί να μειωθεί το κατά κεφαλήν κόστος μετακίνησης και ο αριθμός των μετακινήσεων που απαιτούνται για την ολοκλήρωση της εργασίας.
5. Συνιστάται όπως εξεταστούν ευκαιρίες διεθνούς συνεργασίας. Κράτη που μοιράζονται τα ίδια δασοπονικά είδη και τις ίδιες περιβαλλοντικές ζώνες δεν απαιτείται πάντα να διεξάγουν ΓΠΔ ξεχωριστά.





Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών

Κεφάλαιο 8

ΣΥΣΤΗΜΑ ΛΗΨΕΩΣ ΑΠΟΦΑΣΕΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΛΟΓΗ ΕΠΙΠΕΔΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ ΔΑΣΩΝ

Marjana WESTERGREN¹, Marko BAJC¹, Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ³,
Rok DAMJANIĆ¹, Barbara FUSSI², Darius KAVALIAUSKAS², Φώτιος ΚΙΟΥΡΤΣΗΣ⁴,
Παρασκευή ΑΛΙΖΩΤΗ³, Andrej BREZNIKAR⁵, Hojka KRAIGHER¹

Απόδοση στα ελληνικά

Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ, Φανή ΛΥΡΟΥ, Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ

Βιβλιογραφική αναφορά: Westergren κ. ά. (2020) Σύστημα λήψης αποφάσεων για την επιλογή επιπέδου γενετικής παρακολούθησης δασών. Στο: Bajc κ. ά. (Επιμ.) Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας: Silva Slovenica Publishing Centre, Λιουμπλιάνα, σσ. 169-175. <http://dx.doi.org/10.20315/SFS.167>

Affiliations:

1. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας (GIS), Σλοβενίας
2. Βαυαρικό Γραφείο Δασικής Γενετικής (AWG), Γερμανία
3. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), Ελλάδα
4. Αποκεντρωμένη Διοίκηση Μακεδονίας Θράκης, Γενική Διεύθυνση Δασών & Αγροτικών Υποθέσεων, Ελλάδα
5. Δασική Υπηρεσία Σλοβενίας (SFS), Σλοβενία

8.1 Εισαγωγή και σκοπός

Αυτό το κεφάλαιο απευθύνεται στους υπεύθυνους για τη χάραξη πολιτικής σε τοπικό, εθνικό, περιφερειακό και πανευρωπαϊκό επίπεδο, ώστε να υποβοηθήσει την επιλογή του καταλληλότερου επιπέδου γενετικής παρακολούθησης, βάσει των πιθανών ερωτημάτων, του διαθέσιμου ανθρώπινου δυναμικού και οικονομικών πόρων, καθώς και των διαθέσιμων εμπειρογνομώνων. Συνιστάται οι υπεύθυνοι για τη χάραξη πολιτικής να συμβουλευούνται επιστήμονες που εξειδικεύονται στην επιστήμη της γενετικής και της δασολογίας για να προσδιορίσουν τα πιο καίρια ζητήματα της Γενετικής Παρακολούθησης Δασών (ΓΠΔ) σε εθνικό επίπεδο.

Ο συνδυασμός των πληροφοριών από τους παρακάτω πίνακες μπορεί να υποβοηθήσει τη λήψη απόφασης σχετικά με το επίπεδο της ΓΠΔ που προτείνεται να εφαρμοστεί. Ο Πίνακας 1 παραθέτει τις ερωτήσεις που δύνανται να απαντηθούν χρησιμοποιώντας τα δεδομένα που λαμβάνονται από επαληθευτές και επιπλέον πληροφορίες. Το κόστος για την καταγραφή κάθε επαληθευτή για περίοδο 10 ετών παρουσιάζεται στον Πίνακα 2.

8.2 Ερωτήσεις, στις οποίες απαντά η ΓΠΔ

Μια μη εξαντλητική λίστα ερωτημάτων στα οποία δύνανται να απαντήσει η ΓΠΔ παρατίθεται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 8.1: Σύνολο ερωτημάτων που μπορούν να απαντηθούν από ένα δεδομένο επίπεδο Γενετικής Παρακολούθησης Δασών

Ερώτημα	Επίπεδο Γενετικής Παρακολούθησης Δασών		
	Βασικό	Τυπικό	Προχωρημένο
Είναι η συχνότητα καρποφορίας ικανοποιητική (όπως αναμένεται για ένα συγκεκριμένο δασοπονικό είδος);	x	x	x
Είναι η ποσότητα της καρποφορίας ικανοποιητική (όπως αναμένεται για ένα συγκεκριμένο δασοπονικό είδος);	x	x	x
Παρατηρείται απροσδόκητη θνησιμότητα που μπορεί να προκαλέσει συρρίκνωση του πληθυσμού;	x	x	x
Υπάρχει αρκετή φυσική αναγέννηση ώστε να διατηρηθεί το εξελικτικό δυναμικό του πληθυσμού;	x	x	x
Είναι το αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού αρκετά μεγάλο ώστε να διατηρηθεί το εξελικτικό δυναμικό του πληθυσμού;		x	x
Υφίσταται ο πληθυσμός μακροχρόνια μείωση όπως εκτιμάται από τα δημογραφικά πρότυπα;		x	x
Είναι η ποικιλότητα εντός του πληθυσμού (γενετικοί - μοριακοί δείκτες, φαινοτυπική - παραλλαγή χαρακτηριστικών) αρκετά ευρεία ώστε να διατηρήσει το εξελικτικό δυναμικό;		x	x
Ποιος είναι ο λόγος για την υπολειπόμενη φυσική αναγέννηση (έλλειψη επαρκούς ανθοφορίας, έλλειψη συγχρονισμού μεταξύ ανθοφορίας αρσενικών – θηλυκών ανθέων, απόρριψη σπερμάτων πριν την ωρίμανση ή αδυναμία βλάστησης);			x
Παρατηρούνται υψηλά επίπεδα ομομειξίας σε έναν πληθυσμό; Ποια είναι η τάση του φαινομένου;			x
Μπορεί η ροή γονιδίων από άλλους πληθυσμούς να αντισταθμίσει τη βιολογική παρακμή του υπό παρακολούθηση πληθυσμού;			x
Έχει ο πληθυσμός τη δυνατότητα να υπερβεί τις προκλήσεις που επιβάλλει το περιβάλλον;			x

Κατ' ελάχιστον, ο δείκτης «Επιλογή» με τους επαληθευτές του στο βασικό επίπεδο, θεωρείται επαρκής για να παράσχει μια γενική εικόνα για το κατά πόσον μία δασική συστάδα βρίσκεται σε παρακμή. Ωστόσο, η παρακολούθηση αυτού του δείκτη στο βασικό επίπεδο δεν θα εξηγήσει τις βασικές αιτίες μιας αλλαγής.

Όλοι οι επαληθευτές ενός δείκτη σε ένα δεδομένο επίπεδο πρέπει να καταγράφονται για μια πλήρη εικόνα του εν λόγω δείκτη, σύμφωνα με το επίπεδο παρακολούθησης. Οι τέσσερις επαληθευτές βασικού επιπέδου για τον δείκτη Επιλογή (ο ελάχιστος αριθμός επαληθευτών για παρακολούθηση) αναμένεται να προειδοποιήσουν ότι ο πληθυσμός υπό παρακολούθηση βρίσκεται σε στάδιο παρακμής, αλλά δεν δύνανται να δώσουν απάντηση σχετικά με τα αίτια αυτής της παρακμής. Για αυτό, θα πρέπει να εφαρμοστεί η ΓΠΔ και να αναλυθούν οι χρονικές μεταβολές των υπόλοιπων δύο δεικτών και επαληθευτών υψηλότερου επιπέδου.

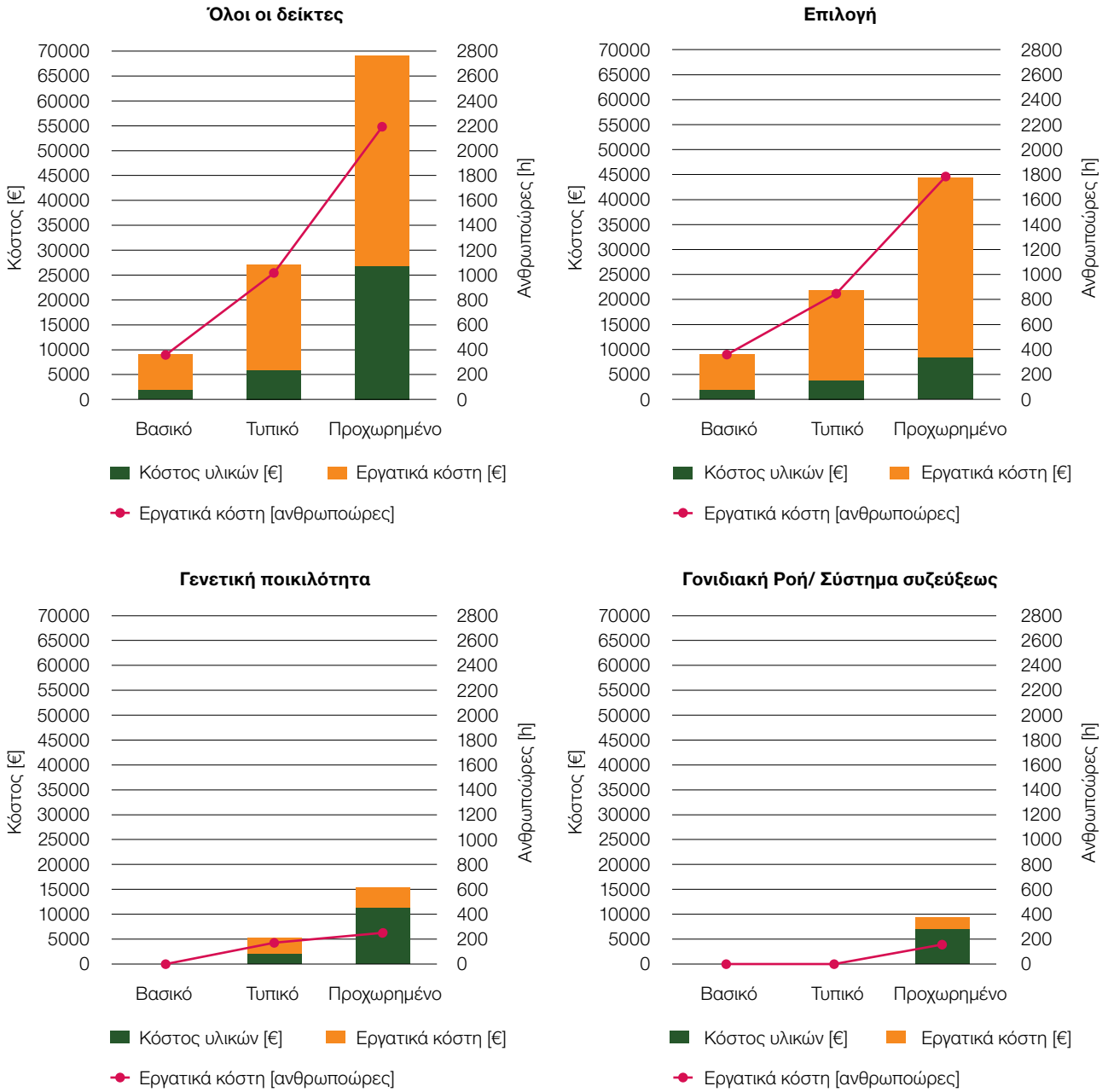
8.3 Κόστος της Γενετικής Παρακολούθησης Δασών

Το κόστος που προκύπτει ανά επαληθευτή για την παρακολούθηση μίας μεμονωμένης επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης η οποία αποτελείται από 50 ενήλικα δέντρα και 40 κέντρα φυσικής αναγέννησης (επιφάνειας 1m² το κάθε ένα), κατά τη διάρκεια μιας περιόδου παρακολούθησης 10 ετών υπολογίστηκε ως ο μέσος όρος του κόστους που σημειώθηκε σε έξι επιφάνειες παρακολούθησης σε τρεις χώρες (Γερμανία, Σλοβενία, Ελλάδα) για δύο δασοπονικά είδη που σχηματίζουν συστάδες: την ευρωπαϊκή οξιά (*Fagus sylvatica* L.) και τη λευκή ελάτη / υβριδογενή ελάτη (*Abies alba* / *A. borisii regis*). Το κόστος ανά επαληθευτή υπολογίστηκε σύμφωνα με τις παραδοχές και τη συχνότητα των παρατηρήσεων επαληθευτή όπως αυτές περιγράφονται στο κεφάλαιο 7 (Εκτίμηση κόστους). Το κόστος διαιρείται σε:

- **Κόστος υλικού:** αναλώσιμα, κόστος μετακινήσεων από / προς την επιφάνεια, έξοδα μετακινήσεων και δειγματοληψία / γενετική ανάλυση μέσω ανάθεσης σε εξωτερικό συνεργάτη.
- **Ανθρωπόωρες:** ώρες εργασίας που απαιτούνται για τη διεξαγωγή παρατηρήσεων πεδίου, δειγματοληψίας, εργαστηριακής εργασίας και γενοτύπησης.

Το μέσο κόστος για την επιλογή και ίδρυση επιφάνειας, για τη δειγματοληψία, καθώς και το μέσο κόστος ανά επαληθευτή και επιπλέον πληροφορία, παρουσιάζεται στον Πίνακα 2. Στο **βασικό επίπεδο**, το συνολικό μέσο κόστος της γενετικής παρακολούθησης ανά δεκαετία είναι περίπου **2000 ευρώ** και **360 ανθρωπόωρες**. Το συνολικό κόστος της γενετικής παρακολούθησης ανά δεκαετία στο **τυπικό επίπεδο** είναι περίπου **5900 EUR** και **1020 ανθρωπόωρες** και στο **προχωρημένο επίπεδο 26800 EUR** και **2190 ανθρωπόωρες**.

Το συνολικό κόστος παρακολούθησης του δείκτη «**Επιλογή**» ανά δεκαετία στο **βασικό επίπεδο** είναι περίπου **2000 EUR** και **360 ανθρωπόωρες**, στο **τυπικό επίπεδο 3800 EUR** και **850 ανθρωπόωρες** και στο **προχωρημένο επίπεδο 8500 EUR** και **1790 ανθρωπόωρες**. Το κόστος παρακολούθησης του δείκτη «**Γενετική Ποικιλότητα**» είναι περίπου **2100 EUR** και **170 ανθρωπόωρες** στο **τυπικό επίπεδο** και **11250 EUR** και **250 ανθρωπόωρες** στο **προχωρημένο επίπεδο**. Το κόστος παρακολούθησης του δείκτη «**Ροή γονιδίων / Σύστημα σύζευξης**» το οποίο πραγματοποιείται μόνο σε **προχωρημένο επίπεδο**, είναι περίπου **7000 EUR** και **160 ανθρωπόωρες** ανά δεκαετία.



Σχήμα 8.1: Συνολικό κόστος γενετικής παρακολούθησης ανά δεκαετία, κόστος υλικών και απαιτήσεις χρόνου ανά επίπεδο παρακολούθησης. Αριστερός κάθετος άξονας = Ευρώ, Δεξιός κάθετος άξονας = Ανθρωποώρες

Πίνακας 8.2: Κόστος επιλογής, ίδρυσης και δειγματοληψίας επιφάνειας, κόστος και αξία πληροφορίας των επαληθευτών και επιπλέον πληροφοριών, για την παρακολούθηση 50 ενήλικων δέντρων και 40 κέντρων φυσικής αναγέννησης για περίοδο 10 ετών. Το κόστος διαιρείται σε υλικές δαπάνες που περιλαμβάνουν αναλώσιμα, κόστος μετακινήσεων από / προς την επιφάνεια, αποζημίωση μετακινήσεων και δειγματοληψία / γενετική ανάλυση μέσω ανάθεσης σε εξωτερικό συνεργάτη και ανθρωπόωρες, που περιλαμβάνουν ώρες που απαιτούνται για τη διεξαγωγή παρατηρήσεων πεδίου, δειγματοληψίας, μετακινήσεων, εργαστηριακής εργασίας, γενοτύπησης και ανάλυσης δεδομένων. Τύπος επαληθευτή: V = επαληθευτής, B = επιπλέον πληροφορίες. Είδος εργασίας: F = εργασία πεδίου, L = εργαστηριακή εργασία. Γκρι σκίαση: ο επαληθευτής δεν καταγράφεται σε ένα δεδομένο επίπεδο. Οι τιμές στρογγυλοποιήθηκαν στα πλησιέστερα 10 ευρώ και 5 ανθρωπόωρες.

Δείκτης	Όνομα επαληθευτή	Τύπος	Τιμή πληρο-φοριών	Τύπος εργασίας	Βασικό επίπεδο		Τυπικό επίπεδο		Προχωρημένο επίπεδο	
					Υλικό [€]	Εργασία [ανθρωπό-ώρες]	Υλικό [€]	Εργασία [ανθρωπό-ώρες]	Υλικό [€]	Εργασία [ανθρωπό-ώρες]
Επιλογή	Θνησιμότητα / Επιβίωση	V	M	F	20	20	20	20	20	20
	Αφθονία Φυσικής Αναγέννησης	V	H	F	240	60	450	155	620	230
	Ανθοφορία	V	M	F	580	65	750	125	860	175
	Καρποφορία	V	M	F	580	65	690	110	690	160
	% πλήρων σπερμάτων	V	L	L					160	20
	% φυτρωτικότητας	V	L	L					160	20
	Νέκρωση κόμης (φράξος)	BI	L	F	430	110	430	110	430	110
	Αναλογία φύλου	BI	L	F			150	25	170	35
	Κατανομή κλάσεων στηθιαίας διαμέτρου DBH	BI	L	F			40	35	40	35
	Κατανομή κλάσεων ύψους	BI	L	F			40	35	40	35
	Συγχρονισμός ανθοφορίας.	BI	L	F					0	45
	Έκπτυξη οφθαλμών	BI	L	F			630	130	3,160	605
	Φυλλόπτωση	BI	L	F			230	60	1,150	240
	Γενετική παραλλακτικότητα	Συχνότητες αλληλομόρφων	V	M	L			210	15	1,040
Λανθάνον γενετικό δυναμικό		V	M	L			210	15	1,040	20
Συντελεστής ομομειξίας		V	M	L			210	15	1,040	20
Αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού		V	H	L			210	15	1,040	20
Αλληλομορφικός πλούτος		V	M	L			210	15	1,040	20
Ανισορροπία σύνδεσης		V	M	L			210	15	1,040	20
Διειδικός υβριδισμός		BI	L	L			210	15	1,040	20
Γενετική πολλαπλότητα		BI	L	L			210	15	1,040	20
Ροή γονιδίων / Σύστημα συζεύξεως	Ανάλυση έκτοπων γονιδιακών θέσεων	BI	L	L			210	15	1,040	20
	Ροή Γονιδίων	V	M	L					1,040	20
	Αναλογία σταυρογονιμοποίησης με βάση πολλαπλές γονιδιακές θέσεις	V	M	L					1,040	20
	Πραγματικό ποσοστό ομομειξίας	V	H	L					1,040	20
	Αποτελεσματικός αριθμός δοτών γύρης	BI	L	L					1,040	20
Αμφιγονεϊκή ομομειξία	BI	L	L					1,040	20	
Κοινές δραστηριότητες	Επιλογή επιφάνειας	NA	NA	NA	70	20	70	20	70	20
	Ίδρυση επιφάνειας	NA	NA	NA	120	10	600	50	600	50
	Δειγματοληψία	NA	NA	NA	0	0	92	20	5,130	100

8.4 Αξία πληροφορίας επαληθευτών ΓΠΑ

Τρεις επαληθευτές αξιολογήθηκαν ως πλούσιοι σε πληροφοριακή αξία: η αφθονία φυσικής αναγέννησης (βασικό, τυπικό, και προχωρημένο επίπεδο, δείκτης «Επιλογή»), το αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού (τυπικό και προχωρημένο επίπεδο, δείκτης «Γενετική ποικιλότητα») και το πραγματικό ποσοστό ομομιξίας (προχωρημένο επίπεδο, δείκτης «Ροή γονιδίων/σύστημα συζεύξεως»). Αυτοί είναι οι τρεις επαληθευτές που ενημερώνουν άμεσα ότι ο υπό παρακολούθηση πληθυσμός βρίσκεται σε παρακμή και απαιτείται άμεση αλλαγή στο διαχειριστικό του σχέδιο. Εάν δεν υπάρχει φυσική αναγέννηση, η συστάδα δεν θα ανανεωθεί. Εάν το αποτελεσματικό μέγεθος του πληθυσμού συρρικνωθεί αρκετά, ο αριθμός των γονέων που συμβάλλουν στην επόμενη γενιά μπορεί να είναι πολύ χαμηλός για να διασφαλιστεί η διατήρηση της γενετικής ποικιλότητας στον πληθυσμό. Εάν το πραγματικό ποσοστό ομομιξίας (έναν συνδυασμός των πληροφοριών που προκύπτουν από τις μοριακές αναλύσεις και τα στοιχεία για την καρποφορία και φύτευση των σπερμάτων) είναι υψηλό, αυτό ενδέχεται να οδηγήσει στην αλληλομορφική εγκαθίδρυση και στη μείωση της γενετικής ποικιλότητας του πληθυσμού.

Οι υπόλοιποι επαληθευτές θεωρείται ότι έχουν μέση πληροφοριακή αξία. Μεμονωμένα, είναι δύσκολο να ερμηνευθούν, αλλά αν ληφθούν υπόψη συνδυαστικά με τους υπόλοιπους επαληθευτές, προσφέρουν μια πιο ολοκληρωμένη εικόνα της κατάστασης του υπό παρακολούθηση πληθυσμού. Παρέχουν επίσης πληροφορίες που βοηθούν στην ερμηνεία των τριών επαληθευτών υψηλής πληροφοριακής αξίας.

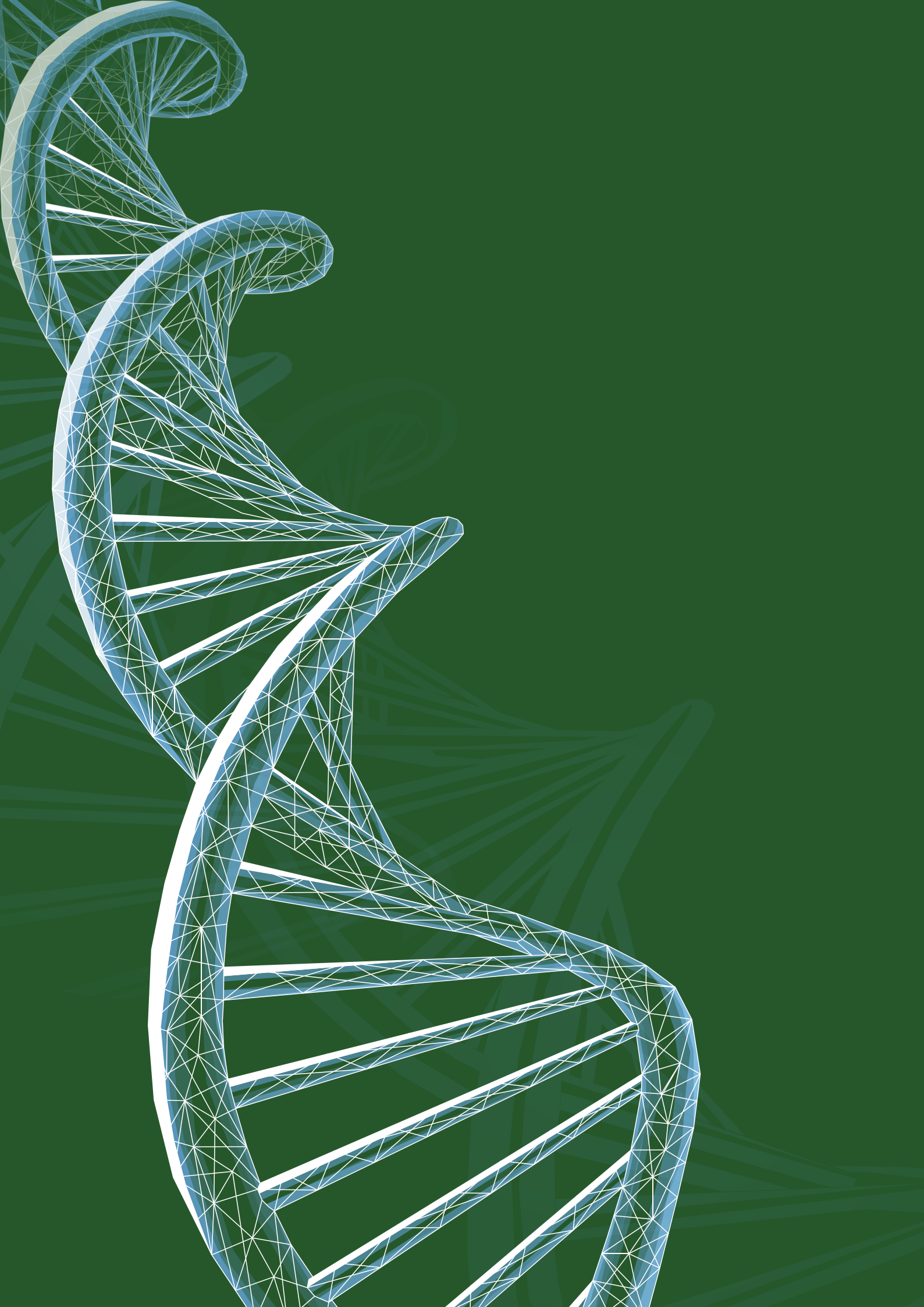
Όλες οι επιπλέον πληροφορίες θεωρείται ότι έχουν χαμηλή πληροφοριακή αξία. Ωστόσο, η καταγραφή τους είναι καίριας σημασίας για την ερμηνεία, τόσο των επαληθευτών με μέση, όσο και υψηλή πληροφοριακή αξία.

8.5 Διαχειριστικά μέτρα σε συνέχεια της ΓΠΑ

Ανάλογα με την τάση των τιμών των επαληθευτών, ενδέχεται να αποφασιστεί η αναβάθμιση του επιπέδου παρακολούθησης από βασικό σε τυπικό ή προχωρημένο, για τη διερεύνηση των αιτιών των παρατηρούμενων τάσεων, ή να μεταβληθούν οι ενέργειες της δασικής διαχείρισης. Αυτές θα πρέπει να περιλαμβάνουν δασοκομικούς χειρισμούς που προωθούν δυναμικές γενετικές διαδικασίες προκειμένου να ευνοηθεί η προσαρμογή και η διατήρηση της γενετικής ποικιλότητας (Koskela *et al.* 2013). Κυρίως αφορούν τη διατήρηση ή την αύξηση του αριθμού δέντρων που καρποφορούν και την επιβίωση των δενδρυλλίων μέσω π.χ. καθιέρωσης κατάλληλων συνθηκών φωτός, προστασίας μεμονωμένων φυτών, διαχείρισης/ απομάκρυνσης υπορόφου και ζιζανίων, προετοιμασίας εδάφους ή πρόληψης πυρκαγιάς και ελέγχου φυτοφάγων ζώων, περιλαμβανομένης της εγκατάστασης περίφραξης. Η ανανέωση της συστάδας μπορεί επίσης να αναβληθεί για λίγα χρόνια, σε αναμονή της εμφάνισης της φυσικής αναγέννησης. Οι αραιώσεις είναι επωφελείς, αλλά θα πρέπει να αποφευχθεί η μείωση του αριθμού των δέντρων που καρποφορούν (το αποτελεσματικό μέγεθος του πληθυσμού) σε πολύ χαμηλό αριθμό. Κατά τη διενέργεια αραιώσεων, θα πρέπει να δοθεί προσοχή στη διατήρηση ενός συνόλου δέντρων με υψηλή παραλλακτικότητα στο γνώρισμα της φαινολογίας άνθησης (δηλ. διατήρηση δέντρων που ανθίζουν νωρίτερα και αργότερα από το αναμενόμενο). Σε αντίθεση με την κοινώς αποδεκτή θεώρηση ότι δραστικά μεγέθη πληθυσμού 50 ή περισσότερων δέντρων αρκούν για να αντισταθμιστεί η μείωση της αρμοστικότητας του πληθυσμού, σύμφωνα με την πρόσφατη βιβλιογραφία η ελάχιστη τιμή δε θα πρέπει να είναι μικρότερη από 100 (Frankham *et al.* 2014). Με αποτελεσματικό μέγεθος πληθυσμού υψηλότερο ή ίσο με $N=100$, η απώλεια σε συνολική αρμοστικότητα παραμένει λιγότερη από 10% σε πέντε γενιές, ενώ για τη διατήρηση του εξελικτικού δυναμικού για αρμοστικότητα αναπαραγωγής στο διηνεκές απαιτούνται δραστικά μεγέθη πληθυσμού με $N=1000$ ή περισσότερων ατόμων (Frankham *et al.* 2014). Οι Hoban *et al.* (2020) όρισαν το αποτελεσματικό μέγεθος του πληθυσμού κάτω από το οποίο ο πληθυσμός έχει μειωμένη ικανότητα προσαρμογής στην περιβαλλοντική μεταβολή σε $N=500$ άτομα.

Βιβλιογραφία

- Frankham R, Bradshaw CJA, Brook BW (2014) Genetics in conservation management: Revised recommendations for the 50/500 rules, Red List criteria and population viability analyses. *Biol Conserv* 170:56-63. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2013.12.036>
- Hoban S, Bruford M, Jackson DJ et al (2020) Genetic diversity targets and indicators in the CBD post-2020 Global Biodiversity Framework must be improved. *Biol Conserv* 248:108654. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108654>
- Koskela J, Lefèvre F, Schueler S, Kraigher H, Olrik DC, Hubert J, et al (2013) Translating conservation genetics into management: pan-European minimum requirements for dynamic conservation units of forest tree genetic diversity. *Biol Conserv* 157:39-49. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2012.07.023>





LIFE13 ENV/SI/000148

Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών

Κεφάλαιο 9

ΚΑΤΕΥΘΥΝΤΗΡΙΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ για τη ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΔΑΣΩΝ

Darius KAVALIAUSKAS¹, Marjana WESTERGRENN², Παρασκευή ΑΛΙΖΩΤΗ³,
Gregor BOŽIČ², Barbara FUSSI¹, Kristina SEVER⁴, Andrej BREZNIKAR⁴, Marko BAJC²,
Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ³, Dalibor BALLIAN^{2,5}, Ευάγγελος ΜΠΑΡΜΠΑΣ³,
Sándor BORDÁCS⁶, Rok DAMJANIČ², Natalija DOVČ², Domen FINŽGAR^{2,7},
Berthold HEINZE⁸, Φώτιος ΚΙΟΥΡΤΣΗΣ⁹, Monika KONNERT¹, Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ³,
Zvonimir VUJNOVIĆ¹⁰, Peter ŽELEZNIK², Hojka KRAIGHER²

Απόδοση στα ελληνικά

Μαρίτα ΠΑΠΑΓΙΑΝΝΗ, Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ, Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ

Βιβλιογραφική παράθεση: Kavaliauskas κ.α. (2020) Κατευθυντήριες Οδηγίες για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών. Στο: Bajc κ. ά. (Επιμ.) Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών. Ινστιτούτο Δασών Σλοβενίας: Silva Slovenica Publishing Centre, Λιουμπλιάνα, σσ. 177-317. <http://dx.doi.org/10.20315/SFS.167>

Φορείς:

1. Βαυαρικό Γραφείο Δασικής Γενετικής (AWG), Γερμανία
2. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας (GIS), Σλοβενία
3. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), Ελλάδα
4. Σχολή Δασολογίας, Πανεπιστήμιο του Σαράγεβο, Βοσνία και Ερζεγοβίνη
5. Δασική Υπηρεσία Σλοβενίας (ZGS), Σλοβενία
6. Πανεπιστήμιο Szent István, Βουδαπέστη, Ουγγαρία
7. Ινστιτούτο Εξελικτικής Βιολογίας, Πανεπιστήμιο του Εδιμβούργου, Ηνωμένο Βασίλειο
8. Αυστριακό Ομοσπονδιακό Κέντρο Ερευνών Δασών (BFW), Αυστρία
9. Αποκεντρωμένη Διοίκηση Μακεδονίας -Θράκης, Γενική Διεύθυνση Δασών και Αγροτικών Υποθέσεων, Ελλάδα
10. Ινστιτούτο Δασικών Ερευνών Κροατίας, Jastrebarsko, Κροατία

9.1 Εισαγωγή

Στα πλαίσια του έργου LIFE GENMON αναπτύχθηκαν κατευθυντήριες οδηγίες για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών (ΓΠΔ) για επτά επιλεγμένα είδη/ συμπλέγματα ειδών (σύμπλεγμα *Abies alba* Mill.- *Abies borisii-regis* Mattf., *Fagus sylvatica* L., *Fraxinus excelsior* L., *Pinus nigra* J.F. Arnold, *Populus nigra* L., *Prunus avium* (L.) L., σύμπλεγμα *Quercus robur* L. - *Quercus petraea* (Matt.) Liebl), με στόχο τη διευκόλυνση της εφαρμογής της γενετικής παρακολούθησής τους σε Ευρωπαϊκό επίπεδο. Οι οδηγίες παρέχουν εξειδικευμένη καθοδήγηση όσον αφορά τον τρόπο επιλογής, εγκαθίδρυσης και συντήρησης των επιφανειών ΓΠΔ, την καταγραφή όλων των επαληθευτών στο πεδίο (π.χ. θνησιμότητα/ επιβίωση, καρποφορία, αφθονία φυσικής αναγέννησης), όπως και επιπλέον πληροφορίες (π.χ. κατανομή κλάσεων διαμέτρου στο στήθιαίο ύψος, κατανομή κλάσεων ύψους, έκπτυξη οφθαλμών, φθινοπωρινός μαρασμός, κλπ.), για διαφορετικά «πρότυπα» δασοπονικών ειδών σε διαφορετικά επίπεδα παρακολούθησης (βασικό, τυπικό και προχωρημένο). Ακόμη, δόθηκε έμφαση στην εξειδίκευση της γενετικής παρακολούθησης για κάθε είδος δέντρου ή σύμπλεγμα ειδών, λαμβάνοντας υπόψη τη βιολογία τους (π.χ. σύστημα σύζευξης / αναπαραγωγής, οικολογία κ.λπ.), την κατανομή τους (διάσπαρτη ή συνεχής) και την οικονομική και οικολογική αξία των ειδών (Πίνακας 1). Συνεπώς, τα επιλεγμένα είδη αντιπροσωπεύουν ένα διευρυμένο φάσμα βιολογικών και οικολογικών απαιτήσεων και ένα εύρος καταστάσεων διατήρησης, καθιστώντας τις ακόλουθες εξειδικευμένες ως προς τα είδη κατευθυντήριες οδηγίες, κατάλληλες για μια ευρύτερη εφαρμογή εντός της Ευρωπαϊκής δασικής διαχείρισης, η οποία ξεπερνά τα συγκεκριμένα επτά είδη. Οι κατευθυντήριες οδηγίες για δασική γενετική παρακολούθηση στα είδη *Fagus sylvatica* και *Abies alba/Abies borisii-regis*, αναπτύχθηκαν με βάση τα αποτελέσματα και την εμπειρία που αποκτήθηκαν από την εφαρμοσμένη γενετική παρακολούθηση των ειδών αυτών, στα πλαίσια του έργου LIFE GENMON στη Γερμανία, στη Σλοβενία και στην Ελλάδα. Συνολικά, εγκαθιδρύθηκαν έξι επιφάνειες ΓΠΔ (τρεις για τη *Fagus sylvatica* και τρεις για τις *Abies alba/Abies borisii-regis*). Οι παραπάνω πιλοτικές επιφάνειες, θα παραμείνουν διαθέσιμες με σκοπό τη συνέχιση του έργου της γενετικής παρακολούθησης και έρευνας στο μέλλον.

Συνολικά, οι κατευθυντήριες οδηγίες για ΓΠΔ των επτά επιλεγμένων ειδών, αναμένεται να συμβάλλουν στη δημιουργία ενός δικτύου επιφανειών γενετικής παρακολούθησης σε ολόκληρη την Ευρώπη, με στόχο την έγκαιρη αξιολόγηση των επιπτώσεων της κλιματικής αλλαγής στη γενετική ποικιλότητα των πληθυσμών δασικών δέντρων, έτσι ώστε η διαχείρισή τους να προσαρμοστεί αναλόγως και να εφαρμοστεί εγκαίρως και αποτελεσματικά.

Οι κατευθυντήριες οδηγίες, προορίζονται κυρίως για το προσωπικό το οποίο πραγματοποιεί εργασίες πεδίου, οι οποίες σχετίζονται με τη ΓΠΔ και περιλαμβάνουν λεπτομερείς οδηγίες όσον αφορά τον τρόπο διεξαγωγής τακτικών παρατηρήσεων και μετρήσεων για αυτή τη μεθοδολογία βιοπαρακολούθησης, όπως φαινολογικές παρατηρήσεις, εκτιμήσεις θνησιμότητας / επιβίωσης, αξιολογήσεις της αφθονίας φυσικής αναγέννησης κ.λπ. Για να διασφαλιστούν συγκρίσιμα αποτελέσματα σε βάθος χρόνου από τα άτομα που πραγματοποιούν τις παρατηρήσεις, είναι αναγκαία η τυποποίηση των εργασιών πεδίου και της συλλογής δεδομένων. Μετά από την κατάλληλη προετοιμασία και εκπαίδευση, οι παρατηρήσεις πεδίου, μπορούν να πραγματοποιηθούν από τεχνικούς πεδίου, δασολόγους ή άλλους επιστήμονες. Δεδομένου ότι πολλές από τις παρατηρήσεις στο πεδίο εξαρτώνται από την οπτική αξιολόγηση και - τουλάχιστον εν μέρει - υπόκεινται σε υποκειμενική ερμηνεία, συνιστάται η διοργάνωση εκπαιδευτικών σεμιναρίων για το προσωπικό που εμπλέκεται στην καταγραφή παρατηρήσεων στο πεδίο προκειμένου να διασφαλιστεί το υψηλότερο επίπεδο συγκρισιμότητας και αξιοπιστίας των συλλεγόμενων δεδομένων.

Πίνακας 9.1. Κατάλογος των ειδών για τα οποία αναπτύχθηκαν κατευθυντήριες οδηγίες στα πλαίσια του έργου LIFE GENMON. Τα επτά είδη/συμπλέγματα ειδών θεωρούνται σημαντικά από οικολογική και οικονομική άποψη. Κατάσταση διατήρησης - IUCN (στην Ευρώπη σύμφωνα με τον Κόκκινο Κατάλογο της IUCN): ΧΚ – Χαμηλού Κινδύνου, ΣΑ- Σχεδόν Απειλούμενο, ΑΔ – Ανεπαρκή Δεδομένα, ΜΑ - Μη Αξιολογηθέν, Τάση του πληθυσμού (στην Ευρώπη, σύμφωνα με τον Κόκκινο Κατάλογο της IUCN): — - σταθερή, ↓ - μειούμενη, ? - άγνωστη, ΜΑ – μη αξιολογημένη, Κατανομή: Σ – σε συστάδες, Δ – διάσπαρτα, Ταξινόμηση Φ - φυλλοβόλο, Κ – κωνοφόρο, Επικονίαση: Α - ανεμογαμία, Ε- εντομογαμία, Φυλοκατανομή: Μ - μόνοικο, Δ - δίοικο.

Είδη	Κατάσταση διατήρησης - IUCN	Τάση του πληθυσμού	Κατανομή	Ταξινόμηση	Επικονίαση	Δίοικα/ Μόνοικα
<i>Fagus sylvatica</i>	ΧΚ ¹	— ¹	Σ	Φ	Α	Μ
<i>Abies alba/</i> <i>Abies borisii-regis</i>	ΧΚ ¹ ΜΑ	— ¹ ΜΑ	Σ	Κ	Α	Μ
<i>Populus nigra</i>	ΑΔ ³	↓ ³	Δ	Φ	Α	Δ
<i>Fraxinus excelsior</i>	ΣΑ ⁴	↓ ⁴	Σ/Δ*	Φ	Α	Μ
<i>Pinus nigra</i>	ΧΚ ⁵	— ⁵	Σ	Κ	Α	Μ
<i>Prunus avium</i>	ΧΚ ⁶	— ⁶	Δ	Φ	Ε	Μ
<i>Quercus robur/</i> <i>Quercus petraea</i>	ΧΚ ⁷ ΧΚ ⁸	↓ ⁷ ? ⁸	Σ	Φ	Α	Μ

* Ο φράξος μπορεί να σχηματίσει αμιγείς συστάδες, αλλά απαντάται συχνότερα σε μικρότερες ομάδες ατόμων εντός μεικτών συστάδων, όπως και άλλα δασοπονικά είδη με διάσπαρτη κατανομή.

Παραπομπές πίνακα

1. Barstow M, Beech E (2018) *Fagus sylvatica*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2018: e.T62004722A62004725. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-1.RLTS.T62004722A62004725.en> Accessed 04 December 2020
2. Farjon, A (2017) *Abies alba*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2017: e.T42270A83978869. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-2.RLTS.T42270A83978869.en> Accessed 04 December 2020
3. Harvey-Brown Y, Barstow M, Mark J & Rivers, MC (2017) *Populus nigra*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2017: e.T63530A68106816 <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-3.RLTS.T63530A68106816.en> Accessed 04 December 2020
4. Khela S & Oldfield S (2018) *Fraxinus excelsior*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2018: e.T203367A67807718. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-1.RLTS.T203367A67807718.en> Accessed 04 December 2020
5. Farjon A (2013) *Pinus nigra*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2013: e.T42386A2976817. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2013-1.RLTS.T42386A2976817.en> Accessed 04 December 2020
6. Rivers MC (2017) *Prunus avium*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2017: e.T172064A50673544. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-3.RLTS.T172064A50673544.en> Accessed 04 December 2020
7. Gorener V, Khela S & Barstow M (2017) *Quercus petraea*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2017: e.T62539A3116237. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-3.RLTS.T62539A3116237.en> Accessed 04 December 2020
8. Barstow M & Khela S (2017) *Quercus robur*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2017: e.T63532A3126467. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-3.RLTS.T63532A3126467.en> Accessed 04 December 2020

9.2 Κατευθυντήριες οδηγίες για τα επτά επιλεγμένα είδη

9.2.1 Λευκής Ελάτης (*Abies alba* Mill.) και της Υβριδογενούς Ελάτης (*Abies borisii-regis* Mattf.)

Darius Kavaliauskas¹, Barbara Fussi¹, Dalibor Ballian^{2,3}, Παρασκευή Αλιζώτη⁴, Νικόλαος Τουρβάς⁴, Gregor Božič², Ευάγγελος Μπάρμπας⁴, Marjana Westergren², Marko Bajc², Rok Damjanič², Natalija Donč², Φίλιππος Α. Αραβανόπουλος⁴, Hojka Kraigher²

Απόδοση στα ελληνικά

Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ, Μαρίτα ΠΑΠΑΓΙΑΝΝΗ, Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ

Εικονογράφηση Anja Rupar



Βιβλιογραφική παράθεση: Kavaliauskas κ.α. (2020) Κατευθυντήριες Οδηγίες για τη Γενετική Παρακολούθηση της Λευκής Ελάτης (*Abies alba* Mill.) και της Υβριδογενούς Ελάτης (*Abies borisii-regis* Mattf.). Στο: Bajc κ. ά. (Επιμ.) Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών. Ινστιτούτο Δασών Σλοβενίας; Silva Slovenica Publishing Centre, Λιουμπλιάνα, σσ. 181-198. <http://dx.doi.org/10.20315/SFS.167>

Φορείς:

1. Βαυαρικό Γραφείο Δασικής Γενετικής (AWG), Γερμανία
2. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας (SF), Σλοβενία
3. Πανεπιστήμιο του Σαράγεβο, Τμήμα Δασολογίας, Βοσνία και Ερζεγοβίνη
4. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), Ελλάδα

1 Περίληψη

Η λευκή ελάτη (*Abies alba*) και η υβριδογενής ελάτη (*Abies borisii-regis*) είναι ανεμογαμή, μόνοικα, κωνοφόρα είδη του γένους *Abies*, τα οποία διασταυρώνονται μεταξύ τους. Η λευκή ελάτη είναι ένα από τα σημαντικότερα δασικά είδη από οικονομική και οικολογική άποψη σε πολλές χώρες της Ευρώπης. Η υβριδογενής ελάτη αποτελεί φυσικό υβρίδιο της *Abies alba* και της *Abies cephalonica* Loudon και είναι ένα σημαντικό είδος με κύρια εξάπλωση στην Ελλάδα. Και τα δύο είδη αντιμετωπίζουν απειλές και προκλήσεις λόγω της κλιματικής αλλαγής και για αυτό έχουν ενταχθεί αμφότερα σε καθεστώς γενετικής παρακολούθησης δασών (ΓΠΔ).

Οι παρούσες οδηγίες δίνουν μια σύντομη περιγραφή της λευκής και της υβριδογενούς ελάτης, της αναπαραγωγικής τους διαδικασίας, των περιβαλλοντικών απαιτήσεών τους και των απειλών που δέχονται. Παρέχονται επίσης κατευθυντήριες οδηγίες για την ίδρυση και τη διατήρηση μιας επιφάνειας ΓΠΔ και για την καταγραφή όλων των επαληθευτών στο πεδίο, καθώς και άλλων φαινοτυπικών δεδομένων σε βασικό, τυπικό και προχωρημένο επίπεδο.



Εικόνα 1: Γενική άποψη λευκής ελάτης (*Abies alba*) (α), αρτίφυτο λευκής/υβριδογενούς ελάτης (β), κλαδί με βελόνες από υβριδογενή ελάτη (γ) και από λευκή ελάτη (δ).

2 Περιγραφή ειδών

Η λευκή και η υβριδογενής ελάτη (Εικόνα 1) είναι μόνοικα, κωνοφόρα δέντρα, τα οποία υπό ιδανικές συνθήκες μπορούν να ξεπεράσουν τα 50 μ (60μ) σε ύψος και το 1.5μ (2 μ) σε σθηθαία διάμετρο [1, 4, 16, 28, κ.ο.κ.]. Λόγω του χαμηλού ρυθμού ανάπτυξης του επικόρυφου, τα γηραιότερα δέντρα χάνουν την κωνικότητά τους και αποκτούν καμπυλωτή κορυφή. Το ξύλο δεν περιέχει ρητίνη ή πυρήνα διαφορετικού χρώματος. Τα κλαδιά αναπτύσσονται σε σπειροειδείς σπονδύλους, ενώ δεν κρέμονται αλλά στέκονται κυρίως οριζόντια. Ο φλοιός είναι λείος με σχισμές, μέχρι την ηλικία των 50 ετών. Σε μεγαλύτερη ηλικία ο φλοιός γίνεται πιο τραχύς με βαθιές σχισμές σαν ξηρόφλοιο και δύσκολα αποκολλάται [1, 4, 7, 26, 27, 28, κ.ο.κ.]. Οι βελόνες της λευκής και της υβριδογενούς ελάτης είναι σκουροπράσινες και λαμπερές στην άνω επιφάνειά τους, ενώ η κάτω επιφάνεια φέρει 2 ασημοπράσινες γραμμές, καθεμία από τις οποίες έχει 6-8 σειρές στομάτων [16, 28].

3 Αναπαραγωγή

Η *Abies alba* και η *Abies borisii-regis* είναι ανεμογαμή, μόνοικα, ετερογαμή είδη, με χρωμοσωμικό αριθμό $2n=24$. Τα σπέρματα των δύο ειδών διασπείρονται με τον άνεμο και τα θηλυκά άνθη βρίσκονται στα κλαδιά της κορυφής σε κωνίσκους. Τα αρσενικά άνθη βρίσκονται συνήθως λίγο χαμηλότερα στην κόμη, στην βάση των βελονών, επίσης σε κωνίσκους (γυρεοφόροι κώνοι). Τα αρσενικά άνθη έχουν μήκος περίπου 2 εκ. και οι γυρεόκοκκοι που απελευθερώνουν φέρουν δύο γυρεόσακους. Η λευκή ελάτη βρίσκεται σε ανθοφορία από τον Απρίλιο μέχρι τον Ιούνιο, ανάλογα με το υψόμετρο και το γεωγραφικό πλάτος [1, 4, 7, 26, 27, 28, κ.ο.κ.].

Οι ελάτες είναι αιωνόβια είδη με αναπαραγωγική ηλικία κατ' ελάχιστον τα 20 έτη και κατά μέσο όρο γύρω τα 60 [14]. Οι σπερματοβλαστικοί κώνοι είναι ωοειδείς, σε κάθετη θέση, μήκους περίπου 2εκ., σκουροπράσινου χρώματος σε νεαρή ηλικία. Οι ώριμοι κώνοι είναι κιτρινωποί έως καφεκόκκινοι, κυλινδρικοί, έως 16 εκ. μήκος και έως 5 εκ. πλάτος. Οι κώνοι ίστανται πάντα κάθετα πάνω στους κλαδίσκους. Έχουν μονοετή ωρίμανση και τον Οκτώβρη, μετά την ωρίμανση διαλύονται, τα λέπια με τα σπέρματα πέφτουν και παραμένει ο κεντρικός άξονας του κώνου. Τα σπέρματα διαθέτουν πτερύγια και η διασπορά τους γίνεται με τον άνεμο. Τα νεαρά δέντρα καρποφορούν κάθε δύο έτη, αλλά δέντρα σε μεγαλύτερη ηλικία και σε μεγαλύτερα υψόμετρα καρποφορούν λιγότερο συχνά, ανά τρία έτη ή και περισσότερο [1, 4, 7, 26, 27, 28, κ.ο.κ.]. Κάποια άτομα ωστόσο, βρίσκονται κάθε χρόνο σε καρποφορία (παρατηρήσεις LIFEGENMON στην επιφάνεια γενετικής παρακολούθησης *Abies alba* στη Γερμανία).

Παρά την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων γύρης στη λευκή ελάτη, η παραγωγή σπερμάτων δεν θεωρείται εξίσου υψηλή, καθώς οι σπερματοβλαστικοί κώνοι είναι λιγοστοί. Επιπλέον, οι προσβολές από έντομα, οι παγετοί κατά την άνοιξη και το θέρος, αργά τον Μάιο και στις αρχές Ιουνίου, ανάλογα με το υψόμετρο [8, 10], καθώς και η ελλιπής επικονίαση, μειώνουν δραστικά τη σποροπαραγωγή [6, 15, 17, 18, 19, 20, 23, 24, 25]. Όλη η διαδικασία, από την ανθοφορία μέχρι την ωρίμανση και τη διασπορά των σπερμάτων συμβαίνει μέσα σε έναν χρόνο. Η περίοδος από την άνθηση και τη διασπορά της γύρης, μέχρι την ωρίμανση των σπερμάτων διαρκεί 90 με 120 ημέρες [3, 9, 12, 13, 29]. Τα σπέρματα της λευκής ελάτης ωριμάζουν και πέφτουν από το Σεπτέμβριο έως Νοέμβριο.

4 Περιβάλλον

Η λευκή ελάτη έχει εξάπλωση στην κεντρική Ευρώπη και σε κάποια μέρη στην ανατολική και νότια Ευρώπη [4, 26, 27, 28]. Η εξάπλωση της υβριδογενούς ελάτης περιορίζεται στο ανατολικό μέρος της Βαλκανικής Χερσονήσου. Η λευκή ελάτη προτιμάει συνθήκες με εύκρατο κλίμα όπου υπάρχει η θαλάσσια αύρα, ενώ σε αντίθεση με άλλα μεσογειακά είδη του γένους *Abies* προτιμά πιο ψυχρές και υγρές θέσεις. Η λευκή ελάτη είναι ανθεκτική σε διάφορους τύπους εδαφών, με διαφορετική περιεκτικότητα σε θρεπτικά ιχνοστοιχεία και αλκαλικότητα αλλά δεν αντέχει τα συμπαγή και πλημμυρισμένα εδάφη [16]. Προτιμάει τα βαθιά και υγρά εδάφη με pH που κυμαίνεται από όξινο έως ουδέτερο. Η λευκή ελάτη είναι ένα πολύ σκιανθεκτικό είδος και μπορεί να παραμείνει σε ισχυρά σκιαζόμενες συστάδες για μεγάλα χρονικά διαστήματα [16, 28]. Σχηματίζει αμιγείς συστάδες, ωστόσο συνήθως απαντάται σε μίξη στα άνω δασοόρια με ερυθρελάτη (*Picea abies* (L.) H.Karst.), ή δασική πεύκη (*Pinus sylvestris* L.) και σε χαμηλότερα υψόμετρα μπορεί να βρίσκεται σε μίξη με οξιά (*Fagus sylvatica* L.) [1, 16, 28, 4 και αναφορές εντός].

5 Απειλές

Η λευκή ελάτη είναι είδος με ευαισθησία στις θερμοκρασιακές μεταβολές, καθώς η αναγέννηση είναι πολύ εκτεθειμένη στους όψιμους παγετούς [21]. Τα νεαρά άτομα λευκής ελάτης, μέχρι τα 3 έτη είναι πολύ ευαίσθητα στην ξηρασία, η οποία αν διαρκέσει αρκετά μπορεί να οδηγήσει και στη ξήρανσή τους [1, 4, 22]. Επιπλέον, η αναγέννηση της *A. alba* είναι πολύ ευάλωτη στη βόσκηση. Η λευκή ελάτη επηρεάζεται επίσης από τις δασικές πυρκαγιές, την ατμοσφαιρική ρύπανση και ιδίως την έκθεση στο διοξείδιο του θείου (SO₂) κατά τη χειμερινή περίοδο [16 και αναφορές εντός]. Εξαιτίας της κλιματικής αλλαγής η λευκή ελάτη είναι πιο ευάλωτη σε προσβολές από ασθένειες και παθογόνα, π.χ. ο ιξός και τα φλοιοφάγα έντομα έχουν ήδη καταστρέψει σε μεγάλη

κλίμακα πληθυσμούς λευκής ελάτης στη Μεσόγειο, ειδικά σε περιοχές όπου παρατηρείται συχνά ξηρασία [16 και αναφορές εντός]. Έντομα όπως τα *Ips typographus* L., *Cinara pectinatae* Nördlinger και *Epinotia nigricana* Herrich-Schäffer προσβάλλουν το φλοιό και τους νεαρούς βλαστούς της λευκής ελάτης. Οι μύκητες *Armillaria mellea* (Vahl) P.Kumm και *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. είναι κυρίως υπεύθυνοι για τη σήψη κορμών και την εμφάνιση ανεμοριπιών [16 και αναφορές εντός].

6 Ίδρυση και συντήρηση επιφανειών

Η λευκή ελάτη είναι είδος που σχηματίζει αμιγείς και μικτές συστάδες με ερυθρελάτη, δασική πεύκη οξιά και άλλα είδη [1, 28, 4 και αναφορές εντός]. Με βάση αυτό, η μεθοδολογία ίδρυσης επιφάνειας ΓΠΔ που ακολουθείται για άλλα είδη που σχηματίζουν συστάδες, π.χ. *Fagus sylvatica*, μπορεί να εφαρμοστεί και για τη γενετική παρακολούθηση των *Abies alba* και *Abies borisii-regis*. Το σημαντικότερο βήμα για την επιτυχή ίδρυση της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης για την *Abies alba* και την *Abies borisii-regis* περιλαμβάνει την επιλογή της επιφάνειας σύμφωνα με τα κριτήρια που περιγράφονται (λ.χ. υψηλή προτεραιότητα σε συστάδες για τις οποίες υπάρχουν ήδη διαθέσιμα δεδομένα και λεπτομερής καταγραφή του συνόλου της συστάδας) [2].

Η γενετική παρακολούθηση της *Abies borisii-regis* παρουσιάζει μεγαλύτερη δυσκολία λόγω της κατακερματισμένης εξάπλωσης του είδους, της βιολογίας του (αποτέλεσμα υβριδισμού) και λόγω των απειλών που αντιμετωπίζει (λ.χ. κλιματική αλλαγή, ασθένειες και προσβολές). Εντούτοις, το μέγεθος και ο σχεδιασμός της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης, πρέπει να είναι ευέλικτα ανάλογα με τα ειδικά χαρακτηριστικά της περιοχής, ωστόσο, για πρακτικούς λόγους, η επιφάνεια δεν πρέπει σε καμία περίπτωση να ξεπερνάει τα 10 εκτάρια.

Η κάθε επιφάνεια γενετικής παρακολούθησης αποτελείται από 50 ώριμα άτομα, με απόσταση μεταξύ δύο δέντρων τουλάχιστον 30 μέτρα. Κάθε δέντρο που έχει περάσει από το στάδιο της ανθοφορίας θεωρείται ώριμο άτομο. Η στηθαία διάμετρος και η κλάσεις διαμέτρου κορμού μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μέτρα εκτίμησης της ωριμότητας των ατόμων αν η επιφάνεια ιδρύεται εκτός της περιόδου ανθοφορίας, πάντα με τη βοήθεια των τοπικών δασικών υπαλλήλων. Κατά την ίδρυση της επιφάνειας γίνεται η σήμανση των δέντρων και καταγράφονται οι συντεταγμένες τους. Συγχρόνως μπορεί να μετρηθεί η στηθαία διάμετρος και να ληφθούν δείγματα για απομόνωση γενετικού υλικού.

Επιπλέον, πρέπει να υπάρχει επαρκής φυσική αναγέννηση εντός της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης.

Απαραίτητος εξοπλισμός:

- Αποστασιόμετρο (συστήνονται επίσης ειδικά κιάλια για μέτρηση απόστασης)
- Πυξίδα
- Πινέλο και μπογιά ή μπογιά σε σπρέι για τη σήμανση των δέντρων
- Παχύμετρο για τον υπολογισμό της στηθαίας διαμέτρου
- Συσκευή GPS υψηλής ακριβείας με δυνατότητα αποθήκευσης συντεταγμένων των δέντρων

6.1 Ίδρυση επιφάνειας

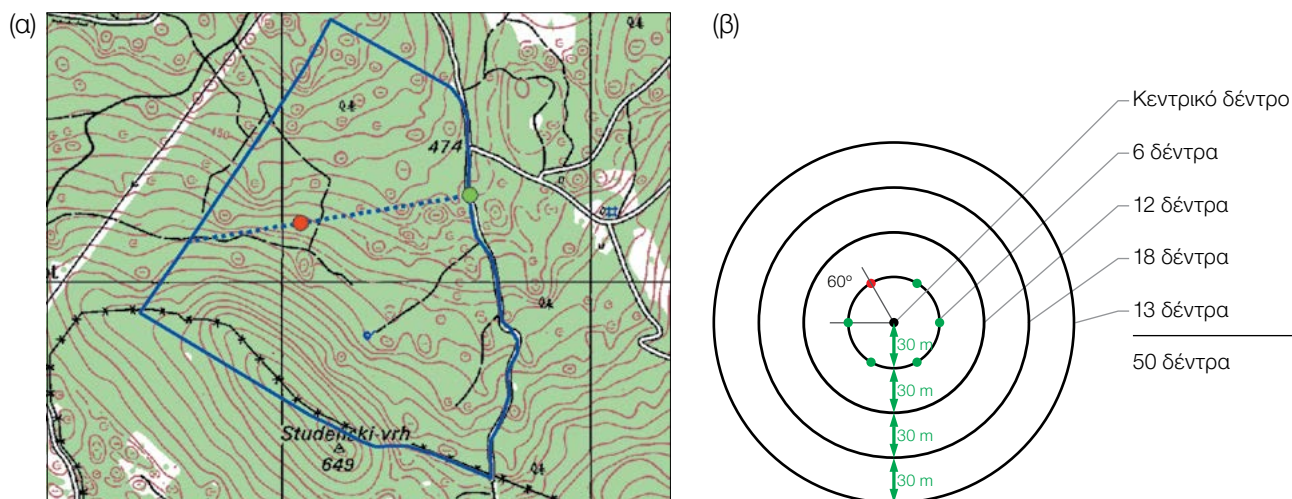
6.1.1 Επιλογή του κέντρου της επιφάνειας

Η γενική διαδικασία για τυχαία επιλογή επιφάνειας περιλαμβάνει τα παρακάτω βήματα (Εικόνα 2α):

- Τυχαία επιλογή ενός σημείου στο χάρτη (πράσινη κουκκίδα) εντός του δασικού δρόμου ή μονοπατιού που διατρέχει τη συστάδα.
- Σχεδίαση γραμμής που ξεκινάει από το τυχαίο σημείο σε θέση σχεδόν κάθετη στο δρόμο όπου τοποθετήσαμε το σημείο,

- Τυχαία επιλογή ενός σημείου επάνω στον κάθετο άξονα (κόκκινη κουκκίδα), το οποίο θα είναι το κέντρο της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης.

Η ελάχιστη απόσταση μεταξύ του κέντρου της επιφάνειας που ορίσαμε και του ορίου της συστάδας πρέπει να είναι περίπου 150 μέτρα. Αν αυτή η συνθήκη δεν ισχύει, τότε ορίζουμε νέο κέντρο της επιφάνειας ακολουθώντας τα παραπάνω βήματα.



Εικόνα 2: Τυχαία επιλογή του κέντρου της επιφάνειας δασικής γενετικής παρακολούθησης (α). Επιλογή δέντρων σε ομόκεντρους κύκλους, με απόσταση μεταξύ τους 30 μέτρα γύρω από το κεντρικό σημείο (β)

Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί κατάλληλο λογισμικό GIS το οποίο θα επιλέξει τυχαία σημεία.

Οι συντεταγμένες των επιλεγμένων σημείων αποθηκεύονται σε συσκευή GPS ώστε να χρησιμοποιηθούν στο πεδίο.

6.1.2 Ίδρυση επιφάνειας στο πεδίο

Στο πεδίο, το κοντινότερο ώριμο δέντρο στο σημείο που ορίσαμε ως το κέντρο της επιφάνειας, επιλέγεται ως κεντρικό δέντρο και μαρκάρεται με τον αριθμό 1.

Τα υπόλοιπα δέντρα επιλέγονται με βάση το κεντρικό δέντρο σε ομόκεντρους κύκλους με ακτίνα που για κάθε νέο κύκλο αυξάνεται 30 μέτρα (Εικόνα 2β). Το πρώτο δέντρο σε κάθε κύκλο επιλέγεται τυχαία, είτε χρησιμοποιώντας ένα τυχαίο αζιμούθιο (Πίνακας 1) κοιτάζοντας από το κεντρικό δέντρο, είτε ακολουθώντας την κατεύθυνση του μικρού δείκτη ενός ρολογιού ή κάποια ανάλογη προσέγγιση που διασφαλίζει την τυχαιότητα και την αντικειμενικότητα. Τα υπόλοιπα δέντρα του κύκλου επιλέγονται αυξάνοντας ανάλογα το αζιμούθιο ώστε να πληρείται η συνθήκη της ελάχιστης απόστασης των 30 μέτρων μεταξύ οποιονδήποτε 2 δέντρων:

- +60° για τον πρώτο κύκλο
- +30° για τον δεύτερο κύκλο
- +20° για τον τρίτο κύκλο
- +15° για τον τέταρτο κύκλο

Εάν δεν είναι εφικτή η επιλογή αντίστοιχα 6, 12 και 18 δέντρων σε κάθε έναν από τους 3 εσωτερικούς κύκλους (Εικόνα 2β), μπορούμε να επιλέξουμε πρόσθετα δέντρα στον εξωτερικό κύκλο.

Πίνακας 1: Τυχαία αζιμούθια για την επιλογή του πρώτου δέντρου κάθε κύκλου

108	15	186	35	178	29	305	351	44	150
232	23	160	141	112	292	216	83	245	214
63	65	345	234	95	78	279	323	40	236
201	313	275	144	182	68	268	289	185	92
356	177	93	1	145	198	287	251	224	142

6.1.3. Σήμανση δέντρων

Όλα τα επιλεγμένα δέντρα με στηθαία διάμετρο $\geq 15\text{cm}$ αριθμούνται με έναν χαρακτηριστικό αριθμό (από το 1 έως το 50) και συμπληρωματικά με μία γραμμή περιμετρικά του κορμού ώστε η σήμανση να είναι ορατή από κάθε πλευρά. Σημειώνονται οι συντεταγμένες (X/Y) του κάθε δέντρου (απαραίτητο GPS). Η αρίθμηση που δίνεται σε κάθε ένα από τα ενήλικα άτομα κατά την επιλογή τους διατηρείται για όλη την περίοδο παρακολούθησης. Αριθμείται το κεντρικό δέντρο (νούμερο 1) με μία ή περισσότερες γραμμές ώστε αυτό να διαφοροποιείται ανάμεσα στα υπόλοιπα (Εικόνα 3, αριστερά). Συστήνεται ακόμη να βάλετε τον αριθμό και στην πλαϊνή όψη του κεντρικού δέντρου σε διαφορετική κατεύθυνση από την αρίθμηση των υπόλοιπων επιλεγμένων ατόμων καθώς έτσι διακρίνεται ευκολότερα και από τους εξωτερικούς δακτυλίους της επιφάνειας (Εικόνα 3, δεξιά). Σε μερικές περιπτώσεις, συστήνεται η σήμανση των δέντρων να γίνει από την αντίθετη πλευρά από κάποιο διερχόμενο μονοπάτι ή δρόμο, ώστε να αποφευχθεί η προσέγκυση περαστικών ή άλλων επισκεπτών του δάσους.



Εικόνα 3 α) Το κεντρικό δέντρο της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης έχει σημειωθεί με πολλαπλές γραμμές ώστε να διακρίνεται ανάμεσα στα άλλα δέντρα, εδώ από επιφάνεια γενετικής παρακολούθησης δασικής οξιάς στη Σλοβενία β) Η αρίθμηση στα υπόλοιπα δέντρα σε διαφορετική κατεύθυνση από την αρίθμηση του κεντρικού δέντρου.

6.2 Ίδρυση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης

Η ίδρυση υποεπιφανειών με φυσική αναγέννηση (ΦΑ) λαμβάνει χώρα κατά τη διάρκεια της βλαστητικής περιόδου μετά από μία χρονιά πληροκαρπίας.

Η φυσική αναγέννηση που προκύπτει από την πιο πρόσφατη περίοδο πληροκαρπίας, αξιολογείται στο πεδίο και καταγράφονται οι θέσεις στις οποίες βρίσκεται (συντεταγμένες με GPS, αριθμός κοντινότερου δέντρου στο σημείο όπου παρατηρείται ΦΑ). Από όλες τις καταγεγραμμένες θέσεις με ΦΑ, επιλέγονται τυχαία 20 για την ίδρυση των υποεπιφανειών. Εάν έχουν καταγραφεί 20 ή και λιγότερες θέσεις φυσικής αναγέννησης, τότε συμπεριλαμβάνονται όλες.

Εντός κάθε κέντρου φυσικής αναγέννησης ορίζεται και οριοθετείται με μεταλλικές ράβδους μία επιφάνεια 1τμ. Οι μεταλλικές ράβδοι τοποθετούνται στο έδαφος σε κάθε γωνία της υποεπιφάνειας σε όσο το δυνατόν μεγαλύτερο βάθος ώστε να αποτραπεί η αφαίρεσή τους από ζώα. Οι άκρες των ράβδων βάζονται με κάποιο εύκολα διακριτό χρώμα.

6.3 Συντήρηση επιφανειών

6.3.1 Γενική συντήρηση

Οι σημάνσεις και οι αριθμήσεις των δέντρων πρέπει να ελέγχονται περιοδικά (κάθε δύο χρόνια) και να επιδιορθώνονται όπου είναι απαραίτητο.

6.3.2 Αντικατάσταση δέντρων

Εάν κάποιο επιλεγμένο για γενετική παρακολούθηση άτομο νεκρωθεί ή αφαιρεθεί στα πλαίσια της διαχείρισης του δάσους, τότε πρέπει να αντικατασταθεί. Επιλέγεται το κοντινότερο κατάλληλο δέντρο, λαμβάνοντας υπόψη ότι πρέπει να πληρείται η συνθήκη απόστασης 30μ από το εγγύτερο παρακολουθούμενο δέντρο. Διαφορετικά, επιλέγεται κάποιο άλλο άτομο από την περιφέρεια του εξωτερικού κύκλου στα όρια της επιφάνειας παρακολούθησης. Το δέντρο με το οποίο γίνεται η αντικατάσταση αριθμείται με τον επόμενο διαθέσιμο αριθμό, π.χ. 51, 52, 53 κ.ο.κ. ώστε να υπάρχει σαφής διαχωρισμός από τα αρχικά 50 άτομα.

Σε περίπτωση καταστροφής της κόμης του δέντρου λ.χ. καταστροφή από άνεμο, χιόνι ή παγετό χωρίς όμως να επηρεάζεται η δυνατότητα καρποφορίας του, το δέντρο συνεχίζει να παρακολουθείται. Εάν η καταστροφή είναι πολύ έντονη και εκτεταμένη σε σημείο που επηρεάζει την καρποφορία, το επιλεγμένο δέντρο πρέπει να αντικατασταθεί

7 Καταγραφή επαληθευτών και επιπλέον πληροφοριών

Εντός της επιφάνειας παρακολούθησης οι επαληθευτές και οι επιπλέον πληροφορίες θα πρέπει να καταγράφονται σε συστηματική βάση. Οι επαληθευτές χρησιμοποιούνται για την παρακολούθηση των γενετικών δεικτών του πληθυσμού καθώς και για την παρακολούθηση της προσαρμογής του σε περιβαλλοντικές αλλαγές ή/και διαχειριστικές μεθόδους. Παράλληλα, άλλες επιπλέον πληροφορίες για τον πληθυσμό καταγράφονται ώστε να συμβάλλουν στην ερμηνεία των επαληθευτών.

Υψηλότερου επιπέδου επαληθευτές (τυπικού, προχωρημένου επιπέδου) πρέπει να περιλαμβάνουν καταγραφή των επαληθευτών και από τις χαμηλότερες κατηγορίες (βασικοί, τυπικοί). Δεν είναι απαραίτητη η καταγραφή άλλων επιπλέον πληροφοριών.

Πίνακας 2: Κατάλογος επαληθευτών και επιπλέον πληροφοριών με σύντομες περιγραφές και συχνότητα παρατήρησης κατά τη διάρκεια εργασιών πεδίου σε επιφάνειες γενετικής παρακολούθησης *Abies* spp.

Όνομα	Βασικό επίπεδο	Τυπικό επίπεδο	Προχωρημένο επίπεδο	
Επαληθευτές	Θνησιμότητα / επιβίωση	Μέτρηση των υφιστάμενων επιλεγμένων δέντρων κάθε 10 χρόνια, καθώς και μετά από ισχυρή κακοκαιρία/έντονα καιρικά φαινόμενα	Όπως στο βασικό επίπεδο	Όπως στο βασικό επίπεδο
		Φυσική αναγέννηση: /	Καταμέτρηση υφιστάμενων φυταρίων στις υποεπιφάνειες φυσικής αναγέννησης, δύο φορές ανά δεκαετία	Όπως στο τυπικό επίπεδο
	Ανθοφορία	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας σε ετήσια βάση	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κατά τη διάρκεια δύο περιόδων μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία, ιδανικά ισαπέχουσες μεταξύ τους*	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κατά τη διάρκεια δύο περιόδων μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία, ιδανικά ισαπέχουσες μεταξύ τους*
	Καρποφορία	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας σε ετήσια βάση	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, τα ίδια έτη αξιολόγησης με την ανθοφορία στο τυπικό επίπεδο (ανεξάρτητα από το βαθμό καρποφορίας)*	Καταμέτρηση κώνων τα ίδια έτη αξιολόγησης με την ανθοφορία στο προχωρημένο επίπεδο (ανεξάρτητα από το βαθμό καρποφορίας)* Σε αυτό το επίπεδο, συλλέγονται επίσης σπέρματα για εργαστηριακές αναλύσεις σε κάθε καρποφορία που αξιολογείται
	Αφθονία φυσικής αναγέννησης	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας σε ετήσια βάση	Καταμέτρηση των φυταρίων, σύμφωνα με το πρωτόκολλο, το 1ο και το 6ο έτος μετά από κάθε αξιολογημένη καρποφορία	Καταμέτρηση των φυταρίων, σύμφωνα με το πρωτόκολλο, το 1ο, 6ο, 11ο, και 16ο έτος μετά από κάθε αξιολογημένη καρποφορία
Επιπλέον πληροφορίες	Κατανομή κλάσεων διαμέτρου	/	Μέτρηση κάθε 10 έτη	Όπως στο τυπικό επίπεδο
	Κατανομή υψομετρικών κλάσεων	/	Μέτρηση κάθε 10 έτη	Όπως στο τυπικό επίπεδο
	Έκπτυξη οφθαλμών	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, σύμφωνα με το πρωτόκολλο, κάθε 5 έτη	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, σύμφωνα με το πρωτόκολλο, ετησίως
	Φθινοπωρινός μαρασμός	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου κάθε 5 έτη	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, ετησίως
	Συγχρονισμός ανθοφορίας	/	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κατά τη διάρκεια κάθε αξιολογούμενης μαζικής ανθοφορίας

* Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος μαζικής ανθοφορίας πρέπει να αξιολογείται ανά δεκαετία. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δε οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε την επόμενη περίοδο ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου η ανθοφορία και η πληροκαρπία, ανεξάρτητα του χρόνου που έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών περιόδων. Το βασικό επίπεδο παρατήρησης χρησιμοποιείται για την αναγνώριση των περιόδων ανθοφορίας και πληροκαρπίας

7.1 Πρωτόκολλα για την καταγραφή επαληθευτών

7.1.1 Θνησιμότητα / επιβίωση

Η θνησιμότητα είναι δείκτης που χαρακτηρίζει τα ενήλικα άτομα. Από την άλλη, η επιβίωση χαρακτηρίζει τα άτομα εκείνα που έχουν μείνει ζωντανά από την προηγούμενη αξιολόγηση. Η επιβίωση προκύπτει από τη σχέση $\text{Επιβίωση} = (1 - \text{Θνησιμότητα})$.

7.1.1.1 Ενήλικα άτομα: Βασικό, τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής για τη θνησιμότητα ενήλικων ατόμων *Abies* spp. υπολογίζεται με την καταμέτρηση των ζωντανών αριθμημένων δέντρων κάθε 10 έτη, καθώς και έπειτα από ακραίες καιρικές συνθήκες. Η θνησιμότητα υπολογίζεται ως η διαφορά μεταξύ του αρχικού αριθμού των 50 επιλεγμένων δέντρων, μείον τον τελικό αριθμό των ζωντανών επιλεγμένων δέντρων.

7.1.1.2 Φυσική αναγέννηση: Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Η θνησιμότητα της φυσικής αναγέννησης υπολογίζεται από τον επαληθευτή «αφθονία φυσικής αναγέννησης» κατά τη διάρκεια δύο διαδοχικών αξιολογήσεων (πραγματοποιούνται δύο φορές ανά δεκαετία, ιδανικά κάθε πέντε (5) έτη).

7.1.2 Ανθοφορία

Ο επαληθευτής περιγράφει την ένταση της ανθοφορίας και την αναλογία των δέντρων σε αυτό το στάδιο. Καταγράφεται συνήθως από τον Απρίλιο έως τον Μάιο στην κεντρική Ευρώπη και λίγο νωρίτερα στη ΝΑ Ευρώπη.

7.1.2.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κάθε έτος σε επίπεδο συστάδας. Η καταγραφή γίνεται όταν η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη. Ο υπολογισμός της μέσης κατάστασης πραγματοποιείται μετά από αυτοψία στην επιφάνεια παρακολούθησης. Δίνονται δύο τιμές, η μία για την ένταση της ανθοφορίας και η άλλη για την αναλογία των ατόμων σε στάδιο ανθοφορίας στη συστάδα.

Κωδικός	Ένταση ανθοφορίας	Μέση αναλογία ανθοφορίας κόμης (%)
1	Χωρίς ανθοφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση ανθέων στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης ανθοφορία: Μερικά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης ανθοφορία: Αρκετά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης ανθοφορία: Άφθονα άνθη στα δέντρα	> 60 – 90
5	Μαζική ανθοφορία: Τεράστιες ποσότητες ανθέων στα δέντρα	> 90

Κωδικός	Αναλογία δέντρων της συστάδας σε κάθε στάδιο έντασης ανθοφορίας (%)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

7.1.2.2 Τυπικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κατά τη διάρκεια δύο, μαζικών περιόδων ανθοφορίας ανά δεκαετία, οι οποίες ιδανικά, ισαπέχουν χρονικά μεταξύ τους. Καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου σε κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα άτομα. Στάδιο μαζικής ανθοφορίας θεωρείται η ανθοφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση ανθοφορίας είναι σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5). Η καταγραφή γίνεται όταν η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη. Για κάθε δέντρο δίνεται μία τιμή.

Κωδικός	Περιγραφή	Αναλογία ανθοφορίας κόμης(%)
1	Χωρίς ανθοφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση ανθέων στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης ανθοφορία: Μερικά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης ανθοφορία: Αρκετά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης ανθοφορία: Άφθονα άνθη στα δέντρα	> 60 – 90
5	Μαζική ανθοφορία: Τεράστιες ποσότητες ανθέων στα δέντρα	> 90

7.1.2.3 Προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κατά τη διάρκεια δύο, μαζικών περιόδων ανθοφορίας ανά δεκαετία, οι οποίες ιδανικά, ισαπέχουν χρονικά μεταξύ τους. Στις *Abies* spp. καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου σε κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα άτομα. Στάδιο μαζικής ανθοφορίας θεωρείται η ανθοφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση ανθοφορίας είναι σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5). Χρειάζονται περίπου δύο επισκέψεις στην επιφάνεια παρακολούθησης, η πρώτη αρκετά νωρίς ώστε να παρατηρηθούν τα πρώιμα στάδια της ανθοφορίας και η δεύτερη όταν πλέον η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη.

Τρεις τιμές καταγράφονται για κάθε δέντρο: στάδιο ανθοφορίας θηλυκών ανθέων, στάδιο ανθοφορίας αρσενικών ανθέων και αναλογία της ανθοφορίας της κόμης. Η τελευταία τιμή αναφέρεται στη συνολική ποσότητα ανθέων (θηλυκά και αρσενικά) στο δέντρο. Δείτε στην Εικόνα 4 την γραφική απεικόνιση των σταδίων ανθοφορίας.

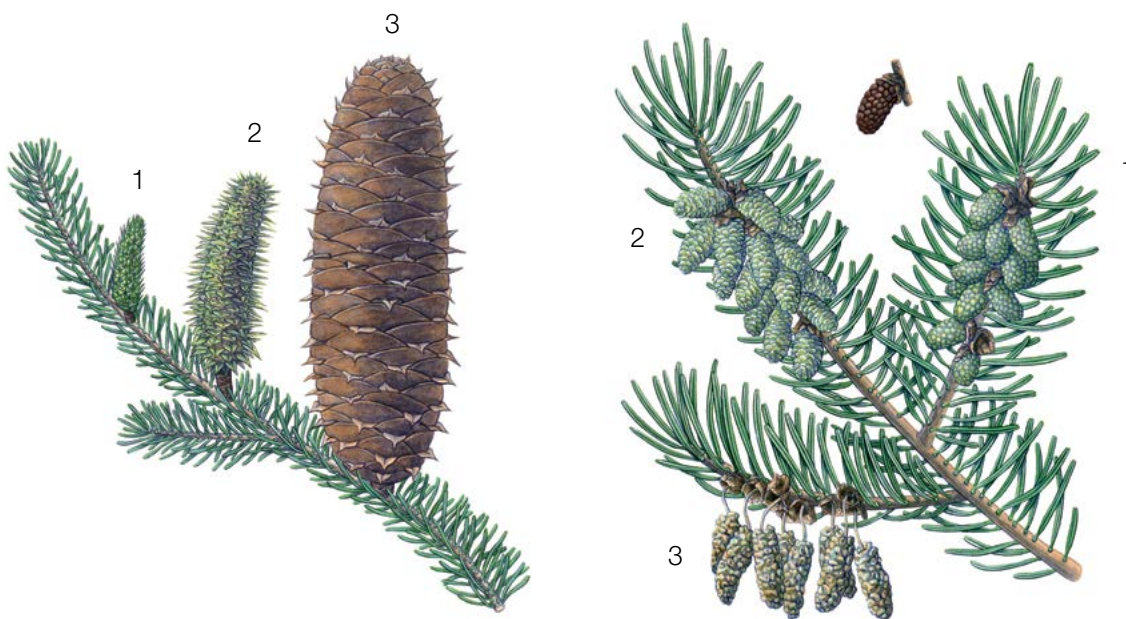
Μία περίοδος μαζικής ανθοφορίας δεν οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε την επόμενη περίοδο ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου και η ανθοφορία και η πληροκαρπία, ανεξάρτητα του χρόνου που έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών περιόδων. Το βασικό επίπεδο παρατήρησης χρησιμοποιείται για την αναγνώριση των περιόδων ανθοφορίας και πληροκαρπίας.

Κωδικός	Στάδιο θηλυκής ανθοφορίας (σπερματοβλαστικοί κώνοι)
1	Εμφανείς, μικροί κωνίσκοι (1-2 εκ)
2	Έναρξη επιμήκυνσης κωνίσκων
3	Μεταβολή χρώματος κώνων από πράσινο σε καφετί (παρακολούθηση χρώματος)

Κωδικός	Φαινολογία αρσενικών κώνων (γυρεοφόροι κώνοι)
1	Επιμήκυνση μικροσποριόφυλλων που παραμένουν ακόμα κλειστά και πολύ κοντά στα κλαδιά (χρώμα πράσινο/καφετί/ σκούρο κόκκινο/καφεκόκκινο)
2	Τα σποριάγγεια επιμηκύνονται/διογκώνονται, ωριμάζουν και απελευθερώνουν τη γύρη (χρώμα κίτρινο/σκούρο κόκκινο/καφετί/κοκκινοκαφέ)
3	Ολοκληρώνεται η απελευθέρωση της γύρης, οι στρόβιλοι παραμένουν στο κλαδί άδειοι (χρώμα καφετί /σκούρο κόκκινο/ κοκκινοκαφέ)

Κωδικός	Αναλογία κόμης σε ανθοφορία (% , αρσενικοί και θηλυκοί κώνισκοι μαζί)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

Επιπλέον πληροφορίες για τον συγχρονισμό της ανθοφορίας μπορούν να υπολογιστούν από τις τιμές που καταγράφηκαν για τη θηλυκή και την αρσενική ανθοφορία από αυτόν τον επαληθευτή.



Εικόνα 4: Φωτογραφικός οδηγός για την περιγραφή των σταδίων ανθοφορίας για τους θηλυκούς (αριστερά) και τους αρσενικούς (δεξιά) κώνους για τον επαληθευτή Ανθοφορία στο προχωρημένο στάδιο

7.1.3 Καρποφορία

Αυτός ο επαληθευτής περιγράφει την παρουσία κώνων και την αφθονία τους για τις *Abies* spp. Δεδομένα για αυτόν τον επαληθευτή συλλέγονται κατά τη διάρκεια της καρποφορίας των *Abies* spp., κατά το διάστημα Αύγουστο έως Σεπτέμβριο στην κεντρική Ευρώπη.

7.1.3.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κάθε έτος σε επίπεδο συστάδας. Ο υπολογισμός της μέσης κατάστασης πραγματοποιείται μετά από αυτοψία στην επιφάνεια παρακολούθησης. Δίνονται δύο τιμές, η μία για την ένταση της καρποφορίας και η άλλη για την αναλογία των ατόμων σε στάδιο καρποφορίας στη συστάδα

Κωδικός	Ένταση καρποφορίας	Μέση αναλογία κόμης σε καρποφορία (%)
1	Χωρίς καρποφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση κώνων στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης καρποφορία: Μερικοί κώνοι εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης καρποφορία: Αρκετοί κώνοι εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης καρποφορία (πληροκαρπία): Άφθονοι κώνοι στα δέντρα	> 60 – 90
5	Πληροκαρπία: Τεράστιες ποσότητες κώνων στα δέντρα	> 90

Κωδικός	Αναλογία δέντρων στη συστάδα σε κάθε στάδιο έντασης καρποφορίας (%)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

7.1.3.2 Τυπικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται τις ίδιες χρονιές όπου αξιολογείται η ανθοφορία στο τυπικό επίπεδο (ανεξάρτητα από την ένταση της καρποφορίας). Γίνεται καταγραφή σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα δέντρα. Η καταγραφή γίνεται προτού πέσουν οι κώνοι. Για κάθε δέντρο δίνεται μία τιμή.

Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος πληροκαρπίας πρέπει να αξιολογείται μετά από μία περίοδο μαζικής ανθοφορίας κάθε δεκαετία. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δε οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε την επόμενη περίοδο ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου τόσο η ανθοφορία όσο και η πληροκαρπία, ανεξάρτητα του χρόνου που έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών περιόδων. Οι παρατηρήσεις βασικού επιπέδου χρησιμοποιούνται για την αναγνώριση της πληροκαρπίας. Στάδιο πληροκαρπίας θεωρείται η καρποφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση καρποφορίας είναι σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5).

Κωδικός	Ένταση καρποφορίας	Αναλογία καρποφορίας στην κόμη (%)
1	Χωρίς καρποφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση κώνων στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης καρποφορία: Μερικοί κώνοι εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης καρποφορία: Αρκετοί κώνοι εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης καρποφορία: Άφθονοι κώνοι στα δέντρα	> 60 – 90
5	Πληροκαρπία: Τεράστιες ποσότητες κώνων στα δέντρα	> 90

7.1.3.3 Προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα δέντρα κατά τα έτη όπου αξιολογείται η ανθοφορία στο προχωρημένο επίπεδο, ανεξάρτητα από την ένταση της καρποφορίας. Η καταγραφή γίνεται πριν πέσουν οι κώνοι. Για κάθε δέντρο δίνεται μία τιμή. Παράλληλα συλλέγονται σπέρματα για γενετικές και άλλες αναλύσεις, καθώς και για την καταγραφή επιπλέον πληροφοριών σε αυτό το επίπεδο.

Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος πληροκαρπίας πρέπει να αξιολογείται μετά από μία περίοδο μαζικής ανθοφορίας κάθε δεκαετία. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δεν οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε την επόμενη περίοδο ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου και η ανθοφορία και η καρποφορία. Κατά το βασικό επίπεδο παρατήρησης καταγράφονται οι περίοδοι πληροκαρπίας. Οι παρατηρήσεις βασικού επιπέδου χρησιμοποιούνται για την αναγνώριση της πληροκαρπίας. Στάδιο πληροκαρπίας θεωρείται η καρποφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση καρποφορίας είναι σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5).

Ο επαληθευτής καταγράφεται μετά από μέτρηση των κώνων χρησιμοποιώντας κιάλια. Σημειώνεται ο μέσος όρος που προκύπτει από τρεις διαδοχικές μετρήσεις. Στην κάθε μέτρηση καταγράφεται ο αριθμός κώνων που ο παρατηρητής μετράει σε 30 δευτερόλεπτα. Για όλα τα δέντρα εξετάζεται το ίδιο μέρος της κόμης. Μόλις επιλεγεί το συγκεκριμένο κομμάτι της κόμης, ο παρατηρητής πρέπει να εστιάσει σε αυτό και για κάθε επόμενη μέτρηση που θα πραγματοποιήσει. Προτείνεται για την καταμέτρηση να εξεταστεί το ανώτερο τρίτο της κόμης σε σχέση με το ενδιάμεσο ή το κατώτερο.

Σημειώνονται δύο τιμές, ο αριθμός των κώνων και το μέρος της κόμης που εξετάστηκε.

Αριθμός καταμετρημένων κώνων σε 30 δευτερόλεπτα (μέσος όρος τριών μετρήσεων)

X

Κωδικός	Μέρος της κόμης που εξετάστηκε
1	Κατώτερο
2	Ενδιάμεσο
3	Ανώτερο

7.1.4 Αφθονία φυσικής αναγέννησης

Ο επαληθευτής περιγράφει την παρουσία και την αφθονία της φυσικής αναγέννησης (ΦΑ) στην επιφάνεια παρακολούθησης.

7.1.4.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται σε ετήσια βάση, το φθινόπωρο, σε επίπεδο συστάδας. Για τον υπολογισμό της φυσικής αναγέννησης σε όλη την επιφάνεια απαιτείται η συμβουλή τοπικού δασολόγου. Καταγράφονται δύο τιμές, μία για τη νέα φυσική αναγέννηση (αρτίφυτα της τρέχουσας χρονιάς) και μία για την ήδη εγκατεστημένη αναγέννηση (φυτάρια μεγαλύτερα του ενός έτους). Καθώς τα είδη του γένους *Abies* βρίσκονται σε πληροκαρπία κάθε τρία με πέντε έτη, η εγκατάσταση νέων ατόμων στη φυσική αναγέννηση υπολογίζεται το επόμενο καλοκαίρι/φθινόπωρο μετά από έτος πληροκαρπίας.

Κωδικός Περιγραφή: νέα φυσική αναγέννηση (αρτίφυτα της τρέχουσας χρονιάς)

1a	Καθόλου ή ελάχιστη νέα φυσική αναγέννηση στην επιφάνεια παρακολούθησης
2a	Η νέα φυσική αναγέννηση υπάρχει και αντιπροσωπεύεται από ικανό αριθμό ατόμων στην επιφάνεια παρακολούθησης

Κωδικός Περιγραφή: εγκατεστημένη φυσική αναγέννηση (φυτάρια)

1b	Καθόλου ή ελάχιστη νέα φυσική αναγέννηση στην επιφάνεια παρακολούθησης
2b	Εγκατεστημένη φυσική αναγέννηση σε ικανή ποσότητα στην επιφάνεια παρακολούθησης

7.1.4.2 Τυπικό επίπεδο

Ο λήθαργος των σπερμάτων *Abies* spp. διαρκεί ένα χειμώνα, οπότε ο επαληθευτής καταγράφεται με την καταμέτρηση φυταρίων το 1^ο φθινόπωρο μετά από κάθε αξιολογημένη περίοδο πληροκαρπίας (το έτος με πληροκαρπία θεωρείται το έτος 0) και έπειτα το 6^ο φθινόπωρο μετά την πληροκαρπία.

Καταμέτρηση φυταρίων:

Μετά την ίδρυση των υποεπιφανειών της φυσικής αναγέννησης, καταμετρώνται όλα τα σπορόφυτα *Abies* spp. σε κάθε υποεπιφάνεια. Μεγαλύτερα σε ηλικία φυτάρια λευκής/ υβριδογενούς ελάτης που βρίσκονται εντός της υποεπιφάνειας δεν συμπεριλαμβάνονται στην καταμέτρηση. Στον επόμενο γύρο καταμέτρησης, λαμβάνονται υπόψη μόνο φυτάρια στην κατάλληλη ηλικία, δηλαδή στο 6^ο έτος καταμετρώνται φυτάρια 5 ετών.

Αριθμός φυταρίων ανά υποεπιφάνεια

X

Η θνησιμότητα / επιβίωση της φυσικής αναγέννησης υπολογίζεται από τις τιμές που καταγράφονται για αυτόν τον επαληθευτή.

Για την ίδρυση υποεπιφανειών, βλ. Κεφ. 6.2 Ίδρυση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης.

7.1.4.3 Προχωρημένο επίπεδο

Ο λήθαργος των σπερμάτων *Abies* spp. διαρκεί έναν χειμώνα, οπότε ο επαληθευτής καταγράφεται με την καταμέτρηση φυταρίων σε καθεμιά από τις 20 υποεπιφάνειες ΦΑ, το 1^ο φθινόπωρο μετά από κάθε αξιολογημένη περίοδο πληροκαρπίας (το έτος με πληροκαρπία θεωρείται το έτος 0) και έπειτα το 6^ο, 11^ο, και 16^ο φθινόπωρο μετά την πληροκαρπία.

Ο επόμενος κύκλος παρακολούθησης της αφθονίας της φυσικής αναγέννησης (ίδρυση των νέων 20 υποεπιφανειών ΦΑ και αξιολόγηση της ΦΑ) γίνεται μετά την πρώτη καρποφορία, τουλάχιστον 5 χρόνια μετά από το τελευταίο έτος πληροκαρπίας (δείτε στον Πίνακα 3 τη γραφική απεικόνιση της αξιολόγησης αφθονίας της ΦΑ). Η αξιολόγηση της αφθονίας της ΦΑ προκύπτει από την καταμέτρηση σε μια ή δύο περιόδους πληροκαρπίας για κάθε μεσοδιάστημα παρακολούθησης.

Πίνακας 3: Χρονοδιάγραμμα για την αξιολόγηση της φυσικής αναγέννησης (ΦΑ). Σε αυτό το υπόδειγμα, η πρώτη πλήρης καρποφορία (πληροκαρπία) συμβαίνει το δεύτερο έτος της δεκαετίας όπου εφαρμόζεται η γενετική παρακολούθηση και η δεύτερη πληροκαρπία αξιολογείται, μετά από 5 έτη λ.χ. το 7ο έτος παρακολούθησης. Καθώς στην ελάτη τα έτη πληροκαρπίας μπορεί να συμβαίνουν κάθε 3-5 έτη το μεσοδιάστημα μεταξύ δύο διαδοχικών πληροκαρπιών μπορεί να διαφέρει. Είκοσινέες υποεπιφάνειες εγκαθίστανται μετά από κάθε αξιολογημένη περίοδο πληροκαρπίας. Η παρακολούθηση της αφθονίας της φυσικής αναγέννησης σε κάθε ομάδα 20 υποεπιφανειών γίνεται κάθε 5 έτη. Η περίοδος πληροκαρπίας που αντιστοιχεί στην κάθε υποεπιφάνεια ΦΑ υπό αξιολόγηση και το χρονοδιάγραμμα των αξιολογήσεων χρωματίζονται με το ίδιο χρώμα. Μετά τον τελευταίο γύρο καταμέτρησης φυταρίων, η παρακολούθηση της ΦΑ στις καθορισμένες ομάδες σταματάει και οι υποεπιφάνειες απεγκαθίστανται. Τ – Τυπικό επίπεδο, Π– Προχωρημένο επίπεδο.

Έτος παρακολούθησης	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Περίοδος πληροκαρπίας		•					•							•					•				
Αξιολόγηση ΦΑ από την 1 ^η αξιολογημένη περίοδο καρποφορίας [έτη]	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
Ίδρυση υποεπιφανειών ΦΑ			ΤΠ																				
Καταμέτρηση αφθονίας ΦΑ			ΤΠ				ΤΠ					Π					Π						
Αξιολόγηση ΦΑ από τη 2 ^η αξιολογημένη περίοδο καρποφορίας [έτη]							0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Ίδρυση υποεπιφανειών ΦΑ								ΤΠ															
Καταμέτρηση αφθονίας ΦΑ								ΤΠ				ΤΠ					Π						Π

Η θνησιμότητα / επιβίωση της φυσικής αναγέννησης υπολογίζεται από τις τιμές που καταγράφονται για αυτόν τον επαληθευτή.

Για την ίδρυση υποεπιφανειών, βλ. Κεφ. 6.2 Ίδρυση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης και για την καταμέτρηση βλ. Κεφ. 7.1.4.2 Τυπικό επίπεδο.

7.2 Πρωτόκολλα για την καταγραφή επιπλέον πληροφοριών

7.2.1 Κατανομή κλάσεων στηθιαίας διαμέτρου κορμών

7.2.1.1 Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Η στηθιαία διάμετρος DBH καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου για τα 50 παρακολουθούμενα δέντρα κάθε δεκαετία. Η στηθιαία διάμετρος είναι η διάμετρος του κορμού σε ύψος 1,30 μ., δηλαδή περίπου στο ύψος του στήθους ενός ενήλικα. Εάν το δέντρο έχει παραπάνω από έναν κορμό, προτείνεται να μετρηθούν όλοι και να καταγραφεί ο μέσος όρος τους (ωστόσο, καλύτερα να αποφεύγετε τα δέντρα με πολλαπλούς, μικρούς κορμούς). Σημειώστε επίσης το ότι το δέντρο έχει πολλαπλούς και τον αριθμό τους. Εάν το δέντρο γέρνει, τότε μετράτε τη στηθιαία διάμετρο κάθετα στον κορμό. Η στηθιαία διάμετρος μετράται με δύο τρόπους:

- 1) Χρησιμοποιώντας παχύμετρο παίρνετε δύο κάθετες διαμέτρους και υπολογίζετε το μέσο όρο
- 2) Μετράτε την περίμετρο του δέντρου και υπολογίζετε τη διάμετρο με βάση αυτή τη μέτρηση (π.χ. διαιρώντας με το π~ 3,14)

Η στηθιαία διάμετρος αποτυπώνεται σε εκατοστά. Η ίδια μέθοδος ακολουθείται για κάθε ακόλουθη μέτρηση.

7.2.2 Κατανομή κλάσεων ύψους

7.2.2.1 Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Το ύψος καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα δέντρα κάθε δεκαετία. Το ύψος μετράται από το έδαφος στο υψηλότερο σημείο της κόμης, χρησιμοποιώντας κλισίμετρο ή υψόμετρο. Το ύψος αποτυπώνεται σε μέτρα και στρογγυλοποιείται στο πιο κοντινό ακέραιο ψηφίο. Εάν η κόμη είναι κατεστραμμένη, αυτό θα πρέπει να καταγραφεί ως παρατήρηση.

7.2.3 Έκπτυξη οφθαλμών

Η έκπτυξη οφθαλμών περιγράφει τη διαδικασία έκπτυξης των νεαρών βελονών. Στη λευκή ελάτη η έκπτυξη των οφθαλμών παρατηρείται λίγο μετά την ανθοφορία. Καταγράφεται ως παράμετρος μόνο στο τυπικό και το προχωρημένο επίπεδο. Τα δεδομένα για αυτόν τον επαληθευτή συλλέγονται Απρίλιο- Μάιο (στην κεντρική Ευρώπη) και λίγο νωρίτερα στη ΝΑ Ευρώπη έως τη στιγμή που όλα τα δέντρα που παρακολουθούνται έχουν αναπτύξει πλήρως τις βελόνες τους. Εάν η κόμη είναι κατεστραμμένη (λόγω ισχυρών ανέμων, παγετών κτλ.), αυτό θα πρέπει να καταγραφεί ως παρατήρηση. Αν το δέντρο συνεχίζει να καρποφορεί παρά το σπάσιμο, τότε διατηρείται στην επιφάνεια γενετικής παρακολούθησης, αν όχι, τότε πρέπει να αντικατασταθεί.

7.2.3.1 Τυπικό επίπεδο

Στο τυπικό επίπεδο η έκπτυξη οφθαλμών καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα άτομα ανά πενταετία.

Παρατηρείται πότε συμβαίνει η έναρξη της έκπτυξης (στάδιο 2) και η ολοκλήρωσή της (στάδιο 4). Η παρατήρηση σταματάει όταν όλα τα άτομα έχουν φτάσει στο στάδιο 4. Συνήθως απαιτούνται 6 επισκέψεις. Για κάθε δέντρο δίνονται δύο εκτιμήσεις: το στάδιο έκπτυξης νεαρών βελονών και η αναλογία έκπτυξης νεαρών βελονών στην κόμη. Για τη γραφική απεικόνιση των σταδίων έκπτυξης νεαρών βελονών, ανατρέξτε στην Εικόνα 5.

Κωδικός Στάδιο έκπτυξης νεαρών βελονών (απλοποιημένα στάδια[5])	
1	Νεαροί οφθαλμοί περικλειστοί από παλιότερες βελόνες και αφανείς, εκτός αν παραμεριστούν οι γύρω βελόνες
2	Επιμήκεις νεαροί κλαδίσκοι, εμφανώς διογκωμένη καλυπτήρια μεμβράνη και λέπια
3	Εμφανής, επιμήκης τούφα μαλακών, νεαρών βελονών
4	Νεαροί, μαλακοί βλαστοί με πλήρως ανεπτυγμένες βελόνες

Κωδικός	Αναλογία κόμης σε κάθε στάδιο έκπτυξης οφθαλμών (%)
1	> 0 – 33
2	> 33 – 66
3	> 66 – 99
4	100

6.2.3.2 Προχωρημένο επίπεδο

Σε αυτό το επίπεδο η έκπτυξη νεαρών βελονών αξιολογείται ετησίως, σε επίπεδο δέντρου και για τα 50 παρακολουθούμενα δέντρα. Για τις τιμές που καταγράφονται (στάδιο έκπτυξης και αναλογία σε ποσοστό της κόμης) δείτε την ενότητα 7.2.3.1 Τυπικό επίπεδο.

6.2.4 Συγχρονισμός ανθοφορίας

Ο συγχρονισμός ανθοφορίας καταγράφεται μόνο στο προχωρημένο επίπεδο και βασίζεται σε παρατηρήσεις για τον επαληθευτή «ανθοφορία». Χρησιμοποιείται για να προσδιορίσει αν υπάρχει ταυτόχρονη θηλυκή και αρσενική ανθοφορία εντός της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης.

6.2.4.1 Προχωρημένο επίπεδο

Ο συγχρονισμός ανθοφορίας καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα άτομα σε κάθε μαζική ανθοφορία που καταγράφεται, την ίδια χρονιά με τη συλλογή σπερμάτων (όπως ο επαληθευτής Ανθοφορία στο προχωρημένο επίπεδο).



Εικόνα 5: Φωτογραφικός οδηγός για την περιγραφή του επαληθευτή Έκπτυξη οφθαλμών στο βασικό, τυπικό και προχωρημένο επίπεδο.

Για την ίδρυση επιφάνειας χρησιμοποιήστε το Έντυπο Υπόδειγμα «Περιγραφή επιφάνειας ΓΠΔ»

Για την καταγραφή των επαληθευτών χρησιμοποιήστε το «Έντυπο Υπόδειγμα για την καταγραφή επαληθευτών στο πεδίο, εντός της επιφάνειας ΓΠΔ»

Για τις επιπλέον πληροφορίες χρησιμοποιήστε το «Έντυπο Υπόδειγμα για την καταγραφή επιπλέον πληροφοριών στο πεδίο, εντός της επιφάνειας ΓΠΔ»

8 Βιβλιογραφία

1. Alizoti PG, Fady B, Prada MA, Vendramin GG (2011) EUFORGEN Technical guidelines for genetic conservation and use of Mediterranean firs (*Abies* spp). Bioversity International, Rome
2. Aravanopoulos FA, Tollefsrud MM, Graudal L, Koskela J, Kätzel R, Soto A, Nagy L, Pilipovic A, Zhelev P, Božic G and Bozzano M (2015) Development of genetic monitoring methods for genetic conservation units of forest trees in Europe. European Forest Genetic Resources Programme (EUFORGEN), Bioversity International, Rome
3. Carkin RE, Franklin JF, Booth J, Smith CE (1978) Seeding habits of upper-slope tree species: 4. Seed flight of noble fir and Pacific silver fir. Res. Note PNW-312. Corvallis, OR: USDA Forest Service, Pacific Northwest Forest and Range Experiment Station, pp 1-10
4. Caudullo G, Tinner W (2016) *Abies* - Circum-Mediterranean firs in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: San-Miguel-Ayan J, de Rigo D, Caudullo G, Houston Durrant T, Mauri A (ed) European Atlas of Forest Tree Species. Publ. Off. EU, Luxembourg, pp e015be7+
5. Ducci F, De Cuyper B, Paques LE, Proietti R, Wolf H (2012) Reference protocols for assessment of trait and reference genotypes to be used as standards in international research projects. CRA SEL – Arezzo, Italy
6. Eis S (1970) Reproduction and reproductive irregularities of *Abies lasiocarpa* and *A. grandis*. Can J Botany 48:141–143. <https://doi.org/10.1139/b70-018>
7. Farjon A (2010) A Handbook of the World's Conifers. Brill Academic Publishers, Leiden, pp 1-1111. <https://doi.org/10.1163/9789047430629>
8. Fowells HA, Schubert GH (1956) Seed crops of forest trees in the pine region of California. Tech. Bull. 1150. USDA Forest Service, Washington, DC, pp 1-48
9. Franklin JF (1982) Ecology of noble fir. In: Oliver CD, Kenady RM, eds. Proceedings, Symposium on Biology and Management of True Fir in the Pacific Northwest; 1981; Seattle/Tacoma, WA. Contrib. 45. University of Washington - Institute of Natural Resources, Seattle, pp 59–69

10. Franklin JF, Ritchie GA (1970) Phenology of cone and shoot development of noble fir and some associated true firs. *Forest Sci* 16:356–364
11. FUTMON project (2009 FUT-MON FIELD PROTOCOL PHENOLOGY (D1). <http://www.futmon.org/futmon-field-protocols.html>. Accessed 12 September 2016
12. Houle G (1992) The reproductive ecology of *Abies balsamea*, *Acer saccharum* and *Betula alleghaniensis* in the Tantare Ecological Reserve, Quebec. *J Ecol* 80:611–623
13. Houle G (1995) Seed dispersal and seedling recruitment: the missing link(s). *Ecoscience* 2:238–244. <https://doi.org/10.1080/11956860.1995.11682289>
14. Jacobs BF, Werth CR, Guttman, SI (1984) Genetic relationships in *Abies* (fir) of eastern United States: an electrophoretic study. *Can J Bot* 62(4):609–616
15. Löffler J (1988) Do air pollutants threaten the regeneration potential of West German forests? *Allg Forstzts* 33:916–918
16. Mauri A, de Rigo D, Caudullo G (2016) *Abies alba* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: San-Miguel-Ayan J, de Rigo D, Caudullo G, Houston Durrant T, Mauri A (ed), *European Atlas of Forest Tree Species*. Publ. Off. EU, Luxembourg, pp e01493b+. <https://doi.org/10.2788/4251>
17. Nekrasova P (1974) Losses of cone and seed crops in coniferous species. *Lesovedenie* 4:3–8
18. Owens JN, Molder M (1974) Bud development in western hemlock: 2. Initiation and early development of pollen cones and seed cones. *Can J Bot* 52:283–294. <https://doi.org/10.1139/b74-037>
19. Owens JN, Molder M (1977) Vegetative bud development and cone differentiation in *Abies amabilis*. *Can J Bot* 55:992–1008. <https://doi.org/10.1139/b77-117>
20. Owens JN, Morris SJ (1998) Factors affecting seed production in amabilis fir (*Abies amabilis* (L.) Mill.). *Can J For Res* 28:1146–1163. <https://doi.org/10.1139/x98-089>
21. Pintarić K (1991) Uzgajanje šuma II dio, Tehnika obnove i njege sastojina. Šumarski fakultet u Sarajevu, Sarajevo, pp 1-246
22. Prpić B, Seletković Z (2001) Ekološka konstitucija obične jele. In: *Obična jela u Hrvatskoj*, Zagreb, pp 255–269
23. Shea PJ (1989a) Interactions among phytophagous insect species colonizing cones of white fir (*Abies concolor*). *Oecologia* 81:104–110. <https://doi.org/10.1007/BF00377018>
24. Shea PJ (1989b) Phytophagous insect complex associated with cones of white fir, *Abies concolor* (Gord. and Glend.) Lindl., and its impact on seed production. *Can Entomol* 121:699–708. doi:10.4039/Ent121699-8
25. Sidhu SS, Staniforth RJ (1986) Effects of atmospheric fluorides on foliage, and cone and seed production in balsam fir, black spruce, and larch. *Can J Bot* 64:923–931. <https://doi.org/10.1139/b86-124>
26. Vidaković M (1982) Četinjače - morfologija i varijabilnost, JAZU i Sveuč. nakl. Liber, Zagreb, pp 1-710
27. Vidaković M (1993) Četinjače - morfologija i varijabilnost. Grafički zavod Hrvatska i Hrvatske šume, p.o. Zagreb, Zagreb, pp 1-741
28. Wolf H (2003) EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for silver fir (*Abies alba* Mill.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome
29. Wolfenbarger DO (1946) Dispersion of small organisms: Distance dispersion rates of bacteria, spores, seeds, pollen and insects: incidence rates of diseases and injuries. *Am Midl Nat* 35:1–152

Για την επιστημονική ονομασία των ειδών που εξετάζονται ή αναφέρονται στο παρόν έγγραφο, ακολουθείται η τρέχουσα (Δεκέμβριος 2020), κοινώς αποδεκτή ονοματολογία όπως αναφέρεται στις παρακάτω πηγές:

- a CABI (2020) *Invasive Species Compendium*. CAB International, Wallingford, UK. www.cabi.org/isc. Accessed 15 December 2020
- b EPPO (2020) EPPO Global Database (available online). <https://gd.eppo.int>. Accessed 15 December 2020
- c GBIF (2020) *Global Biodiversity Information Facility*. <https://www.gbif.org> Accessed 15 December 2020
- d IPNI (2020) International Plant Names Index. The Royal Botanic Gardens, Kew, Harvard University Herbaria & Libraries & Australian National Botanic Gardens. <http://www.ipni.org>, Accessed 10 December 2020
- e National Center for Biotechnology Information (NCBI) (1998) National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information, Bethesda (MD). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Accessed 15 December 2020
- f The Plant List (2013) Version 1.1. <http://www.theplantlist.org/>. Accessed 12 December 2020
- g Tropicos.org (2020) Missouri Botanical Garden. <http://www.tropicos.org>. Accessed 15 December 2020
- h WFO (2020) World Flora Online. <http://www.worldfloraonline.org>. Accessed 15 Dec 2020.

9.2.2 Δασικής οξιάς (*Fagus sylvatica* L.)

Marjana WESTERGREN¹, Darius KAVALIAUSKAS², Παρασκευή ΑΛΙΖΩΤΗ³, Marko BAJC¹, Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ³, Gregor BOŽIČ¹, Rok DAMJANIČ¹, Natalija DOVČ¹, Domen FINŽGAR^{1,4}, Barbara FUSSI², Φώτιος ΚΙΟΥΡΤΣΗΣ⁵, Hojka KRAIGHER¹

Απόδοση στα ελληνικά

Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ, Μαρίτα ΠΑΠΑΓΙΑΝΝΗ, Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ

Εικονογράφηση Marija PRELOG



Βιβλιογραφική παράθεση: Westergren κ.α. (2020) Κατευθυντήριες Οδηγίες για τη Γενετική Παρακολούθηση της Δασικής οξιάς (*Fagus sylvatica* L.). Στο: Bajc κ. ά. (Επιμ.) Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών. Ινστιτούτο Δασών Σλοβενίας: Silva Slovenica Publishing Centre, Λιουμπλιάνα, σσ. 199-216. <http://dx.doi.org/10.20315/SFS.167>

Φορείς:

1. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας (SFI), Σλοβενία
2. Βαυαρικό Γραφείο Δασικής Γενετικής (AWG), Γερμανία
3. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), Ελλάδα
4. Ινστιτούτο Εξελικτικής Βιολογίας, Πανεπιστήμιο του Εδιμβούργου, Ηνωμένο Βασίλειο
5. Αποκεντρωμένη Διοίκηση Μακεδονίας- Θράκης, Γενική Διεύθυνση Δασών και Αγροτικών Υποθέσεων, Ελλάδα

1 Περίληψη

Η Δασική οξιά (*Fagus sylvatica*) είναι ένα μόνικο, φυλλοβόλο είδος το οποίο σχηματίζει συστάδες σχεδόν σε όλη την Ευρώπη. Είναι ένα πολύ ανταγωνιστικό, σκιάφιλο είδος το οποίο έχει τη δυνατότητα να αναγεννάται φυσικά, σχηματίζοντας συνεχείς, δασικές εκτάσεις πλήρους κάλυψης. Επιπλέον διατηρεί την παραγωγική ικανότητα του εδάφους σε μεγαλύτερο βαθμό από άλλα είδη. Λόγω της υψηλής οικολογικής του αξίας και του ποιοτικού ξύλου που προσφέρει, η οξιά αποτελεί ιδανικό είδος για την εφαρμογή γενετικής παρακολούθησης.

Οι παρακάτω κατευθυντήριες οδηγίες δίνουν μια περιγραφή της δασικής οξιάς, του τρόπου αναπαραγωγής, του περιβάλλοντος και των απειλών κάτω από τις οποίες βρίσκεται το συγκεκριμένο είδος. Προσφέρεται επίσης καθοδήγηση για την ίδρυση μίας επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης και για την καταγραφή όλων των επαληθευτών στο πεδίο.

(α)



(β)



Εικόνα 1: (α) Μορφολογία και (β) φύλλο και καρπός της δασικής οξιάς (*F. sylvatica*).

2 Περιγραφή είδους

Η δασική οξιά (Εικόνα 1α) είναι ένα μεγάλο, σκιανθεκτικό, φυλλοβόλο, δέντρο που φτάνει σε ύψος τα 30-40 μέτρα, σε μερικές περιπτώσεις ακόμη και τα 50 μ. [1]. Μπορεί να φτάσει σε ηλικία τα 250 με 300 έτη, αλλά η συγκομιδή του ξύλου της γίνεται συνήθως περίπου στα 80 με 120 έτη [1, 2]. Σε αντίθεση με άλλα δενδρώδη είδη, η οξιά συνεχίζει να αναπτύσσεται με τον ίδιο ρυθμό ακόμη και σε προχωρημένο στάδιο ωριμότητας [2]. Έχει λεπτό, λείο ασημο-γκριζωπό φλοιό με μοτίβο χαρακτηριστικό του είδους [1, 2]. Τα φύλλα είναι ανοιχτοπράσινα, ωοειδή (Εικόνα 1β), πιληματώδη, γίνονται πράσινα σκούρα και γυαλιστερά αργά την άνοιξη [2]. Νευρώσεις φύλλων παράλληλες, σε 6-7 ζεύγη εκατέρωθεν του κεντρικού νεύρου. Έλασμα ακέραιο, χωρίς λοβούς, με βραχύ μίσχο. Το χειμώνα η οξιά αναγνωρίζεται εύκολα από τους μυτερούς, λείους και επιμήκεις οφθαλμούς που αναπτύσσονται στα κλαδιά υπό γωνία [4].

Όπου η εξάπλωση της συμπίπτει με την εξάπλωση πληθυσμών *Fagus orientalis* Lipsky, δύναται να υπάρξει υβριδισμός μεταξύ των δύο [1].

3 Αναπαραγωγή

Η οξιά είναι ανεμογαμές είδος, μόνοικο [1, 2], με αρσενικά και θηλυκά άνθη να φύονται στον ίδιο κλάδο και να αναδύονται από τον ίδιο οφθαλμό. Τα αρσενικά άνθη αναπτύσσονται σε κεφάλια, μικρού μεγέθους. Το αναπαραγωγικό στάδιο αρχίζει αρκετά αργά σε συστάδες, σε ηλικία 40-50 ετών. Εμφανίζουν πληροκαρπία κάθε 5-8 έτη, πολλές φορές και σε μεγαλύτερα διαστήματα, συνήθως μετά από ιδιαίτερα θερμό καλοκαίρι την προηγούμενη χρονιά [1, 3].

Η έναρξη της έκπτυξης των φύλλων διαφέρει από πληθυσμό σε πληθυσμό και από έτος σε έτος. Όταν τα φύλλα εμφανίζονται περίπου στο τέλος Μαρτίου με Μάιο στην κεντρική Ευρώπη, συνήθως ακολουθεί η ανθοφορία περί τον Απρίλιο με Μάιο. Όταν ολοκληρωθεί η γονιμοποίηση των θηλυκών ανθέων, αναπτύσσονται οι καρποί, οι οποίοι είναι κάρυα, έντονα τριγωνικά (Εικόνα 1β), αναπτύσσονται μεμονωμένα ή σε ζεύγη κλεισμένα σε κύπελα που φέρουν εξωτερικά βράκτια [1, 2, 3]. Ωριμάζουν και πέφτουν από το δέντρο Σεπτέμβριο με Οκτώβριο [3]. Τα σπέρματα της οξιάς χαρακτηρίζονται από ισχυρό λήθαργο [3].

Η δασική οξιά θεωρείται είδος προχωρημένης διαδοχής στην φυτοκοινωνιολογική κλίμακα. Η διασπορά των σπερμάτων και η φυσική αναγέννηση γίνονται σε ικανοποιητικό βαθμό και η οξιά είναι πολύ ανταγωνιστικό είδος, ιδιαίτερα σε συνθήκες υπό σκιά [1].

4 Περιβάλλον- Οικολογία

Η δασική οξιά εξαπλώνεται σε όλη την κεντρική και δυτική Ευρώπη, από το νότιο τμήμα της Σκανδιναβίας στο βορρά, έως τη Σικελία και τη Βαλκανική μέχρι το ύψος της κεντρικής Ελλάδας στο νότο (1,2). Καθώς η οξιά αναπτύσσεται σε θέσεις με υγρασία και βροχοπτώσεις καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, η εξάπλωσή της περιορίζεται από τις υψηλές θερμοκρασίες, την ξηρασία και την έλλειψη υγρασίας του θέρους, καθώς και από το ηπειρωτικό κλίμα στη νοτιοδυτική Ευρώπη [1]. Επίσης αν και είναι ανθεκτική στο χειμερινό ψύχος, έχει ευαισθησία στους όψιμους παγετούς αργά την άνοιξη, γεγονός που περιορίζει την εξάπλωσή της στις βόρειες αρκτικές περιοχές [1]. Αναπτύσσεται καλά σε μέτριας γονιμότητας εδάφη, αλκαλικά ή ελαφρώς όξινα, αλλά δυσκολεύεται σε ελλειπώς αποστραγγιζόμενα ή συμπιεσμένα εδάφη [1]. Είναι είδος που σχηματίζει αμιγείς και μικτές συστάδες [2].

5 Απειλές

Η δασική οξιά θεωρείται ανθεκτικό είδος. Ωστόσο, οι όψιμοι παγετοί μπορούν να καταστρέψουν τα νεαρά δέντρα, ή τα άνθη που σχηματίζονται ταυτόχρονα με τα φύλλα. Γηραιότερα δέντρα μπορούν να προσβληθούν από «ερυθρό εγκάρδιο», προσβολή η οποία επηρεάζει τη σταθερότητα του δέντρου και την αξία του ξύλου. Η

Mikiola fagi Hartig., είναι ένα είδος κηκιδόμυγας το οποίο μπορεί να προκαλέσει θάνατο σε μικρά δέντρα οξιάς και να μειώσει την ανάπτυξη σε βαριά προσβεβλημένα μεγαλύτερα δέντρα. Η οξιά βρίσκεται επίσης ανάμεσα στα είδη που χρησιμοποιεί ως ξενιστές ο παρασιτικός μύκητας *Phytophthora ramorum* Werres, De Cock & Man. Τα σκαθάρια *Anoplophora chinensis* Forster και *A. glabripennis* Motschulsky, τα οποία προέρχονται από την Ασία, αποτελούν την πλέον πρόσφατη απειλή για την οξιά [5].

6 Ίδρυση επιφανειών και συντήρηση

Η δασική οξιά σχηματίζει αμιγείς ή μικτές συστάδες με είδη όπως η λευκή ελάτη, η ερυθρελάτη και άλλα δασικά είδη[1].

Η κάθε επιφάνεια γενετικής παρακολούθησης αποτελείται από 50 ώριμα άτομα, διαμέτρου στο στήθιαίο ύψος άνω των 15 εκ. και με απόσταση μεταξύ δύο δέντρων τουλάχιστον 30 μέτρα. Κάθε δέντρο που έχει περάσει από το στάδιο της ανθοφορίας θεωρείται ώριμο άτομο. Αν η επιφάνεια ιδρύεται εκτός της περιόδου ανθοφορίας, ως μέτρα εκτίμησης της ανθοφορίας μπορούν να χρησιμοποιηθούν η στήθιαία διάμετρος και οι κλάσεις διαμέτρου του κορμού. Κατά την ίδρυση της επιφάνειας γίνεται σήμανση των δέντρων και καταγράφονται οι συντεταγμένες τους, ενώ συγχρόνως μπορεί να μετρηθεί η στήθιαία διάμετρος και να ληφθούν δείγματα για απομόνωση γενετικού υλικού. Για την ομαλή διεξαγωγή των εργασιών πεδίου είναι σημαντική η υποστήριξη των τοπικών δασολόγων.

Απαραίτητος εξοπλισμός:

- Αποστασιόμετρο (συστήνονται επίσης ειδικά κιάλια για μέτρηση απόστασης)
- Πυξίδα
- Πινέλο και μπογιά ή μπογιά σε σπρέι για τη σήμανση των δέντρων
- Παχύμετρο για τον υπολογισμό της στήθιαίας διαμέτρου
- Συσκευή GPS υψηλής ακριβείας με δυνατότητα αποθήκευσης συντεταγμένων των δέντρων

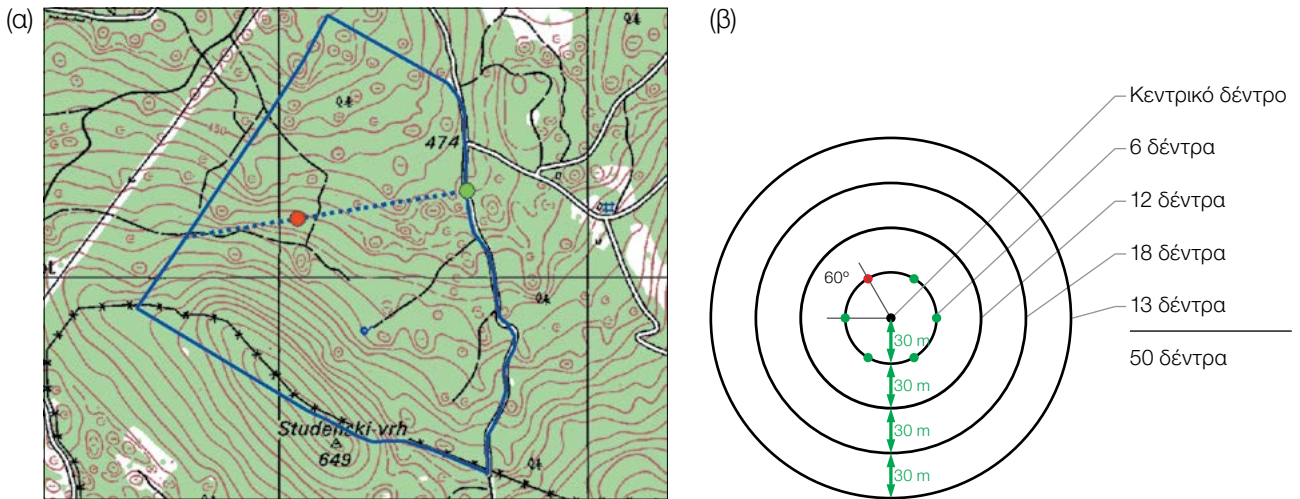
6.1 Ίδρυση επιφάνειας

6.1.1 Επιλογή του κέντρου της επιφάνειας

Η γενική διαδικασία για τυχαία επιλογή επιφάνειας περιλαμβάνει τα παρακάτω βήματα (Εικόνα 2):

- Τυχαία επιλογή ενός σημείου στο χάρτη (πράσινη κουκκίδα) εντός του δασικού δρόμου ή μονοπατιού που διατρέχει τη συστάδα.
- Σχεδίαση γραμμής που ξεκινάει από το τυχαίο σημείο σε θέση σχεδόν κάθετη στον δρόμο όπου τοποθετήσαμε το σημείο.
- Τυχαία επιλογή ενός σημείου επάνω στον κάθετο άξονα (κόκκινη κουκκίδα), το οποίο θα είναι το κέντρο της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης.

Η ελάχιστη απόσταση μεταξύ του κέντρου της επιφάνειας που ορίσαμε και των ορίων της συστάδας πρέπει να είναι περίπου 150 μέτρα. Αν αυτή η συνθήκη δεν ισχύει, τότε ορίζουμε νέο κέντρο της επιφάνειας ακολουθώντας τα παραπάνω βήματα.



Εικόνα 2: Τυχαία επιλογή του κέντρου της επιφάνειας δασικής γενετικής παρακολούθησης (α). Επιλογή δέντρων σε ομόκεντρους κύκλους, με απόσταση με απόσταση 30 μέτρων μεταξύ τους γύρω από το κεντρικό σημείο (β)

Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί κατάλληλο λογισμικό GIS από το οποίο θα επιλεγούν τυχαία σημεία.

Οι συντεταγμένες των επιλεγμένων σημείων αποθηκεύονται σε συσκευή GPS ώστε να χρησιμοποιηθούν στο πεδίο.

6.1.1.2 Ίδρυση επιφάνειας στο πεδίο

Στο πεδίο, το κοντινότερο ώριμο δέντρο στο σημείο που ορίσαμε ως το κέντρο της επιφάνειας, επιλέγεται ως κεντρικό δέντρο και μαρκάρεται με τον αριθμό 1.

Τα υπόλοιπα δέντρα επιλέγονται με βάση το κεντρικό δέντρο σε ομόκεντρους κύκλους με ακτίνα που για κάθε νέο κύκλο αυξάνεται 30 μέτρα (Εικόνα 2b). Το πρώτο δέντρο σε κάθε κύκλο επιλέγεται τυχαία, είτε χρησιμοποιώντας ένα τυχαίο αζιμούθιο (Πίνακας 1) κοιτάζοντας από το κεντρικό δέντρο, είτε ακολουθώντας την κατεύθυνση του μικρού δείκτη ενός ρολογιού ή κάποια ανάλογη προσέγγιση που διασφαλίζει την τυχαιότητα και την αντικειμενικότητα. Τα υπόλοιπα δέντρα του κύκλου επιλέγονται αυξάνοντας ανάλογα το αζιμούθιο ώστε να πληρείται η συνθήκη της ελάχιστης απόστασης των 30 μέτρων μεταξύ οποιοδήποτε 2 δέντρων:

- +60° για τον πρώτο κύκλο
- +30° για τον δεύτερο κύκλο
- +20° για τον τρίτο κύκλο
- +15° για τον τέταρτο κύκλο

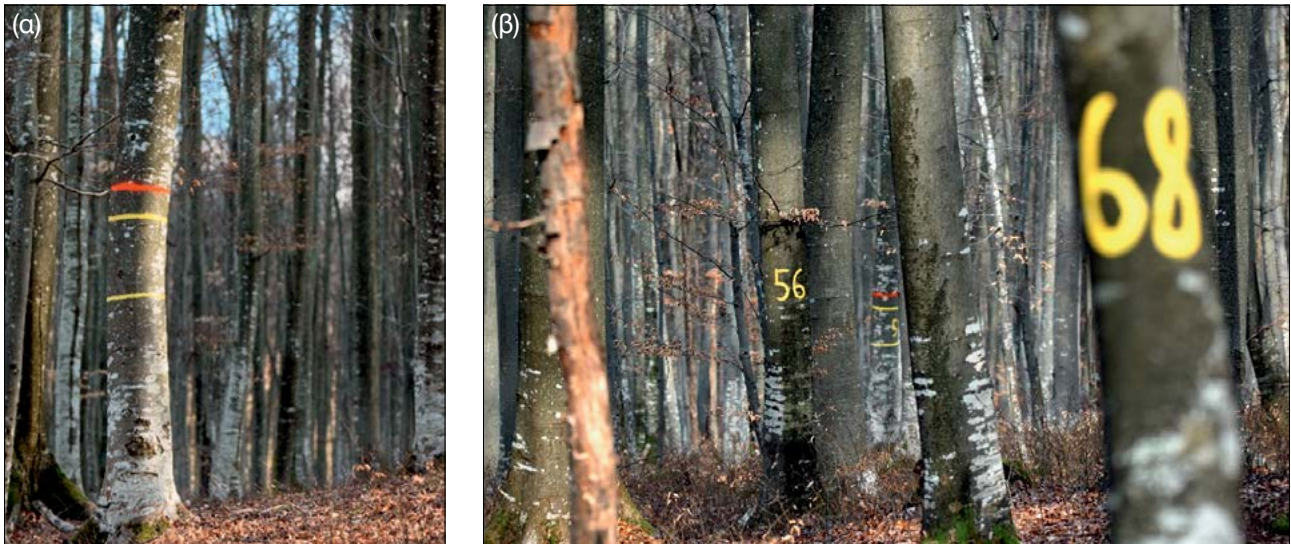
Εάν δεν είναι εφικτή η επιλογή αντίστοιχα 6, 12 και 18 δέντρων σε κάθε έναν από τους 3 εσωτερικούς κύκλους (Εικόνα 2β), μπορούμε να επιλέξουμε πρόσθετα δέντρα σε επιπλέον κύκλους.

Πίνακας 1: Τυχαία αζιμούθια για την επιλογή του πρώτου δέντρου κάθε κύκλου

108	15	186	35	178	29	305	351	44	150
232	23	160	141	112	292	216	83	245	214
63	65	345	234	95	78	279	323	40	236
201	313	275	144	182	68	268	289	185	92
356	177	93	1	145	198	287	251	224	142

6.1.1.3 Σήμανση δέντρων

Κάθε επιλεγμένο δέντρο αριθμείται με έναν χαρακτηριστικό αριθμό και συμπληρωματικά με μία γραμμή περιμετρικά του κορμού ώστε να είναι ορατό από κάθε πλευρά. Αριθμείται το κεντρικό δέντρο (νούμερο 1) με μία ή περισσότερες γραμμές ώστε αυτό να διαφοροποιείται ανάμεσα στα υπόλοιπα (Εικόνα 3α). Συστήνεται ακόμη να βάλετε τον αριθμό και στην πλαϊνή όψη του κεντρικού δέντρου σε διαφορετική κατεύθυνση από την αρίθμηση των υπόλοιπων επιλεγμένων ατόμων καθώς έτσι διακρίνεται ευκολότερα και από τους εξωτερικούς δακτυλίους της επιφάνειας (Εικόνα 3β).



Εικόνα 3: (α) Το κεντρικό δέντρο της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης έχει σημανθεί με πολλαπλές γραμμές ώστε να διακρίνεται ανάμεσα στα άλλα δέντρα, (β) Η αρίθμηση στα υπόλοιπα δέντρα σε διαφορετική κατεύθυνση από την αρίθμηση του κεντρικού δέντρου.

6.2 Ίδρυση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης

Η ίδρυση υποεπιφανειών με φυσική αναγέννηση (ΦΑ) πραγματοποιείται κατά τη διάρκεια της βλαστητικής περιόδου, μετά από έτος πληροκαρπίας.

Η φυσική αναγέννηση που προκύπτει από την πιο πρόσφατη περίοδο πληροκαρπίας, αξιολογείται στο πεδίο και καταγράφονται οι θέσεις στις οποίες βρίσκεται [συντεταγμένες με GPS, αριθμός κοντινότερου δέντρου στο σημείο όπου παρατηρείται ΦΑ]. Από όλες τις καταγεγραμμένες θέσεις με ΦΑ, επιλέγονται τυχαία 20 για την ίδρυση των υποεπιφανειών. Εάν έχουν καταγραφεί 20 ή και λιγότερες θέσεις φυσικής αναγέννησης, τότε συμπεριλαμβάνονται όλες.

Εντός κάθε κέντρου φυσικής αναγέννησης ορίζεται και οριοθετείται με μεταλλικές ράβδους μία επιφάνεια 1τμ. Οι μεταλλικές ράβδοι τοποθετούνται στο έδαφος σε κάθε γωνία της υποεπιφάνειας σε όσο το δυνατόν μεγαλύτερο βάθος ώστε να αποτραπεί η αφαίρεσή τους από ζώα. Οι άκρες των ράβδων βάφονται με κάποιο εύκολα διακριτό χρώμα.

6.3 Συντήρηση επιφανειών

6.3.1 Γενική συντήρηση

Οι σημάνσεις και οι αριθμήσεις των δέντρων πρέπει να ελέγχονται περιοδικά (κάθε 2 χρόνια) και να επιδιορθώνονται όπου είναι απαραίτητο.

6.3.2 Αντικατάσταση δέντρων

Εάν κάποιο επιλεγμένο για γενετική παρακολούθηση άτομο νεκρωθεί ή αφαιρεθεί στα πλαίσια της διαχείρισης του δάσους, τότε πρέπει να αντικατασταθεί. Επιλέγεται το κοντινότερο κατάλληλο δέντρο, λαμβάνοντας υπόψη ότι πρέπει να πληρείται η συνθήκη απόστασης 30μ από το κοντινότερο παρακολουθούμενο δέντρο. Διαφορετικά, επιλέγεται κάποιο άλλο άτομο από την περιφέρεια του εξωτερικού κύκλου στα όρια της επιφάνειας παρακολούθησης. Το δέντρο αντικατάστασης λαμβάνει τον επόμενο διαθέσιμο αριθμό μετά το 50 λ.χ. 51, 52, 53 κ.ο.κ. ώστε να διαφοροποιείται από τα αρχικά επιλεγμένα 50 άτομα.

Σε περίπτωση καταστροφής της κόμης του δέντρου λ.χ. καταστροφή από άνεμο, χιόνι ή παγετό χωρίς όμως να επηρεάζεται η δυνατότητα καρποφορίας του, το δέντρο συνεχίζει να παρακολουθείται. Εάν η καταστροφή είναι πολύ έντονη και εκτεταμένη σε σημείο που επηρεάζει την καρποφορία, το επιλεγμένο δέντρο πρέπει να αντικατασταθεί.

7 Καταγραφή επαληθευτών και επιπλέον πληροφοριών

Οι επιπλέον πληροφορίες για την επιφάνεια παρακολούθησης και τους επαληθευτές πρέπει να καταγράφονται σε συστηματική βάση. Οι επαληθευτές χρησιμοποιούνται για την παρακολούθηση των γενετικών δεικτών του πληθυσμού καθώς και για την παρακολούθηση της προσαρμογής του σε περιβαλλοντικές αλλαγές ή/και διαχειριστικές μεθόδους. Παράλληλα, άλλες επιπλέον πληροφορίες για τον πληθυσμό καταγράφονται ώστε να συμβάλλουν στην ερμηνεία των επαληθευτών.

Υψηλότερου επιπέδου επαληθευτές (δηλ. οι επαληθευτές τυπικού και προχωρημένου επιπέδου) πρέπει να περιλαμβάνουν καταγραφή των επαληθευτών και από τις αντίστοιχες χαμηλότερες κατηγορίες (δηλ. βασικοί και τυπικοί επαληθευτές αντίστοιχα). Δεν είναι απαραίτητη η καταγραφή άλλων επιπλέον πληροφοριών.

Πίνακας 2: Κατάλογος επαληθευτών και επιπλέον πληροφοριών με σύντομες περιγραφές και συχνότητα παρατήρησης κατά τη διάρκεια εργασιών πεδίου σε επιφάνειες γενετικής παρακολούθησης οξιάς.

Όνομα	Βασικό επίπεδο	Τυπικό επίπεδο	Προχωρημένο επίπεδο	
Επαληθευτές	Θνησιμότητα / επιβίωση	Ενήλικα άτομα: Μέτρηση υφιστάμενων επιλεγμένων δέντρων κάθε 10 χρόνια, καθώς και μετά από ισχυρή κακοκαιρία/ έντονα καιρικά φαινόμενα	Το ίδιο με το βασικό	Το ίδιο με το βασικό
		Φυσική αναγέννηση: /	Καταμέτρηση υφιστάμενων φυταρίων στις υποεπιφάνειες φυσικής αναγέννησης, δύο φορές ανά δεκαετία	Όπως στο τυπικό επίπεδο
	Ανθοφορία	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας σε ετήσια βάση	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κατά τη διάρκεια δύο περιόδων μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία, ιδανικά ισαπέχουσες μεταξύ τους*	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κατά τη διάρκεια δύο περιόδων μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία, ιδανικά ισαπέχουσες μεταξύ τους*
	Καρποφορία	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας σε ετήσια βάση	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, τα ίδια έτη αξιολόγησης με την ανθοφορία στο τυπικό επίπεδο (ανεξάρτητα από το βαθμό καρποφορίας)*	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, τα ίδια έτη αξιολόγησης με την ανθοφορία στο προχωρημένο επίπεδο (ανεξάρτητα από το βαθμό καρποφορίας)* Σε αυτό το επίπεδο, συλλέγονται επίσης σπέρματα για εργαστηριακές αναλύσεις σε κάθε καρποφορία που αξιολογείται
	Αφθονία φυσικής αναγέννησης	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας σε ετήσια βάση	Καταμέτρηση των φυταρίων το 1ο και το 6ο έτος μετά από κάθε αξιολογημένη καρποφορία	Καταμέτρηση των φυταρίων το 1ο, 6ο, 11ο και 16ο έτος μετά από κάθε αξιολογημένη καρποφορία
Επιπλέον πληροφορίες	Κατανομή κλάσεων διαμέτρου	/	Μέτρηση κάθε 10 έτη	Όπως στο τυπικό επίπεδο
	Κατανομή υψομετρικών κλάσεων	/	Μέτρηση κάθε 10 έτη	Όπως στο τυπικό επίπεδο
	Έκπτυξη οφθαλμών	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου κάθε 5 έτη	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, ετησίως
	Φθινοπωρινός μαρασμός	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου κάθε 5 έτη	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, ετησίως
	Συγχρονισμός ανθοφορίας	/	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κατά τη διάρκεια κάθε αξιολογούμενης μαζικής ανθοφορίας

* Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος μαζικής ανθοφορίας πρέπει να αξιολογείται ανά δεκαετία. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δε οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε την επόμενη περίοδο μαζικής ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου τόσο η ανθοφορία, όσο και η πληροκαρπία, ανεξάρτητα του χρόνου που έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών περιόδων. Το βασικό επίπεδο παρατήρησης χρησιμοποιείται για την αναγνώριση των περιόδων ανθοφορίας και πληροκαρπίας.

7.1 Πρωτόκολλα για την καταγραφή επαληθευτών

7.1.1 Θνησιμότητα / επιβίωση

Η θνησιμότητα χαρακτηρίζει τη θνησιμότητα των ενήλικων ατόμων και της φυσικής αναγέννησης. Από την άλλη, η επιβίωση χαρακτηρίζει τα άτομα εκείνα που έχουν παραμείνει ζωντανά από την προηγούμενη αξιολόγηση. Η επιβίωση προκύπτει από τη σχέση: $\text{Επιβίωση} = (1 - \text{Θνησιμότητα})$.

7.1.1.1 Ενήλικα άτομα: Βασικό, τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Επαληθευτής για τη θνησιμότητα ενήλικων ατόμων. Υπολογίζεται με καταμέτρηση των ζωντανών αριθμημένων δέντρων κάθε 10 έτη, καθώς και έπειτα από ακραίες καιρικές συνθήκες. Η θνησιμότητα υπολογίζεται ως η διαφορά μεταξύ του αρχικού αριθμού των 50 επιλεγμένων δέντρων, μείον τον τελικό αριθμό των εναπομεινάντων, επιλεγμένων δέντρων.

7.1.1.2 Φυσική αναγέννηση: Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Η θνησιμότητα της φυσικής αναγέννησης υπολογίζεται από τον επαληθευτή «αφθονία φυσικής αναγέννησης» κατά τη διάρκεια δύο διαδοχικών αξιολογήσεων (πραγματοποιούνται δύο φορές ανά δεκαετία, ιδανικά κάθε 5 έτη).

7.1.2 Ανθοφορία

Αυτός ο επαληθευτής περιγράφει την ένταση της ανθοφορίας καθώς και την αναλογία δέντρων που βρίσκονται σε κατάσταση ανθοφορίας. Καταγράφεται από τον Απρίλιο έως το Μάιο στην κεντρική Ευρώπη και σχετικά νωρίτερα στη νότια Ευρώπη.

7.1.2.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κάθε έτος σε επίπεδο συστάδας. Η καταγραφή γίνεται όταν η ανθοφορία είναι σε πλήρη εξέλιξη. Ο υπολογισμός της μέσης κατάστασης πραγματοποιείται μετά από μία αυτοψία μέσα στην επιφάνεια παρακολούθησης. Δίνονται δύο τιμές, η μία για την ένταση της ανθοφορίας και η άλλη για την αναλογία των ατόμων σε στάδιο ανθοφορίας στη συστάδα.

Κωδικός	Ένταση ανθοφορίας σε επίπεδο συστάδας	Μέση αναλογία ανθοφορίας κόμης (%)
1	Χωρίς ανθοφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση ανθέων στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης ανθοφορία: Μερικά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης ανθοφορία: Αρκετά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης ανθοφορία: Άφθονα άνθη στα δέντρα	> 60 – 90
5	Μαζική ανθοφορία: Τεράστιος αριθμός ανθέων στα δέντρα	> 90

Κωδικός	Αναλογία δέντρων της συστάδας σε κάθε στάδιο έντασης ανθοφορίας (%)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

7.1.2.2 Τυπικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κατά τη διάρκεια δύο, μαζικών περιόδων ανθοφορίας ανά δεκαετία, οι οποίες ιδανικά, ισαπέχουν χρονικά μεταξύ τους. Καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου σε κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα άτομα. Στάδιο μαζικής ανθοφορίας θεωρείται η ανθοφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση ανθοφορίας βρίσκεται σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5). Η καταγραφή γίνεται όταν η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη. Για κάθε δέντρο δίνεται μία τιμή.

Κωδικός	Περιγραφή	Αναλογία ανθοφορίας κόμης(%)
1	Χωρίς ανθοφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση ανθέων στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης ανθοφορία: Μερικά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης ανθοφορία: Αρκετά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης ανθοφορία: Άφθονα άνθη στα δέντρα	> 60 – 90
5	Μαζική ανθοφορία: Τεράστιος αριθμός ανθέων στα δέντρα	> 90

7.1.2.3 Προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κατά τη διάρκεια δύο, μαζικών περιόδων ανθοφορίας ανά δεκαετία, οι οποίες ιδανικά, ισαπέχουν χρονικά μεταξύ τους. Καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου σε κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα άτομα. Στάδιο μαζικής ανθοφορίας θεωρείται η ανθοφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση ανθοφορίας είναι σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5). Χρειάζονται περίπου δύο επισκέψεις στην επιφάνεια παρακολούθησης, η πρώτη αρκετά νωρίς ώστε να παρατηρηθούν τα πρώιμα στάδια της ανθοφορίας και η δεύτερη όταν πλέον η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη.

Τρεις τιμές καταγράφονται για κάθε δέντρο: στάδιο ανθοφορίας θηλυκών ανθέων, στάδιο ανθοφορίας αρσενικών ανθέων και αναλογία της ανθοφορίας της κόμης. Η τελευταία τιμή αναφέρεται στο συνολικό αριθμό ανθέων (θηλυκά και αρσενικά) στο δέντρο. Δείτε στην Εικόνα 4 τη γραφική απεικόνιση των σταδίων ανθοφορίας.

Κωδικός	Στάδιο ανθοφορίας θηλυκών ανθέων
1	Πλήρως ανεπτυγμένο θηλυκό άνθος
2	Πλήρης σχηματισμός καρπών, χωρίς να έχουν ανοίξει ακόμα τα κύπελα

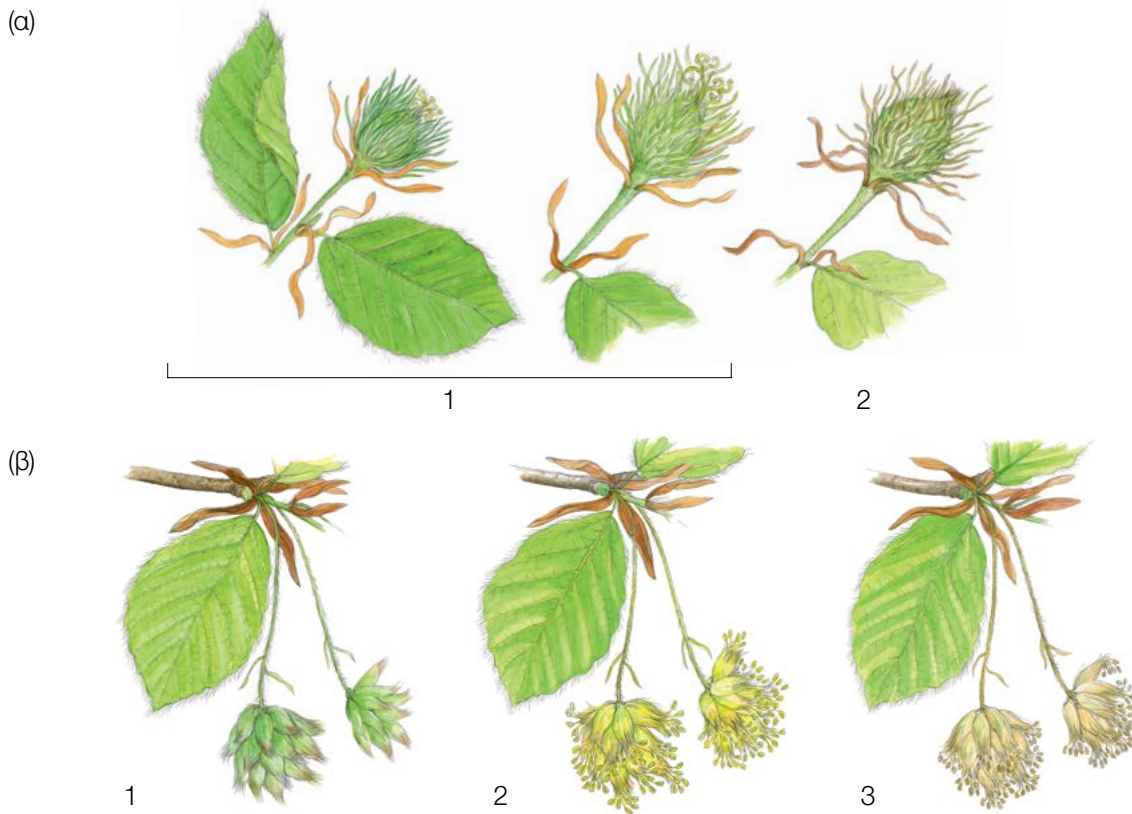
Κωδικός	Στάδιο ανθοφορίας αρσενικών ανθέων
1	Επιμήκης ποδίσκος- κλειστό άνθος (πράσινο)
2	Απελευθέρωση γύρης από τους ανθήρες (κίτρινο)
3	Άδεια ανθήρες (γύρη απελευθερωμένη) (καφετί)

Κωδικός	Αναλογία ανθοφορίας κόμης (% αρσενικά και θηλυκά άνθη σε ανθοφορία συνολικά)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

Επιπλέον πληροφορίες για την ταυτόχρονη ανθοφορία μπορούν να ληφθούν από τις τιμές ανθοφορίας των θηλυκών και αρσενικών ανθέων που καταγράφηκαν σε αυτόν τον επαληθευτή.

7.1.3 Καρποφορία

Αυτός ο επαληθευτής περιγράφει την παρουσία καρπών και την αφθονία τους. Δεδομένα για αυτόν τον επαληθευτή συλλέγονται κατά τη διάρκεια της καρποφορίας, κατά το διάστημα Αύγουστος- Οκτώβριος στην κεντρική Ευρώπη.



Εικόνα 4: Οδηγός για την περιγραφή των σταδίων ανθοφορίας για τα θηλυκά (α) και τα αρσενικά (β) άνθη για τον επαληθευτή Ανθοφορία στο προχωρημένο στάδιο.

7.1.3.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κάθε έτος σε επίπεδο συστάδας. Ο υπολογισμός της μέσης κατάστασης πραγματοποιείται μετά από αυτοψία στην επιφάνεια παρακολούθησης. Δίνονται δύο τιμές, η μία για την ένταση της καρποφορίας και η άλλη για την αναλογία των ατόμων σε στάδιο καρποφορίας στη συστάδα.

Κωδικός	Ένταση καρποφορίας	Μέση αναλογία κόμης σε καρποφορία (%)
1	Χωρίς καρποφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση καρπών στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης καρποφορία: Μερικοί καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης καρποφορία: Αρκετοί καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης καρποφορία: Άφθονοι καρποί στα δέντρα	> 60 – 90
5	Πληροκαρπία: Τεράστιες ποσότητες καρποί στα δέντρα	> 90

Κωδικός	Αναλογία δέντρων στη συστάδα σε κάθε στάδιο έντασης καρποφορίας (%)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

7.1.3.2 Τυπικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται τις ίδιες χρονιές όπου αξιολογείται η ανθοφορία στο τυπικό επίπεδο (ανεξάρτητα από την ένταση της καρποφορίας). Γίνεται καταγραφή σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα δέντρα. Η καταγραφή γίνεται προτού πέσουν οι καρποί. Για κάθε δέντρο δίνεται μία τιμή.

Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος πληροκαρπίας πρέπει να αξιολογείται μετά από μία περίοδο μαζικής ανθοφορίας. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δεν οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε την επόμενη περίοδο ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου και η ανθοφορία και η πληροκαρπία, ανεξάρτητα του χρόνου που έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών περιόδων. Στάδιο πληροκαρπίας θεωρείται η καρποφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση καρποφορίας βρίσκεται σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5).

Κωδικός	Ένταση καρποφορίας	Αναλογία καρποφορίας στην κόμη (%)
1	Χωρίς καρποφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση καρπών στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης καρποφορία: Μερικοί καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης καρποφορία: Αρκετοί καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης καρποφορία: Άφθονοι καρποί στα δέντρα	> 60 – 90
5	Πληροκαρπία: Τεράστιες ποσότητες καρπών στα δέντρα	> 90

7.1.3.3 Προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα δέντρα τις ίδιες χρονιές όπου αξιολογείται η ανθοφορία στο προχωρημένο επίπεδο, ανεξάρτητα από την ένταση της καρποφορίας. Η καταγραφή γίνεται προτού πέσουν οι καρποί. Για κάθε δέντρο δίνεται μία τιμή. Παράλληλα συλλέγονται σπέρματα για γενετικές και άλλες αναλύσεις καθώς και για την καταγραφή επιπλέον πληροφοριών σε αυτό το επίπεδο.

Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος πληροκαρπίας πρέπει να αξιολογείται μετά από μία περίοδο μαζικής ανθοφορίας. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δεν οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε την επόμενη περίοδο ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου και η ανθοφορία και η καρποφορία ανεξάρτητα του χρόνου που έχει μεσολαβήσει μεταξύ δύο διαδοχικών περιόδων. Κατά το βασικό επίπεδο παρατήρησης καταγράφονται οι περιόδους πληροκαρπίας. Στάδιο πληροκαρπίας θεωρείται η καρποφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση καρποφορίας βρίσκεται σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5).

Ο επαληθευτής καταγράφεται μετά από μέτρηση των καρπών χρησιμοποιώντας κιάλια. Σημειώνεται ο μέσος όρος που προκύπτει από τρεις διαδοχικές μετρήσεις. Στον κάθε μέτρηση καταγράφεται ο αριθμός καρπών που ο παρατηρητής μετράει σε 30 δευτερόλεπτα. Για όλα τα δέντρα εξετάζεται το ίδιο μέρος της κόμης. Μόλις επιλεγεί το συγκεκριμένο κομμάτι της κόμης, ο παρατηρητής πρέπει να εστιάσει σε αυτό και για κάθε επόμενη μέτρηση που θα πραγματοποιήσει. Προτείνεται για την καταμέτρηση να εξεταστεί το ανώτερο τρίτο της κόμης σε σχέση με το ενδιάμεσο ή το κατώτερο.

Σημειώνονται δύο τιμές, ο αριθμός των καρπών και το μέρος της κόμης που εξετάστηκε.

Αριθμός καταμετρημένων καρπών σε 30 δευτερόλεπτα (μέσος όρος τριών μετρήσεων)

X

Κωδικός Μέρος της κόμης που εξετάστηκε

1 Κατώτερο

2 Ενδιάμεσο

3 Ανώτερο

7.1.4 Αφθονία φυσικής αναγέννησης

Ο επαληθευτής περιγράφει την παρουσία και την αφθονία της φυσικής αναγέννησης στην επιφάνεια παρακολούθησης.

7.1.4.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται σε ετήσια βάση, το φθινόπωρο, σε επίπεδο συστάδας. Για τον υπολογισμό της φυσικής αναγέννησης σε όλη την επιφάνεια συνιστάται η συμβουλή τοπικού δασολόγου. Καταγράφονται δύο τιμές, μία για τη νέα φυσική αναγέννηση (αρτίφυτα της τρέχουσας χρονιάς) και μία για την ήδη εγκατεστημένη αναγέννηση (φυτάρια που θα αποτελέσουν τη νέα συστάδα).

Κωδικός Περιγραφή: νέα φυσική αναγέννηση (αρτίφυτα της τρέχουσας χρονιάς)

1a Καθόλου ή ελάχιστη νέα φυσική αναγέννηση στην επιφάνεια παρακολούθησης

2a Η νέα φυσική αναγέννηση υπάρχει και αντιπροσωπεύεται από ικανό αριθμό ατόμων στην επιφάνεια παρακολούθησης

Κωδικός Περιγραφή: εγκατεστημένη φυσική αναγέννηση (φυτάρια)

1b Καθόλου ή ελάχιστη νέα φυσική αναγέννηση στην επιφάνεια παρακολούθησης

2b Εγκατεστημένη φυσική αναγέννηση σε ικανό αριθμό ατόμων στην επιφάνεια παρακολούθησης

7.1.4.2 Τυπικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται με την καταμέτρηση φυταρίων, το πρώτο φθινόπωρο μετά από κάθε αξιολογημένη περίοδο καρποφορίας (το έτος με καρποφορία θεωρείται το έτος 0) και έπειτα το έκτο φθινόπωρο μετά την καρποφορία.

Καταμέτρηση φυταρίων:

Μετά την εγκατάσταση των υποεπιφανειών της φυσικής αναγέννησης, καταμετρώνται όλα τα φυτάρια οξιάς σε κάθε υποεπιφάνεια. Μεγαλύτερα σε ηλικία φυτάρια οξιάς που βρίσκονται εντός της υποεπιφανείας δεν συμπεριλαμβάνονται στην καταμέτρηση. Στον επόμενο γύρο καταμέτρησης, λαμβάνονται υπόψη μόνο φυτάρια στην κατάλληλη ηλικία, δηλαδή στο 6^ο έτος καταμετρώνται φυτάρια 5 ετών.

Αριθμός φυταρίων ανά υποεπιφάνεια

X

Η θνησιμότητα/ επιβίωση της φυσικής αναγέννησης υπολογίζεται από τις τιμές που καταγράφονται για αυτόν τον επαληθευτή.

Για την εγκατάσταση υποεπιφανειών, δείτε στην ενότητα 6.2 Εγκατάσταση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης.

7.1.4.3 Προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται με την καταμέτρηση φυταρίων το 1^ο φθινόπωρο μετά από κάθε αξιολογημένη περίοδο καρποφορίας (το έτος με καρποφορία θεωρείται το έτος 0) και έπειτα το 6^ο, 11^ο, 16^ο φθινόπωρο μετά την καρποφορία.

Πίνακας 3: Χρονοδιάγραμμα για την αξιολόγηση της φυσικής αναγέννησης (ΦΑ). Σε αυτό το υπόδειγμα, η πρώτη καρποφορία συμβαίνει το δεύτερο έτος της δεκαετίας όπου εφαρμόζεται η γενετική παρακολούθηση και η δεύτερη καρποφορία η οποία αξιολογείται, μετά από 5 έτη λ.χ. το 7^ο έτος παρακολούθησης. Είκοσι νέες υποεπιφάνειες εγκαθίστανται μετά από κάθε περίοδο καρποφορίας. Η παρακολούθηση της αφθονίας της φυσικής αναγέννησης σε κάθε ομάδα 20 υποεπιφανειών γίνεται κάθε 5 έτη. Η περίοδος καρποφορίας που αντιστοιχεί στην κάθε υποεπιφάνεια ΦΑ υπό αξιολόγηση και το χρονοδιάγραμμα των αξιολογήσεων χρωματίζονται με το ίδιο χρώμα. Μετά τον τελευταίο γύρο καταμέτρησης φυταρίων, η παρακολούθηση της ΦΑ στις καθορισμένες ομάδες σταματάει και οι υποεπιφάνειες απεγκαθίστανται. Τ – Τυπικό επίπεδο, Π– Προχωρημένο επίπεδο.

Έτος παρακολούθησης	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Περίοδος καρποφορίας		•					•								•						•		
Αξιολόγηση ΦΑ από την 1 ^η αξιολογημένη περίοδο καρποφορίας [έτη]	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	21
Εγκατάσταση υποεπιφανειών ΦΑ			ΤΠ																				
Καταμέτρηση αφθονίας ΦΑ			ΤΠ					ΤΠ					Π						Π				
Αξιολόγηση ΦΑ από τη 2 ^η αξιολογημένη περίοδο καρποφορίας							0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Εγκατάσταση υποεπιφανειών ΦΑ									ΤΠ														
Καταμέτρηση αφθονίας ΦΑ									ΤΠ				ΤΠ						Π				Π

Η θνησιμότητα/ επιβίωση της φυσικής αναγέννησης υπολογίζεται από τις τιμές που καταγράφονται για αυτόν τον επαληθευτή.

Για την εγκατάσταση υποεπιφανειών, δείτε στην ενότητα 6.2 Εγκατάσταση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης και για την καταμέτρηση το 7.1.4.2 Τυπικό επίπεδο.

7.2 Πρωτόκολλα για την καταγραφή επιπλέον πληροφοριών

7.2.1 Κατανομή κλάσεων στηθιαίας διαμέτρου κορμών

7.2.1.1 Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Η στηθιαία διάμετρος DBH καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα δέντρα κάθε δεκαετία. Η στηθιαία διάμετρος είναι η διάμετρος του κορμού σε ύψος 1,30 μ., δηλαδή περίπου το ύψος του στήθους σε έναν ενήλικα. Εάν το δέντρο έχει παραπάνω από έναν κορμό, προτείνεται να μετρηθούν όλοι και να καταγραφεί ο μέσος όρος τους (ωστόσο, καλύτερα να αποφεύγετε τα δέντρα με πολλαπλούς, μικρούς κορμούς). Σημειώστε επίσης ότι το δέντρο έχει πολλαπλούς κορμούς και όλους τους κορμούς που μετρήθηκαν. Εάν το δέντρο γέρνει, τότε μετράτε τη στηθιαία διάμετρο κάθετα στον κορμό. Η στηθιαία διάμετρος μετράται με δύο τρόπους:

- 1) Χρησιμοποιώντας ένα παχύμετρο παίρνετε δύο κάθετες διαμέτρους και υπολογίζετε το μέσο όρο.
- 2) Μετράτε την περίμετρο του δέντρου και υπολογίζετε τη διάμετρο με βάση αυτή τη μέτρηση (π.χ. διαιρώντας με το π~ 3,14).

Η στηθιαία διάμετρος αποτυπώνεται σε εκατοστά. Η ίδια μέθοδος εφαρμόζεται για κάθε ακόλουθη μέτρηση.

7.2.2 Κατανομή κλάσεων ύψους

7.2.2.1 Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Το ύψος καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα δέντρα κάθε δεκαετία. Το ύψος μετράται από το έδαφος στο υψηλότερο σημείο της κόμης, χρησιμοποιώντας κλισίμετρο ή υψόμετρο. Το ύψος αποτυπώνεται σε μέτρα και στρογγυλοποιείται στο πιο κοντινό ακέραιο ψηφίο. Εάν η κόμη είναι κατεστραμμένη, αυτό θα πρέπει να καταγραφεί ως παρατήρηση.

7.2.3 Έκπτυξη οφθαλμών

Η έκπτυξη των οφθαλμών καταγράφεται ως επιπλέον πληροφορία μόνο στο τυπικό και το προχωρημένο επίπεδο. Τα δεδομένα για αυτήν την επιπλέον πληροφορία συλλέγονται από το τέλος Μαρτίου (στην κεντρική Ευρώπη) και λίγο αργότερα στη νότια Ευρώπη, έως τη στιγμή που όλα τα δέντρα που παρακολουθούνται έχουν αναπτύξει πλήρως τα φύλλα τους.

7.2.3.1 Τυπικό επίπεδο

Στο τυπικό επίπεδο η έκπτυξη των οφθαλμών καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα άτομα ανά πενταετία.

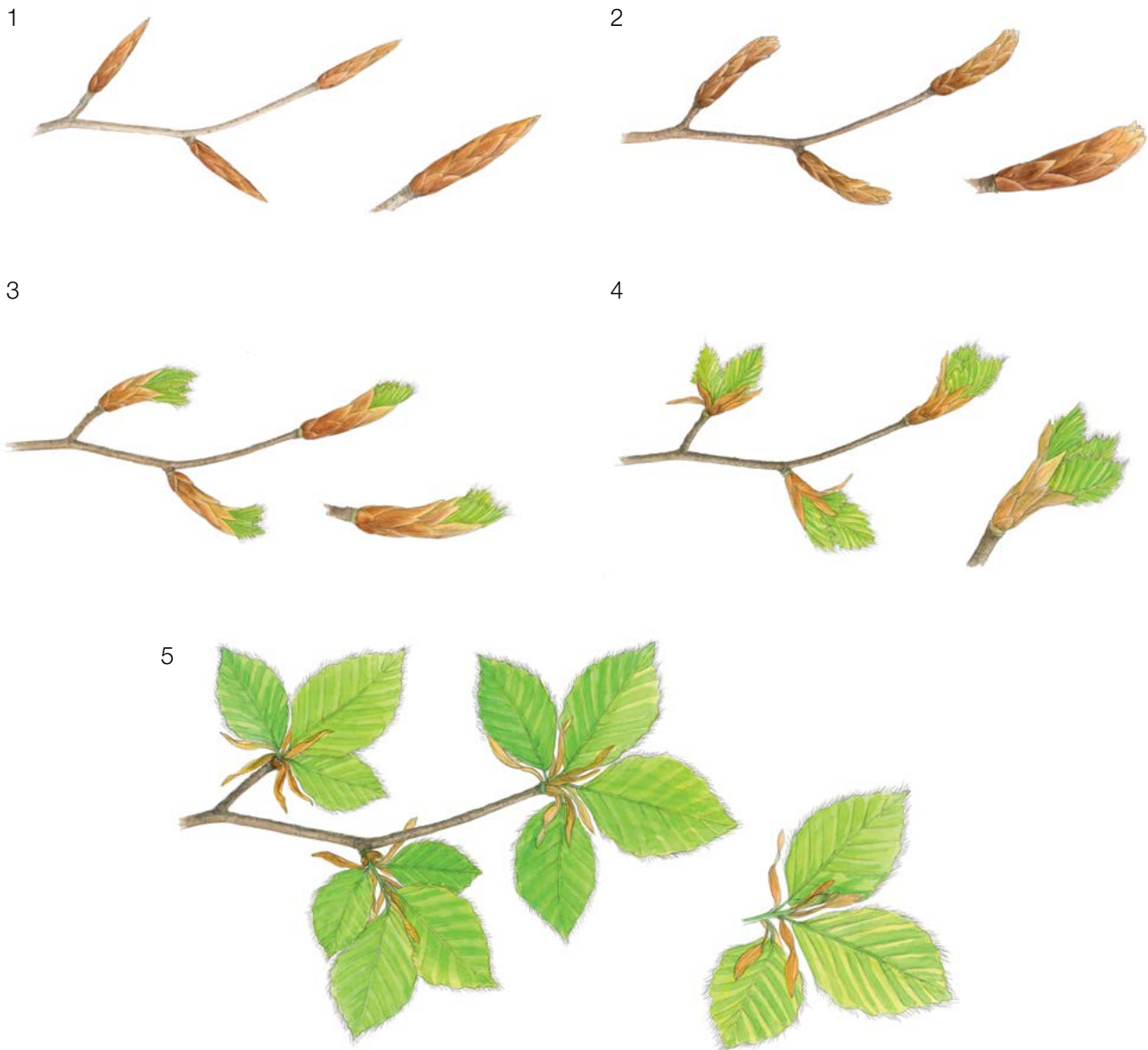
Αναζητούμε την έναρξη της έκπτυξης των φύλλων (στάδιο 3) και την ολοκλήρωση της διαδικασίας (στάδιο 5). Οι παρατηρήσεις ολοκληρώνονται όταν όλα τα δέντρα έχουν φτάσει στο στάδιο 5. Συνήθως απαιτούνται 6 επισκέψεις στο πεδίο. Για κάθε δέντρο δίνονται δύο εκτιμήσεις: το στάδιο έκπτυξης οφθαλμών και η αναλογία έκπτυξης οφθαλμών στην κόμη. Για τη γραφική απεικόνιση των σταδίων έκπτυξης οφθαλμών, ανατρέξτε στην Εικόνα 5.

Κωδικός	Στάδιο έκπτυξης οφθαλμών
1	Οφθαλμός σε χειμερινό λήθαργο
2	Οφθαλμός διογκωμένος και επιμήκης
3	Έναρξη έκπτυξης (διακρίνεται το πρώτο πράσινο των φύλλων)
4	Τυλιγμένα, πιληματώδη φύλλα εμφανίζονται, μεμονωμένα διπλωμένα και πιληματώδη φύλλα παρατηρούνται
5	Φύλλα πλήρως ελευθερωμένα, λεία και γυαλιστερά

Κωδικός	Αναλογία κόμης σε κάθε στάδιο έκπτυξης οφθαλμών (%)
1	> 0 – 33
2	> 33 – 66
3	> 66 – 99
4	100

7.2.3.2 Προχωρημένο επίπεδο

Σε αυτό το επίπεδο η έκπτυξη οφθαλμών αξιολογείται ετησίως, σε επίπεδο δέντρου και για τα 50 παρακολουθούμενα δέντρα με τον ίδιο τρόπο, όπως στο τυπικό επίπεδο. Για λεπτομέρειες μπορείτε να ανατρέξετε στην ενότητα 7.2.3.1 Τυπικό επίπεδο.



Εικόνα 5: Οδηγός για την περιγραφή της έκπτυξης οφθαλμών (έκπτυξη φυλλώματος) στο τυπικό και προχωρημένο στάδιο της επιπλέον πληροφορίας Έκπτυξη οφθαλμών

7.2.4 Φθινοπωρινός μαρρασμός

Ο φθινοπωρινός μαρρασμός περιγράφει τη διαδικασία ωρίμανσης και πτώσης των φύλλων. Η καταγραφή αυτής της επιπλέον πληροφορίας γίνεται μόνο στο τυπικό και το προχωρημένο επίπεδο.

7.2.4.1 Τυπικό επίπεδο

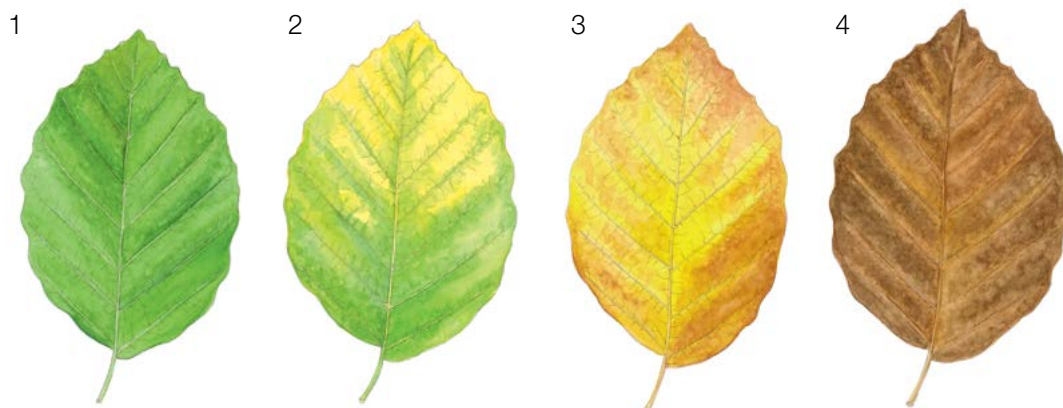
Στο τυπικό επίπεδο, ο φθινοπωρινός μαρρασμός καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου σε κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα άτομα, ανά πενταετία. Αναζητούμε το στάδιο 3, όπου τα φύλλα είναι κίτρινα και δεν φωτοσυνθέτουν πλέον. Οι παρατηρήσεις ολοκληρώνονται όταν όλα τα δέντρα έχουν φτάσει στο στάδιο 3. Συνήθως απαιτούνται δύο (2) επισκέψεις στο πεδίο. Για κάθε άτομο σημειώνονται δύο μετρήσεις: το στάδιο μαρρασμού και η αναλογία της κόμης σε μαρρασμό. Η γραφική απεικόνιση των σταδίων μαρρασμού, παρουσιάζεται στην Εικόνα 6.

Κωδικός Στάδιο μαρασμού	
1	Φύλλα πράσινα
2	Φύλλα πρασινωπά, προς το κίτρινο (ωχροπράσινα)
3	Φύλλα κίτρινα προς το καφετί (καφεκίτρινα)
4	Φύλλα καφέ/ απόπτωση

Κωδικός	Αναλογία κόμης σε κάθε στάδιο μαρασμού (%)
1	> 0 – 33
2	> 33 – 66
3	> 66 – 99
4	100

7.2.4.2 Προχωρημένο στάδιο

Ο φθινοπωρινός μαρασμός καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου, ετησίως, για κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα δέντρα, με τον ίδιο τρόπο όπως στο τυπικό επίπεδο. Για λεπτομέρειες μπορείτε να ανατρέξετε στην ενότητα 7.2.4.1 Τυπικό επίπεδο.



Εικόνα 6: Φωτογραφικός οδηγός για την περιγραφή της επιπλέον πληροφορίας Φθινοπωρινός μαρασμός στο τυπικό και προχωρημένο στάδιο

7.2.5 Συγχρονισμός ανθοφορίας

7.2.5.1 Προχωρημένο επίπεδο

Ο συγχρονισμός ανθοφορίας καταγράφεται μόνο στο προχωρημένο επίπεδο και βασίζεται σε παρατηρήσεις για τον επαληθευτή «ανθοφορία». Χρησιμοποιείται για να προσδιορίσει αν ο χρόνος ανθοφορίας θηλυκών και αρσενικών συμπίπτει εντός της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης.

Για την εγκατάσταση επιφάνειας χρησιμοποιήστε το Έντυπο Υπόδειγμα «Περιγραφή επιφάνειας ΓΠΔ»

Για την καταγραφή των επαληθευτών χρησιμοποιήστε το «Έντυπο Υπόδειγμα για την καταγραφή επαληθευτών στο πεδίο, εντός της επιφάνειας ΓΠΔ»

Για τις επιπλέον πληροφορίες χρησιμοποιήστε τη «Έντυπο Υπόδειγμα για την καταγραφή επιπλέον πληροφοριών στο πεδίο, εντός της επιφάνειας ΓΠΔ»

8 Βιβλιογραφία

1. Houston Durrant T, de Rigo D, Caudullo G (2016) *Fagus sylvatica* and other beeches in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: San-Miguel-Ayanz J, de Rigo D, Caudullo G, Houston Durrant T, Mauri A (Eds.) European Atlas of Forest Tree Species. Publ. Off. EU, Luxembourg, pp 94-97. DOI: 10.2788/4251
2. von Wuehlich G (2008) EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for European beech (*Fagus sylvatica*). Bioversity International, Rome
3. Kraigher H, Westergren M (2011) Gozdno semenarstvo in drevesničarstvo. In: Gospodarjenje z gozdom za lastnike gozdov. Kmečki glas, Ljubljana
4. Johnson O & More D (2010) Collins Tree Guide. Slovenian edition, Narava d.o.o., Kranj
5. Ogris N (2020) Varstvo gozdov Slovenije – portal. https://www.zdravgozd.si/meni_index.aspx. Accessed 15 September 2020

Για την επιστημονική ονομασία των ειδών που εξετάζονται ή αναφέρονται στο παρόν έγγραφο, ακολουθείται η τρέχουσα (Δεκέμβριος 2020), κοινώς αποδεκτή ονοματολογία όπως αναφέρεται στις παρακάτω πηγές:

- a. CABI (2020) Invasive Species Compendium. CAB International, Wallingford, UK. www.cabi.org/isc. Accessed 15 December 2020
- b. EPPO (2020) EPPO Global Database (available online). <https://gd.eppo.int>. Accessed 15 December 2020
- c. GBIF (2020) Global Biodiversity Information Facility. <https://www.gbif.org> Accessed 15 December 2020
- d. IPNI (2020) International Plant Names Index. The Royal Botanic Gardens, Kew, Harvard University Herbaria & Libraries & Australian National Botanic Gardens. <http://www.ipni.org>, Accessed 10 December 2020
- e. National Center for Biotechnology Information (NCBI) (1998) National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information, Bethesda (MD). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Accessed 15 December 2020
- f. Stevens PF (2001) Angiosperm Phylogeny Website, Version 14. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Accessed 15 December 2020
- g. The Plant List (2013) Version 1.1. <http://www.theplantlist.org/>. Accessed 12 December 2020
- h. Tropicos.org (2020) Missouri Botanical Garden. <http://www.tropicos.org>. Accessed 15 December 2020
- i. WFO (2020) World Flora Online. <http://www.worldfloraonline.org>. Accessed 15 Dec 2020

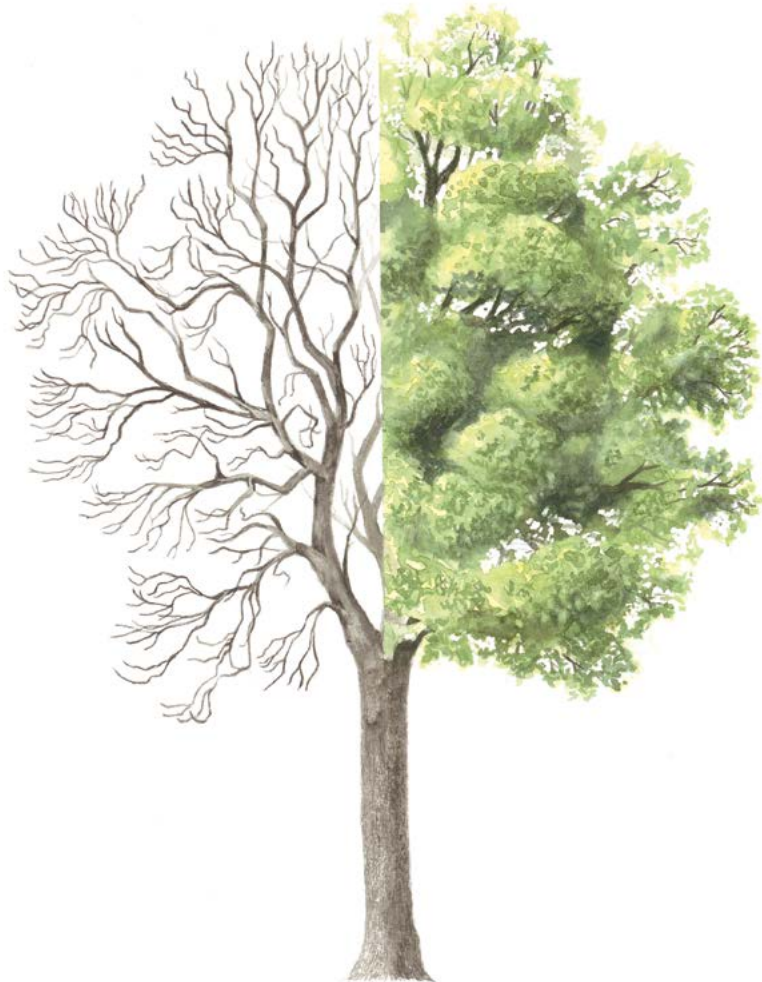
9.2.3 Φράξου του ψηλού (*Fraxinus excelsior* L.)

Marjana WESTERGREN¹, Marko BAJC¹, Rok DAMJANIĆ¹, Barbara FUSSE², Dalibor BALLIAN^{1,3}, Andrej BREZNIKAR⁴, Darius KAVALIUSKAS², Peter ŽELEZNIK¹, Hojka KRAIGHER¹

Απόδοση στα ελληνικά

Μαρίτα ΠΑΠΑΓΙΑΝΝΗ, Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ, Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ

Εικονογράφηση Metka KLADNIK



Βιβλιογραφική παράθεση: Westergren κ.α. (2020) Κατευθυντήριες Οδηγίες για τη Γενετική Παρακολούθηση του Φράξου του ψηλού (*Fraxinus excelsior* L.). Στο: Bajc κ. ά. (Επιμ.) Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών. Ινστιτούτο Δασών Σλοβενίας: Silva Slovenica Publishing Centre, Λιουμπλιάνα, σσ. 217-236. <http://dx.doi.org/10.20315/SFS.167>

Φορείς:

1. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας (GIS), Σλοβενία
2. Βαυαρικό Γραφείο Δασικής Γενετικής (AWG), Γερμανία
3. Πανεπιστήμιο του Σαράγεβο, Τμήμα Δασολογίας, Βοσνία Ερζεγοβίνη
4. Δασική Υπηρεσία Σλοβενίας (ZGS), Σλοβενία

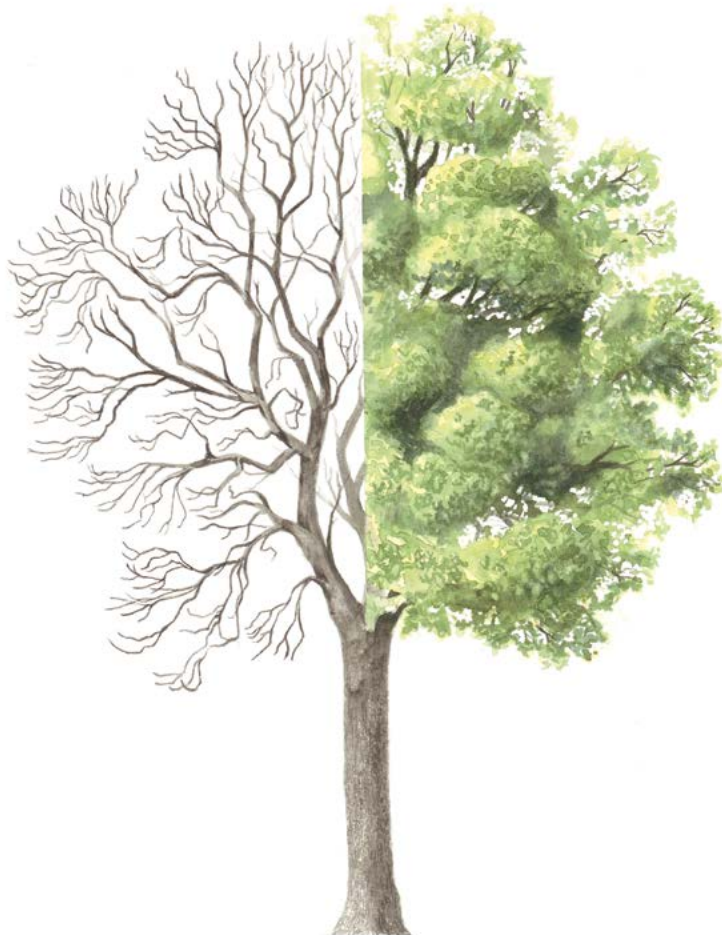
1 Περίληψη

Ο φράξος ο ψηλός ή φράξινος (*Fraxinus excelsior*), είναι ένα πολύγαμο είδος (εμφανίζει μονογενή αλλά και διγενή άνθη), φυλλοβόλο, με διάσπαρτη εξάπλωση σε όλη την Ευρώπη εκτός από πολύ ξηρές Μεσογειακές θέσεις. Ο φράξος μπορεί να σχηματίσει αμιγείς συστάδες αλλά συνήθως απαντάται σε μικρές ομάδες, εντός μικτών συστάδων όπως και άλλα είδη με διάσπαρτη κατανομή. Κοντινά συγγενικό είδος με τον *Fraxinus angustifolia* Vahl με τον οποίο υβριδίζει. Είδος με υψηλή οικολογική αξία, το ξύλο του οποίου χρησιμοποιείται ευρέως στην βιομηχανία. Απειλείται σημαντικά από την ασθένεια που προκαλεί ο μύκητας *Hymenoscyphus fraxineus* Baral et al. και εξ αιτίας αυτού του λόγου θεωρείται είδος προτεραιότητας για γενετική παρακολούθηση.

Οι παρακάτω κατευθυντήριες οδηγίες παρουσιάζουν μια σύντομη περιγραφή του φράξου, του τρόπου αναπαραγωγής, του περιβάλλοντος που διαβιεί και των απειλών που υφίσταται. Παρέχονται κατευθυντήριες γραμμές για την εγκατάσταση επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης και για την καταγραφή όλων των επαληθευτών στο πεδίο.

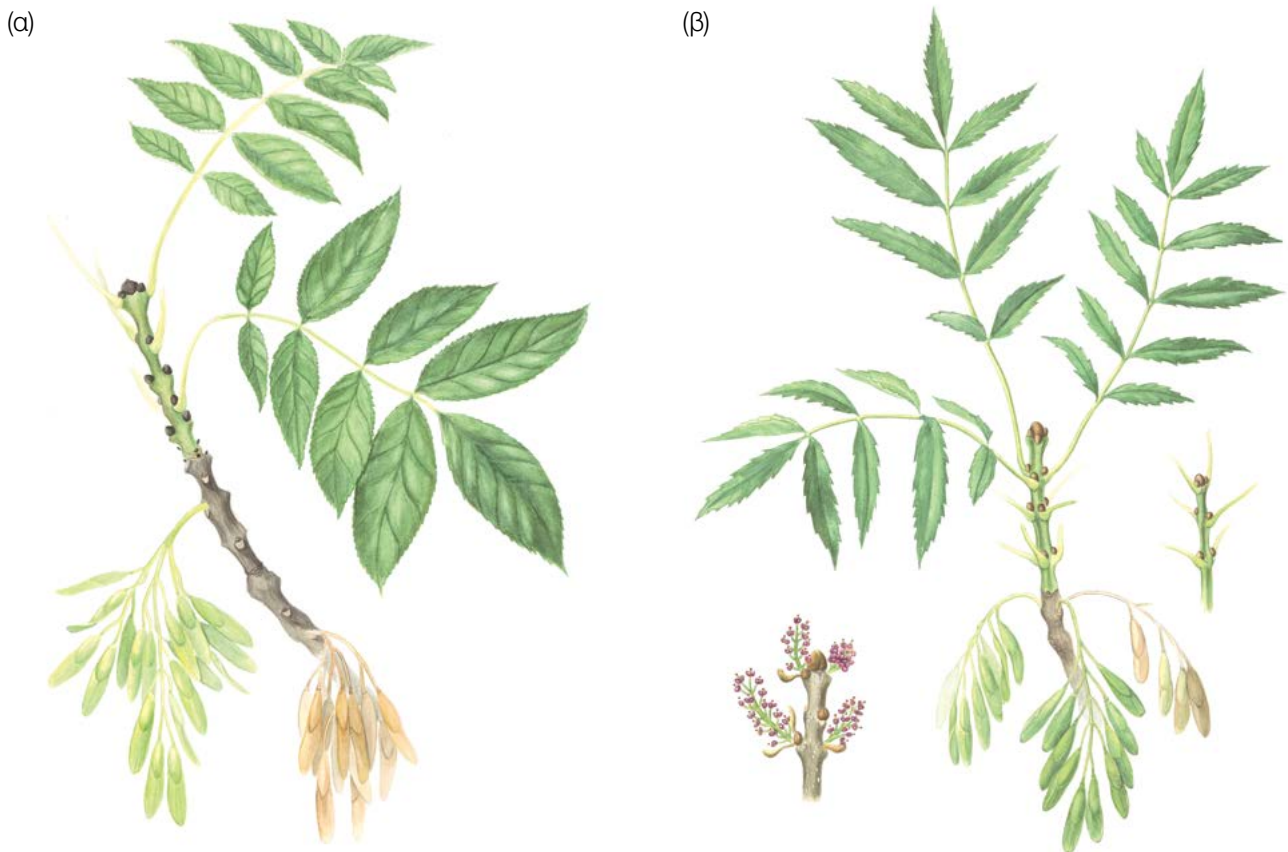
2 Περιγραφή είδους

Ο φράξος είναι φυλλοβόλο δέντρο που φτάνει σε ύψος τα 40 μ. σε ηλικία 90-120 έτη [1]. Η κόμη είναι ακανόνιστη, με μεγάλο μέγεθος, επιμήκη κλαδιά που εκτείνονται μέσα στη συστάδα [1]. Ο φλοιός έχει χρώμα ωχρό καφετί έως γκρι, με σχισμές που δημιουργούνται όσο αυξάνεται η ηλικία του δέντρου [2]. Τον χειμώνα είναι εύκολα αναγνωρίσιμο από τα λεία κλαδιά και τους χαρακτηριστικούς, χνουδείς, μαύρους οφθαλμούς που φύονται σε ζεύγη, απέναντι μεταξύ τους. Τα φύλλα είναι σύνθετα, περιττόληκτα, αποτελούνται από 7-13 ωοειδή, οξύληκτα φυλλάρια [2, 3] (Εικόνα 2α). Τα φύλλα μπορούν να φτάσουν σε μέγεθος τα 35 εκ. [2] και είναι ανοιχτό πράσινο στην πάνω πλευρά τους και γκριζοπράσινο στην κάτω.



Εικόνα 1: Φαινολογία του *F. excelsior*

Ο *F. excelsior* είναι στενά συγγενικό είδος με το *F. angustifolia*. Η ταξιανθία και οι καρποί είναι το πλέον αξιόπιστο γνώρισμα που διαχωρίζει τα δύο είδη (Εικόνα 2). Συγκεκριμένα, ο *F. excelsior* παρουσιάζει σύνθετη ταξιανθία (φόβη), ενώ η ταξιανθία του *F. angustifolia* είναι απλή (βότρυς) [3]. Σε κάποιες περιπτώσεις η ταυτοποίηση ατόμων *F. excelsior* μπορεί να είναι δύσκολη, ειδικά σε άτομα που εμφανίζουν διγενή άνθη στο κυρίως στέλεχος της ταξιανθίας και αρσενικά στις δευτερεύουσες διακλαδώσεις. Καθώς τα στελέχη με τα αρσενικά άνθη πέφτουν νωρίς, η ταξιανθία εμφανίζεται απλή, όπως του *F. angustifolia* [3]. Επιπλέον, έχουν καταγραφεί υβρίδια σε περιοχές με ταυτόχρονη εξάπλωση των δύο ειδών [2, 3].



Εικόνα 2: Μορφολογικά γνωρίσματα που διακρίνουν τον *F. excelsior* (α) από τον *F. angustifolia* (β).

3 Αναπαραγωγή

Ο φράξος είναι πολύγαμο είδος. Κάθε δέντρο μπορεί να φέρει αποκλειστικά αρσενικές, θηλυκές ή και διγενείς ταξιανθίες, ενώ στο ίδιο δέντρο μπορεί να υπάρχουν παράλληλα διγενείς, θηλυκές και αρσενικές ταξιανθίες [1, 2, 3]. Είναι αυτεπικονιαζόμενο είδος [3]. Ωστόσο τα σπέρματα που προκύπτουν με αυτόν τον τρόπο συνήθως δεν επιβιώνουν λόγω του ομομεικτικού εκφυλισμού και έτσι το είδος μπορεί να χαρακτηριστεί ως λειτουργικά δίοικο [3]. Οι αρσενικές και οι θηλυκές ταξιανθίες είναι χρώματος μοβ και εμφανίζονται τον Μάρτιο- Απρίλιο στην κεντρική Ευρώπη και ενδεχομένως λίγο νωρίτερα στη νότια Ευρώπη, σε επάκριες φόβες στα κλαδιά, πριν την έκπτυξη των φύλλων την άνοιξη. Η έκπτυξη των φύλλων συμβαίνει μετά την ολοκλήρωση της ανθοφορίας από βλαστούς που αναδύονται από τους οφθαλμούς των κλαδιών. Η έναρξη της έκπτυξης των φύλλων μπορεί να διαφέρει από πληθυσμό σε πληθυσμό και από χρονιά σε χρονιά. Η ανθοφορία και η έκπτυξη των φύλλων συμβαίνουν νωρίτερα όταν προηγείται θερμός χειμώνας [3].

Μόλις ολοκληρώνεται η επικονίαση των θηλυκών ανθέων από τον άνεμο, στο τέλος καλοκαιριού με αρχές φθινοπώρου, αναπτύσσονται οι καρποί σε σαμάρια. Οι καρποί πέφτουν στο έδαφος το χειμώνα και νωρίς την άνοιξη και η διασπορά τους γίνεται κυρίως με τον άνεμο [1, 2, 3]. Η ανθοφορία ξεκινάει γύρω στα 15-20 έτη σε άτομα

που φύονται μεμονωμένα και περίπου στα 30 έτη για άτομα μέσα σε συστάδες, με ακανόνιστα μεσοδιαστήματα [1]. Οι καρποί βρίσκονται συνήθως σε λήθαργο για δύο χειμώνες προτού ξεκινήσει η φύτευσή τους, αλλά μπορούν να παραμείνουν σε λήθαργο έως και έξι χρόνια σε ξηρές θέσεις ή σε μεγάλα υψόμετρα [2, 3].

Ο φράξος εμφανίζει ενδιάμεσα γνωρίσματα πρόσκοπου είδους και είδους τελικής φυτοκοινωνίας κλίμακας. Η διασπορά και η φυσική αναγέννηση του είδους είναι ικανοποιητικές, αλλά είναι ανταγωνιστικό μόνο όταν πληρούνται συγκεκριμένες οικολογικές απαιτήσεις [2, 3]. Η βλαστική αναπαραγωγή είναι ισχυρή μόνο σε πρεμνοφυή διαχείριση [3].

3.1 Προσδιορισμός φύλου

Αρσενικά χαρακτηρίζονται τα δέντρα στα οποία οι περισσότερες ταξιανθίες είναι αρσενικές. Σε αυτή την κατηγορία εντάσσονται άτομα τα οποία είναι αποκλειστικά αρσενικά (φέρουν μόνο αρσενικές ταξιανθίες) και άτομα τα οποία φέρουν μια μίξη αρσενικών και διγενών ταξιανθιών. Τα τελευταία παράγουν μικρό αριθμό σπερμάτων [3].

Θηλυκά χαρακτηρίζονται τα δέντρα που φέρουν κυρίως θηλυκές ταξιανθίες και παράγουν σπέρματα [3].

Ερμαφρόδιτα χαρακτηρίζονται τα δέντρα που φέρουν κυρίως διγενείς ταξιανθίες (αρρενοθήλα άνθη). Παράγουν κυρίως σπέρματα αλλά επικονιάζουν και άλλα άνθη, καθώς παράγουν γύρη. Τα ερμαφρόδιτα δέντρα παρουσιάζουν διακύμανση στο φύλο τους και μπορούν να χαρακτηριστούν ως επί το πλείστον θηλυκά ή ως επί το πλείστον αρσενικά σε έτη μαζικής ανθοφορίας. [3].

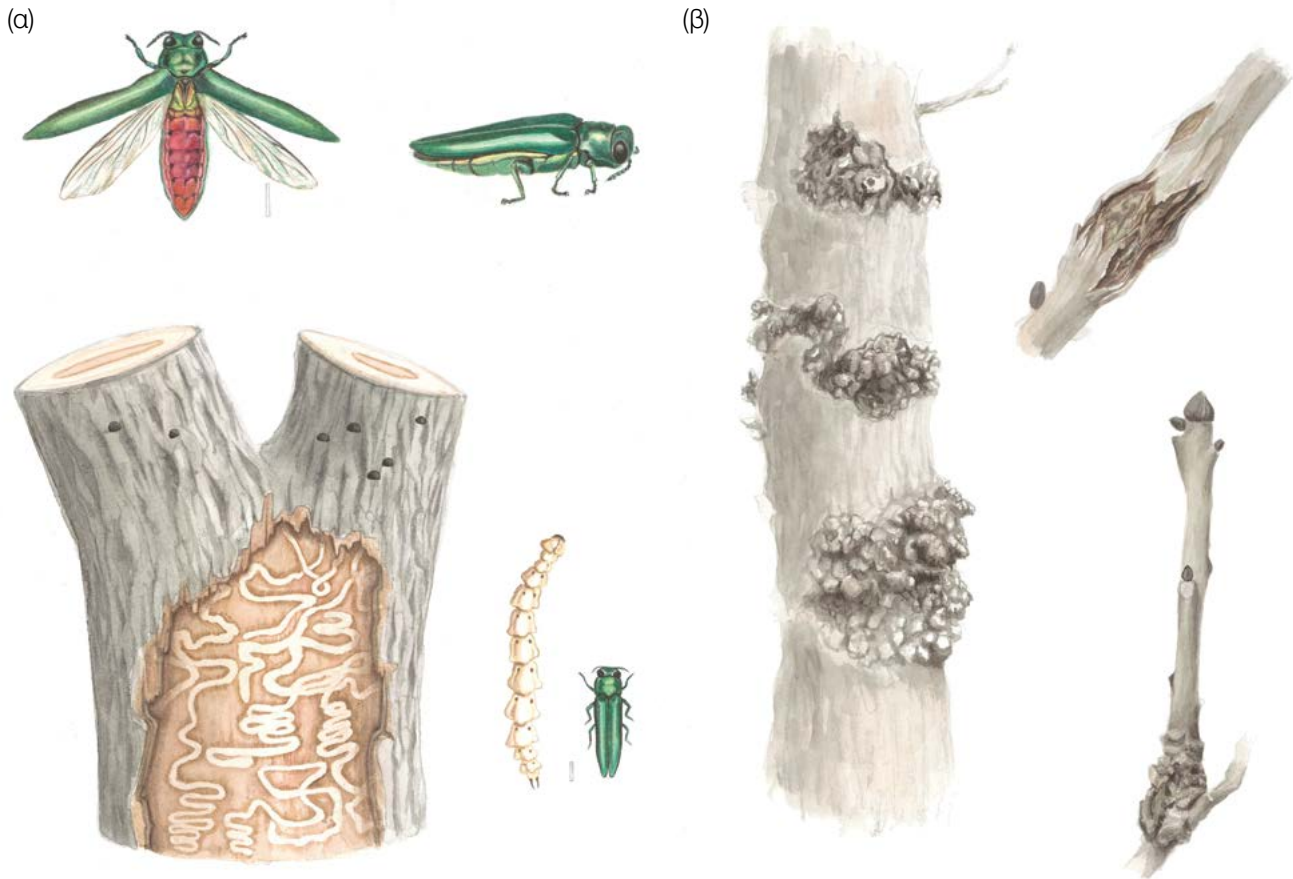
4 Περιβάλλον- Οικολογία

Ο φράξος έχει εξάπλωση σε όλη την Ευρώπη πέρα από κάποιες ξηρές, μεσογειακές θέσεις στις οποίες δεν αναπτύσσεται καθώς δεν αντέχει την παρατεταμένη, θερινή ξηρασία, ενώ απουσιάζει επίσης και από τις βορειότερες, αρκτικές περιοχές λόγω της ευαισθησίας που παρουσιάζουν τα αρτίφυτα στους όψιμους παγετούς την άνοιξη [1, 2, 3]. Αναπτύσσεται άριστα σε πλούσια εδάφη, με pH μεγαλύτερο του 5.5 και αυτή η αλκαλικότητα του εδάφους είναι που καθορίζει και την εξάπλωσή του σε τοπική κλίμακα. Ανέχεται την περιοδική υγρασία στο έδαφος αλλά είναι ευαίσθητο σε παρατεταμένα πλημμυρισμένα εδάφη [2]. Η εξάπλωσή του είναι διασκορπισμένη και σπάνια σχηματίζει αμιγείς συστάδες. Απαντάται κυρίως σε μικρές ομάδες εντός μικτών συστάδων [2].

5 Απειλές

Η μεγαλύτερη απειλή που αντιμετωπίζει ο φράξος είναι ο μύκητας *Hymenoscyphus fraxineus* (T. Kowalski) Baral, Queloz & Hosoya (παλιότερα γνωστός ως *Chalara fraxinea*). Η ασθένεια που προκαλεί παρατηρήθηκε πρώτη φορά στην Πολωνία το 1992 και πλέον έχει εξαπλωθεί σε όλη την Ευρώπη με περίπου το 80-90% των ατόμων *Fraxinus* να έχουν προσβληθεί σε πολλές χώρες. Τα συμπτώματα περιλαμβάνουν έντονη φυλλόπτωση, ξήρανση, νέκρωση και αποχρωματισμό του ξύλου. Όλα τα ηλικιακά στάδια του φράξου είναι ευάλωτα στην ασθένεια (ενήλικα, φυτάρια και αρτίφυτα). Η ταχύτητα εξάπλωσης της ασθένειας έχει υπολογιστεί στα 20-30 χλμ./έτος. Πέρα από τα σπόρια του μύκητα, η ασθένεια μπορεί να εξαπλωθεί και μέσω φυτικού ιστού. Στις υπόλοιπες απειλές που αντιμετωπίζει ο φράξος περιλαμβάνονται έλκη τα οποία προκαλούνται από τα *Neonectria ditissima* (Tul. & C. Tul.) Samuels & Rossman και *Pseudomonas savastanoi* (Janse) Gardan, et al., *Phyllactinia fraxini* (DC) Fuss, *Armillaria gallica* Marxm. & Romagn και άλλα [2, 4] (Εικόνα 3β).

Μία ακόμη πιθανώς καταστροφική απειλή για τον φράξο αποτελεί το σμαραγδί σκαθάρι του φράξου (*Agrilus planipennis* Fairmaire), το οποίο προέρχεται από την Ασία και την ανατολική Ρωσία (Εικόνα 3). Τα ενήλικα έντομα τρέφονται με τα φύλλα του φράξου, ενώ οι προνύμφες καταστρέφουν το φλοιώμα του δέντρου με αποτέλεσμα τη νέκρωση του. Το σκαθάρι έχει καταγραφεί στην δυτική Ρωσία και τη Σουηδία το 2007 και υπάρχει μεγάλη ανησυχία για την περαιτέρω εξάπλωσή του σε όλη την Ευρώπη, κάτι που θα επιφέρει τη νέκρωση του φράξου, όπως συνέβη και στις Η.Π.Α. [2, 4].



Εικόνα 3: Το σμαραγδί σκαθάρι του φράξου, μία ανερχόμενη απειλή για τον φράξο (α) και έλκος του φράξου (β).

6 Ίδρυση και συντήρηση επιφανειών

Η κάθε επιφάνεια γενετικής παρακολούθησης αποτελείται από 50 ώριμα άτομα, με απόσταση μεταξύ δύο δέντρων τουλάχιστον 30 μέτρα. Κάθε δέντρο που έχει περάσει από το στάδιο της ανθοφορίας θεωρείται ώριμο άτομο. Αν η επιφάνεια ιδρύεται εκτός της περιόδου ανθοφορίας, ως μέτρα εκτίμησης της ανθοφορίας μπορούν να χρησιμοποιηθούν η στηθαία διάμετρος και οι κλάσεις διαμέτρου του κορμού. Κατά την ίδρυση της επιφάνειας γίνεται σήμανση των δέντρων και καταγράφονται οι συντεταγμένες τους, ενώ συγχρόνως μπορεί να μετρηθεί η στηθαία διάμετρος και να ληφθούν δείγματα για απομόνωση γενετικού υλικού. Για την ομαλή διεξαγωγή των εργασιών πεδίου, είναι σημαντική η υποστήριξη από τους τοπικούς δασολόγους. Συγχρόνως μπορεί να μετρηθεί η στηθαία διάμετρος και να ληφθούν δείγματα για απομόνωση γενετικού υλικού.

Καθώς ο φράξος είναι είδος που συνήθως εμφανίζει διασκορπισμένη εξάπλωση¹, απαιτείται μια προκαταρκτική μελέτη στο πεδίο, ώστε το μέγεθος και το σχήμα της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης να προσαρμοστεί ανάλογα προκειμένου να περιλαμβάνει 50 ώριμα δέντρα.

Είκοσι πέντε από αυτά πρέπει λειτουργικά να χαρακτηρίζονται θηλυκά και είκοσι πέντε αρσενικά. Τα ερμαφρόδιτα άτομα συνήθως χαρακτηρίζονται ως θηλυκά καθώς παράγουν ικανές ποσότητες σπερμάτων. Ωστόσο, καθώς αυτά τα άτομα μπορεί να παρουσιάσουν διαφοροποίηση στην έκφραση του φύλου τους, δηλαδή η πλειοψηφία των ανθέων τους να είναι θηλυκά ή αρσενικά κατά τα έτη μαζικής ανθοφορίας, το ποσοστό λειτουργικά θηλυκών ή αρσενικών ατόμων παρουσιάζει μία διαφοροποίηση ανά τα έτη.

¹ Ο φράξος έχει διασκορπισμένη κατανομή στο μεγαλύτερο μέρος της φυσικής εξάπλωσής του. Σε θέσεις όπου σχηματίζει συστάδες η επιφάνεια ΓΠΑ ιδρύεται σύμφωνα με τις οδηγίες για τα είδη που σχηματίζουν συστάδες, όπως η δασική οξιά (*Fagus sylvatica* L.).

Απαραίτητος εξοπλισμός:

- Αποστασιόμετρο (συστήνονται επίσης ειδικά κιάλια για μέτρηση απόστασης)
- Πυξίδα
- Πινέλο και μπογιά ή μπογιά σε σπρέι για τη σήμανση των δέντρων
- Παχύμετρο για τον υπολογισμό της στηθιαίας διαμέτρου
- Συσσκευή GPS υψηλής ακριβείας με δυνατότητα αποθήκευσης συντεταγμένων των δέντρων

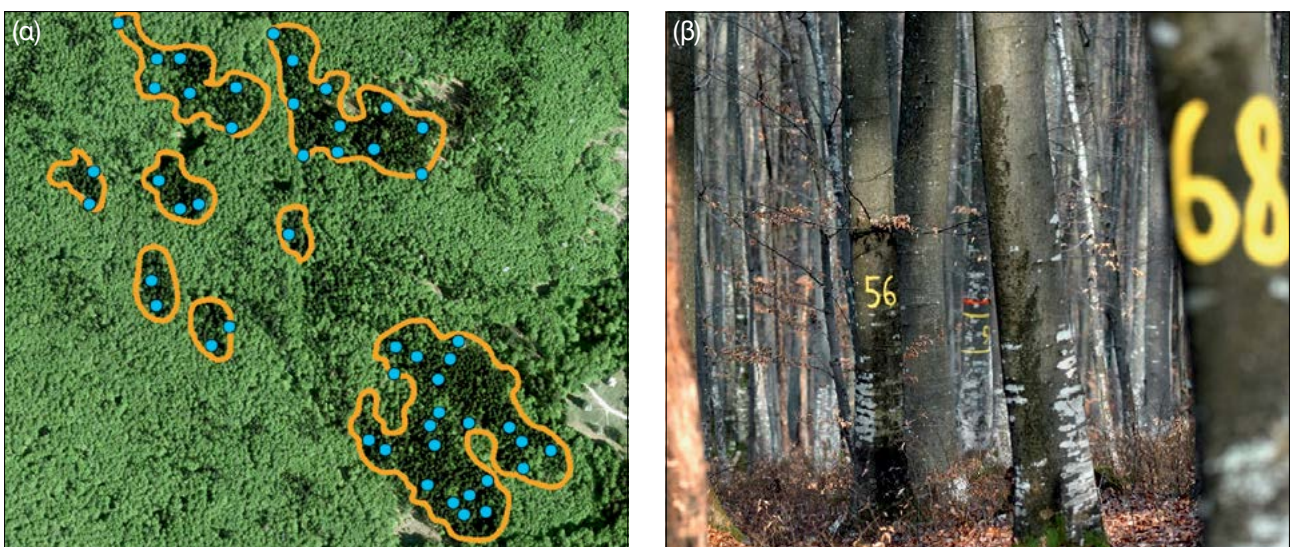
6.1 Ίδρυση επιφανειών

6.1.1 Επιλογή επιφάνειας

Για την εγκατάσταση μιας επιφάνειας παρακολούθησης του *F. excelsior*, οι προκαταρκτικές εργασίες θα πρέπει ιδανικά να πραγματοποιηθούν την άνοιξη, όσο τα δέντρα βρίσκονται σε ανθοφορία. Σε αυτό το σημείο, όλα τα άτομα φράξου της συστάδας θα πρέπει να χαρτογραφηθούν χρησιμοποιώντας συσκευή GPS, ενώ επιπλέον θα πρέπει να καταγραφεί το φύλο τους. Κατά τη διάρκεια του θέρους, όταν τα δέντρα βρίσκονται σε καρποφορία, θα πρέπει να καταγραφεί το λειτουργικό φύλο των ερμαφρόδιτων δέντρων.

Μετά την καταγραφή του φύλου (και του λειτουργικού φύλου στην περίπτωση των ερμαφρόδιτων δέντρων) οι συντεταγμένες των δέντρων που καταγράφηκαν με GPS θα πρέπει να αποτυπωθούν ως σημεία σε λογισμικό GIS. Πενήντα σημεία που αντιπροσωπεύουν διαφορετικά δέντρα και απέχουν μεταξύ τους τουλάχιστον 30μ., επιλέγονται τυχαία, διατηρώντας την αναλογία 50% λειτουργικά αρσενικών ατόμων και 50% λειτουργικά θηλυκών ατόμων, εντός των οποίων περιλαμβάνονται αρσενικά, θηλυκά και ερμαφρόδιτα άτομα. Για να αποφευχθούν σφάλματα μέτρησης με το GPS, συστήνεται να επιλέγονται άτομα με απόσταση μεταξύ τους τουλάχιστον 35μ. (προσαρμογή της ελάχιστης απόστασης στα 35μ.). Κατά την διάρκεια της εγκατάστασης της επιφάνειας, τα προεπιλεγμένα άτομα εντοπίζονται και τοποθετείται σε αυτά κατάλληλη σήμανση (Εικόνα 4 α)

Εάν μετά το πέρας δύο επισκέψεων στο πεδίο, δεν καταστεί δυνατός ο προσδιορισμός του φύλου των δέντρων, τότε η εγκατάσταση της επιφάνειας θα πρέπει να γίνει κατά τη διάρκεια του θέρους, όπου θα καταγραφούν τα άτομα και στη συνέχεια θα επιλεγθούν τυχαία 25 λειτουργικά αρσενικά άτομα (που δεν καρποφορούν) και 25 λειτουργικά θηλυκά άτομα (που καρποφορούν).



Εικόνα 4: Απεικόνιση θέσεων τυχαία επιλεγμένων δέντρων που αναπτύσσονται σε ομάδες (α). Κάθε δέντρο που επιλέγεται για γενετική παρακολούθηση σημαίνεται με τον αντίστοιχο αριθμό (η εικόνα δείχνει την επιφάνεια ΓΠΔ *Fagus sylvatica* στη Σλοβενία). Για να διακρίνονται καλύτερα τα επιλεγμένα άτομα από όλες τις πλευρές, μία λωρίδα μπορεί να σχεδιαστεί περιμετρικά του κορμού.

6.1.2 Ίδρυση επιφάνειας στο πεδίο

Χρησιμοποιώντας το GPS, εντοπίζονται στη συστάδα τα άτομα που επιλέχθηκαν τυχαία στο γραφείο και σημαίνονται. Ελέγχεται ξανά αν τηρείται η προϋπόθεση της ελάχιστης απόστασης των 30μ. μεταξύ των ατόμων που επιλέχθηκαν.

6.1.3 Σήμανση των δέντρων

Κάθε επιλεγμένο δέντρο αριθμείται με έναν χαρακτηριστικό αριθμό, από το 1 ως το 50 (Εικόνα 4β) και συμπληρωματικά με μία γραμμή περιμετρικά του κορμού ώστε να είναι ορατό από κάθε πλευρά.

6.2 Ίδρυση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης

Η ίδρυση υποεπιφανειών με φυσική αναγέννηση (ΦΑ) πραγματοποιείται κατά τη διάρκεια της βλαστητικής περιόδου, δύο ή τρία χρόνια μετά από μία καλή χρονιά πληροκαρπίας. Το χρονικό διάστημα που θα γίνει αυτό εξαρτάται από τη διάρκεια του ληθάργου των σπερμάτων σε κάθε πληθυσμό.

Η φυσική αναγέννηση που προκύπτει από την πιο πρόσφατη περίοδο πληροκαρπίας, αξιολογείται στο πεδίο και καταγράφονται οι θέσεις στις οποίες βρίσκεται (συντεταγμένες με GPS, αριθμός κοντινότερου δέντρου στο σημείο όπου παρατηρείται ΦΑ). Από όλες τις καταγεγραμμένες θέσεις με ΦΑ, επιλέγονται τυχαία 20 για την ίδρυση των υποεπιφανειών. Εάν έχουν καταγραφεί 20 ή και λιγότερες θέσεις φυσικής αναγέννησης, τότε συμπεριλαμβάνονται όλες.

Εντός κάθε κέντρου φυσικής αναγέννησης ορίζεται και οριοθετείται με μεταλλικές ράβδους μία επιφάνεια 1τμ. Οι μεταλλικές ράβδοι τοποθετούνται στο έδαφος σε κάθε γωνία της υποεπιφάνειας σε όσο το δυνατόν μεγαλύτερο βάθος ώστε να αποτραπεί η αφαίρεσή τους από ζώα. Οι άκρες των ράβδων βάζονται με κάποιο εύκολο διακριτό χρώμα.

6.3 Συντήρηση επιφάνειας

6.3.1 Γενική συντήρηση

Οι σημάνσεις και οι αριθμήσεις των δέντρων πρέπει ελέγχονται περιοδικά (κάθε 2 χρόνια) και να επιδιορθώνονται όπου είναι απαραίτητο.

6.3.2 Αντικατάσταση δέντρων

Εάν κάποιο επιλεγμένο για γενετική παρακολούθηση άτομο νεκρωθεί ή αφαιρεθεί στα πλαίσια της διαχείρισης του δάσους, τότε πρέπει να αντικατασταθεί. Επιλέγεται το κοντινότερο κατάλληλο δέντρο, λαμβάνοντας υπόψη ότι πρέπει να πληρείται η συνθήκη απόστασης 30μ από το κοντινότερο παρακολουθούμενο δέντρο. Διαφορετικά, επιλέγεται κάποιο άλλο άτομο από την περιφέρεια του εξωτερικού κύκλου στα όρια της επιφάνειας παρακολούθησης. Το δέντρο αντικατάστασης λαμβάνει τον επόμενο διαθέσιμο αριθμό μετά το 50 π.χ. 51, 52, 53 κ.ο.κ. ώστε να διαφοροποιείται από τα αρχικά επιλεγμένα 50 άτομα.

Σε περίπτωση καταστροφής της κόμης του δέντρου π.χ. καταστροφή από άνεμο, χιόνι ή παγετό χωρίς όμως να επηρεάζεται η ικανότητα καρποφορίας του, το δέντρο συνεχίζει να παρακολουθείται. Εάν η καταστροφή είναι πολύ έντονη και εκτεταμένη σε σημείο που επηρεάζει την καρποφορία, το επιλεγμένο δέντρο πρέπει να αντικατασταθεί. Εάν παρατηρηθούν νεκρώσεις στη συστάδα λόγω του μύκητα *Hymenoscyphus fraxineus*, η παρακολούθηση των συγκεκριμένων ατόμων συνεχίζεται μέχρι να φτάσουν στο στάδιο 6, όπως αναφέρεται στις επιπλέον πληροφορίες σχετικά με την ξήρανση της κόμης. Στη συνέχεια αντικαθίστανται και αυτά.

7 Καταγραφή των επαληθευτών και των επιπλέον πληροφοριών

Οι επαληθευτές και οι επιπλέον πληροφορίες καταγράφονται συστηματικά στην επιφάνεια γενετικής παρακολούθησης. Οι επαληθευτές χρησιμοποιούνται για την παρακολούθηση των γενετικών δεικτών του πληθυσμού καθώς και για την παρακολούθηση της προσαρμογής του σε περιβαλλοντικές αλλαγές ή/και διαχειριστικές μεθόδους. Παράλληλα, καταγράφονται και άλλες επιπλέον πληροφορίες για τον πληθυσμό, ώστε να συμβάλλουν στην ερμηνεία των επαληθευτών.

Υψηλότερου επιπέδου επαληθευτές (τυπικοί, προχωρημένου επιπέδου) πρέπει να περιλαμβάνουν καταγραφή των επαληθευτών και από τις χαμηλότερες κατηγορίες (βασικοί, τυπικοί). Δεν είναι απαραίτητη η καταγραφή άλλων επιπλέον πληροφοριών.

7.1 Πρωτόκολλα για την καταγραφή των επαληθευτών

7.1.1 Θνησιμότητα / επιβίωση

Η θνησιμότητα είναι δείκτης που χαρακτηρίζει τα ενήλικα άτομα και τη φυσική αναγέννηση. Από την άλλη, η επιβίωση χαρακτηρίζει τα άτομα εκείνα που έχουν μείνει ζωντανά από την προηγούμενη αξιολόγηση. Η επιβίωση προκύπτει από τη σχέση $\text{Επιβίωση} = (1 - \text{Θνησιμότητα})$.

7.1.1.1 Ενήλικα άτομα: Βασικό, τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής για τη θνησιμότητα ενήλικων ατόμων και της φυσικής αναγέννησης υπολογίζεται με την καταμέτρηση των ζωντανών αριθμημένων δέντρων κάθε 10 έτη, καθώς και έπειτα από ακραίες καιρικές συνθήκες. Η θνησιμότητα υπολογίζεται ως η διαφορά μεταξύ του αρχικού αριθμού των 50 επιλεγμένων δέντρων, μείον τον τελικό αριθμό των ζωντανών επιλεγμένων δέντρων.

7.1.1.2 Φυσική αναγέννηση: Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Η θνησιμότητα της φυσικής αναγέννησης υπολογίζεται από τον επαληθευτή «αφθονία φυσικής αναγέννησης» κατά τη διάρκεια δύο διαδοχικών αξιολογήσεων (πραγματοποιούνται δύο φορές ανά δεκαετία, ιδανικά κάθε 5 έτη).

7.1.2 Ανθοφορία

Αυτός ο επαληθευτής περιγράφει την ένταση της ανθοφορίας και την αναλογία δέντρων σε αυτό το στάδιο. Καταγράφεται ταυτόχρονα με τις επιπλέον πληροφορίες στην ενότητα 7.2.3 Αναλογία θηλυκών/αρσενικών ταξιανθιών, τον Μάρτιο έως Απρίλιο στην κεντρική Ευρώπη και ενδεχομένως νωρίτερα στη νότια Ευρώπη. Η ανθοφορία παρατηρείται γενικά νωρίτερα όταν προηγείται θερμός χειμώνας

Πίνακας 1: Κατάλογος επαληθευτών και επιπλέον πληροφοριών με σύντομες περιγραφές και συχνότητα παρατήρησης κατά τη διάρκεια εργασιών πεδίου σε επιφάνειες γενετικής παρακολούθησης φράξου

Όνομα	Βασικό επίπεδο	Τυπικό επίπεδο	Προχωρημένο επίπεδο	
Θνησιμότητα / επιβίωση	Ενήλικα άτομα: Μέτρηση υφιστάμενων επιλεγμένων δέντρων κάθε 10 χρόνια, καθώς και μετά από ισχυρή κακοκαιρία/ έντονα καιρικά φαινόμενα	Όπως στο βασικό επίπεδο	Όπως στο βασικό επίπεδο	
	Φυσική αναγέννηση: /	Καταμέτρηση υφιστάμενων φυταρίων στις υποεπιφάνειες φυσικής αναγέννησης, δύο φορές ανά δεκαετία	Όπως στο τυπικό επίπεδο	
Επαληθευτές	Ανθοφορία	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας σε ετήσια βάση	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κατά τη διάρκεια δύο περιόδων μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία, ιδανικά ισαπέχουσες μεταξύ τους*	
	Καρποφορία	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας σε ετήσια βάση	Καταμέτρηση καρπών τα ίδια έτη αξιολόγησης με την ανθοφορία στο προχωρημένο επίπεδο (ανεξάρτητα από το βαθμό καρποφορίας)* Σε αυτό το επίπεδο, συλλέγονται επίσης σπέρματα για εργαστηριακές αναλύσεις σε κάθε καρποφορία που αξιολογείται στο προχωρημένο επίπεδο	
Αφθονία φυσικής αναγέννησης	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας σε ετήσια βάση	Καταμέτρηση των φυταρίων το 2ο και το 7ο έτος μετά από κάθε αξιολογημένη καρποφορία	Καταμέτρηση των φυταρίων το 2ο , 7ο, 12ο , και 17ο έτος μετά από κάθε αξιολογημένη καρποφορία	
Επιπλέον πληροφορίες	Κατανομή κλάσεων διαμέτρου	/	Μέτρηση κάθε 10 έτη	Όπως στο τυπικό επίπεδο
	Κατανομή υψομετρικών κλάσεων	/	Μέτρηση κάθε 10 έτη	Όπως στο τυπικό επίπεδο
	Αναλογία θηλυκών/ αρσενικών ταξιανθιών	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου συγχρόνως με τον επαληθευτή «ανθοφορία»	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, και καταγραφή του ποσοστού θηλυκών και αρσενικών ταξιανθιών συγχρόνως με τον επαληθευτή Ανθοφορία
	Ξήρανση της κόμης	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου ετησίως	Όπως στο βασικό επίπεδο	Όπως στο βασικό επίπεδο
	Έκπτυξη οφθαλμών	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου κάθε 5 έτη	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, ετησίως
	Φθινοπωρινός μαρασμός	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου κάθε 5 έτη	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, ετησίως
	Συγχρονισμός ανθοφορίας	/	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κατά τη διάρκεια κάθε αξιολογούμενης μαζικής ανθοφορίας

* Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος μαζικής ανθοφορίας πρέπει να αξιολογείται ανά δεκαετία. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δε οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε την επόμενη περίοδο ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου τόσο η ανθοφορία, όσο και η πληροκαρπία, ανεξάρτητα του χρόνου που έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών περιόδων. Το βασικό επίπεδο παρατήρησης χρησιμοποιείται για την αναγνώριση των περιόδων ανθοφορίας και πληροκαρπίας.

** Τα σπέρματα του φράξου αρχικά βρίσκονται σε λήθαργο, ο οποίος διαρκεί δύο χειμώνες. Η αφθονία της φυσικής αναγέννησης καταγράφεται για πρώτη φορά δύο χρόνια μετά από την πρώτη περίοδο πληροκαρπίας. Εάν τα σπέρματα παραμείνουν σε λήθαργο για μεγαλύτερο ή μικρότερο χρονικό διάστημα, όλες οι επόμενες μετρήσεις προσαρμόζονται ανάλογα με τη διάρκεια του λήθαργου.

7.1.2.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κάθε έτος σε επίπεδο συστάδας. Η καταγραφή γίνεται όταν η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη. Ο υπολογισμός της μέσης κατάστασης πραγματοποιείται έπειτα από αυτοψία στην επιφάνεια παρακολούθησης. Δίνονται δύο τιμές, η μία για την ένταση της ανθοφορίας και η άλλη για την αναλογία των ατόμων σε στάδιο ανθοφορίας στη συστάδα.

Κωδικός	Ένταση ανθοφορίας	Μέση αναλογία ανθοφορίας κόμης (%)
1	Χωρίς ανθοφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση ανθέων στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης ανθοφορία: Μερικά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης ανθοφορία: Αρκετά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης ανθοφορία: Άφθονα άνθη στα δέντρα	> 60 – 90
5	Μαζική ανθοφορία: Τεράστιες ποσότητες ανθέων στα δέντρα	> 90

Κωδικός	Αναλογία δέντρων της συστάδας σε κάθε στάδιο έντασης ανθοφορίας (%)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

7.1.2.2 Τυπικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κατά τη διάρκεια δύο, μαζικών περιόδων ανθοφορίας ανά δεκαετία, οι οποίες ιδανικά, ισαπέχουν χρονικά μεταξύ τους. Καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου σε κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα άτομα. Στάδιο μαζικής ανθοφορίας θεωρείται η ανθοφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση ανθοφορίας βρίσκεται σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5). Η καταγραφή γίνεται όταν η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη. Για κάθε δέντρο δίνεται μία τιμή.

Κωδικός	Περιγραφή	Αναλογία ανθοφορίας κόμης (%)
1	Χωρίς ανθοφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση ανθέων στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης ανθοφορία: Μερικά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης ανθοφορία: Αρκετά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης ανθοφορία: Άφθονα άνθη στα δέντρα	> 60 – 90
5	Μαζική ανθοφορία: Τεράστιες ποσότητες ανθέων στα δέντρα	> 90

7.1.2.3 Προχωρημένο επίπεδο

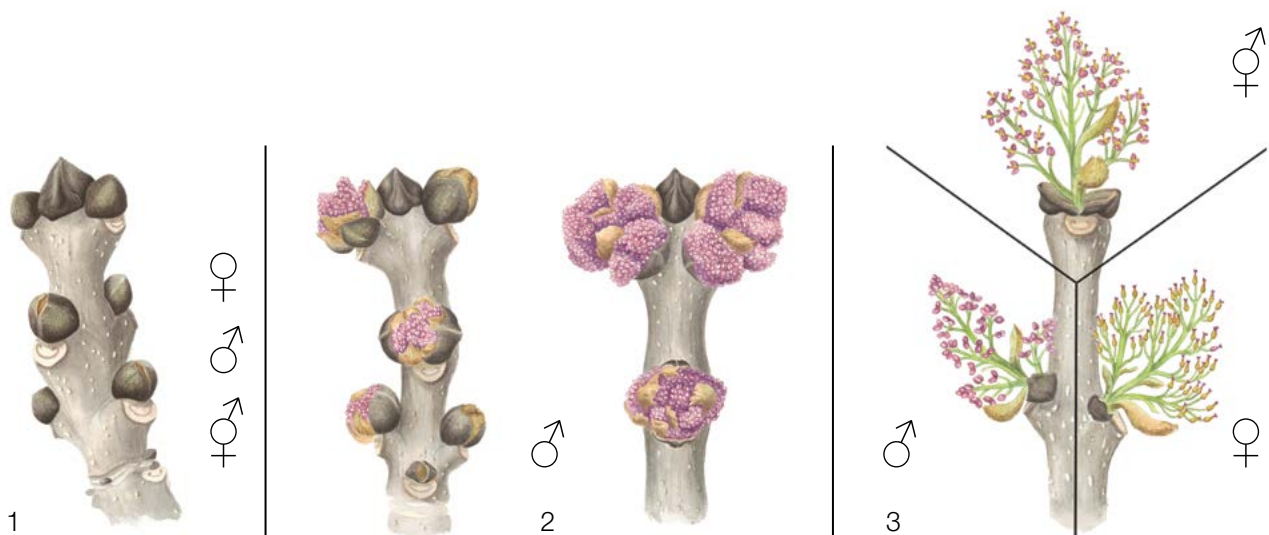
Ο επαληθευτής καταγράφεται κατά τη διάρκεια δύο, μαζικών περιόδων ανθοφορίας ανά δεκαετία, οι οποίες ιδανικά, ισαπέχουν χρονικά μεταξύ τους. Καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου σε κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα άτομα. Ως στάδιο μαζικής ανθοφορίας θεωρείται η ανθοφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική (κωδικός 4 ή 5). Χρειάζονται περίπου δύο επισκέψεις στην επιφάνεια παρακολούθησης, η πρώτη αρκετά νωρίς ώστε να παρατηρηθούν τα πρώιμα στάδια της ανθοφορίας και η δεύτερη όταν πλέον η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη.

Τρεις τιμές καταγράφονται για κάθε δέντρο: στάδιο ανθοφορίας θηλυκών ανθέων, στάδιο ανθοφορίας αρσενικών ανθέων και αναλογία της ανθοφορίας της κόμης. Η τελευταία τιμή αναφέρεται στο συνολικό αριθμό ταξιανθιών (θηλυκές, αρσενικές και διγενείς) στο δέντρο.

Οι απαιτούμενες επιπλέον πληροφορίες για το συγχρονισμό ανθοφορίας μπορούν να υπολογιστούν από τις τιμές για το στάδιο ανθοφορίας και επίσης από τις επιπλέον πληροφορίες στην ενότητα 7.2.3 Αναλογία θηλυκών/αρσενικών ταξιανθιών.

Κωδικός	Στάδιο ανθοφορίας
1	Οφθαλμοί κλειστοί ή ελαφρώς διογκωμένοι αλλά στήμονες/ύπεροι δεν είναι ακόμα ορατά
2	Οφθαλμοί ανοιχτοί, στήμονες/ύπεροι ορατοί αλλά δεν απελευθερώνουν ακόμα γύρη ούτε είναι έτοιμοι για επικονίαση
3	Ταξιανθίες πλήρως ξεδιπλωμένες, οι στήμονες απελευθερώνουν γύρη, οι ύπεροι δεκτικοί σε γύρη

Κωδικός	Αναλογία κόμης σε ανθοφορία
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90



Εικόνα 5: Εικονογραφημένος οδηγός για την περιγραφή των σταδίων ανθοφορίας για τον επαληθευτή της ανθοφορίας στο προχωρημένο στάδιο. Στο στάδιο 3, η ταξιανθία που φαίνεται να αναπτύσσεται στον επικόρυφο βλαστό σχεδιάστηκε για τις ανάγκες απεικόνισης των αρρενοθήλων ανθέων. Στην πραγματικότητα, στον επικόρυφο βλαστό αναπτύσσονται φύλλα.

7.1.3 Καρποφορία

Ο επαληθευτής περιγράφει την παρουσία καρπών και την αφθονία τους. Δεδομένα για αυτόν τον επαληθευτή συλλέγονται κατά τη διάρκεια της καρποφορίας, κατά το διάστημα Αύγουστος- Οκτώβριος στην κεντρική Ευρώπη.

7.1.3.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κάθε έτος σε επίπεδο συστάδας. Ο υπολογισμός της μέσης κατάστασης πραγματοποιείται έπειτα από αυτοψία στην επιφάνεια παρακολούθησης. Δίνονται δύο τιμές, η μία για την ένταση της καρποφορίας και η άλλη για την αναλογία των ατόμων σε στάδιο καρποφορίας στη συστάδα

Κωδικός	Ένταση καρποφορίας	Μέση αναλογία κόμης σε καρποφορία (%)
1	Χωρίς καρποφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση καρπών στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης καρποφορία: Μερικοί καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης καρποφορία: Αρκετοί καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης καρποφορία: Άφθονοι καρποί στα δέντρα	> 60 – 90
5	Πληροκαρπία: Τεράστιες ποσότητες καρπών στα δέντρα	> 90

Κωδικός	Αναλογία δέντρων στη συστάδα σε κάθε στάδιο έντασης καρποφορίας (%)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

7.1.3.2 Τυπικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται τις ίδιες χρονιές όπου αξιολογείται η ανθοφορία στο τυπικό επίπεδο (ανεξάρτητα από την ένταση της καρποφορίας). Γίνεται καταγραφή σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα δέντρα. Η καταγραφή γίνεται προτού πέσουν οι καρποί. Για κάθε δέντρο δίνεται μία τιμή.

Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος πληροκαρπίας πρέπει να αξιολογείται μετά από μία περίοδο μαζικής ανθοφορίας. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δε οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε την επόμενη περίοδο ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου τόσο η ανθοφορία όσο και η πληροκαρπία, ανεξάρτητα του χρόνου που έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών περιόδων. Ως στάδιο πληροκαρπίας θεωρείται η καρποφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση καρποφορίας είναι σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5).

Κωδικός	Ένταση καρποφορίας	Αναλογία καρποφορίας στην κόμη (%)
1	Χωρίς καρποφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση καρπών στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης καρποφορία: Μερικοί καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης καρποφορία: Αρκετοί καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης καρποφορία: Άφθονοι καρποί στα δέντρα	> 60 – 90
5	Πληροκαρπία: Τεράστιες ποσότητες καρπών στα δέντρα	> 90

Η καταγραφή αυτού του επαληθευτή παρέχει έμμεσα πληροφορίες για το λειτουργικό φύλο του κάθε δέντρου καθώς και τη διακύμανση αυτού σε μία χρονική κλίμακα.

7.1.3.3 Προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα δέντρα τις ίδιες χρονιές όπου αξιολογείται η ανθοφορία στο προχωρημένο επίπεδο, ανεξάρτητα από την ένταση της καρποφορίας. Η καταγραφή γίνεται προτού πέσουν οι καρποί. Για κάθε δέντρο δίνεται μία τιμή. Παράλληλα συλλέγονται σπέρματα για γενετικές και άλλες αναλύσεις καθώς και για την καταγραφή επιπλέον πληροφοριών σε αυτό το επίπεδο.

Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος πληροκαρπίας πρέπει να αξιολογείται μετά από μία περίοδο μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δε οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε την επόμενη περίοδο

ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου τόσο η ανθοφορία όσο και η καρποφορία ανεξάρτητα του χρόνου που έχει μεσολαβήσει μεταξύ δύο διαδοχικών περιόδων. Κατά το βασικό επίπεδο παρατήρησης καταγράφονται οι περίοδοι πληροκαρπίας. Ως στάδιο πληροκαρπίας θεωρείται η καρποφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρή ένταση ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση καρποφορίας βρίσκεται σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5).

Ο επαληθευτής καταγράφεται μετά από μέτρηση των καρπών χρησιμοποιώντας κιάλια. Σημειώνεται ο μέσος όρος που προκύπτει από τρεις διαδοχικές μετρήσεις. Στην κάθε μέτρηση καταγράφεται ο αριθμός καρπών που ο παρατηρητής μετράει σε 30 δευτερόλεπτα. Για όλα τα δέντρα εξετάζεται το ίδιο μέρος της κόμης. Μόλις επιλεγεί το συγκεκριμένο κομμάτι της κόμης, ο παρατηρητής πρέπει να εστιάσει σε αυτό και για κάθε επόμενη μέτρηση που θα πραγματοποιήσει. Προτείνεται για την καταμέτρηση να εξεταστεί το ανώτερο τρίτο της κόμης σε σχέση με το ενδιάμεσο ή το κατώτερο.

Σημειώνονται δύο τιμές, ο αριθμός των καρπών και το μέρος της κόμης που εξετάστηκε

Αριθμός καταμετρημένων καρπών σε 30 δευτερόλεπτα (μέσος όρος τριών μετρήσεων)

X

Κωδικός Μέρος της κόμης που εξετάστηκε

1 Κατώτερο

2 Ενδιάμεσο

3 Ανώτερο

7.1.4 Αφθονία φυσικής αναγέννησης

Ο επαληθευτής περιγράφει την παρουσία και την αφθονία της φυσικής αναγέννησης στην επιφάνεια παρακολούθησης.

7.1.4.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται σε ετήσια βάση, το φθινόπωρο, σε επίπεδο συστάδας. Για τον υπολογισμό της φυσικής αναγέννησης σε όλη την επιφάνεια απαιτείται η συμβολή ειδικού. Καταγράφονται δύο τιμές, μία για την νέα φυσική αναγέννηση (αρτίφυτα της τρέχουσας χρονιάς) και μία για την ήδη εγκατεστημένη αναγέννηση (φυτάρια μεγαλύτερα του ενός έτους).

Κωδικός Περιγραφή: νέα φυσική αναγέννηση (αρτίφυτα της τρέχουσας χρονιάς)

1a Καθόλου ή ελάχιστη νέα φυσική αναγέννηση στην επιφάνεια παρακολούθησης

2a Η νέα φυσική αναγέννηση υπάρχει και αντιπροσωπεύεται από ικανό αριθμό ατόμων στην επιφάνεια παρακολούθησης

Κωδικός Περιγραφή: εγκατεστημένη φυσική αναγέννηση (φυτάρια)

1b Καθόλου ή ελάχιστη νέα φυσική αναγέννηση στην επιφάνεια παρακολούθησης

2b Εγκατεστημένη φυσική αναγέννηση σε ικανή ποσότητα στην επιφάνεια παρακολούθησης

7.1.4.2 Τυπικό επίπεδο

Αυτός ο επαληθευτής καταγράφεται με την καταμέτρηση φυταρίων το φθινόπωρο, δύο χρόνια μετά από έτος πληροκαρπίας (το έτος με πληροκαρπία θεωρείται το έτος 0) και έπειτα επτά χρόνια μετά την καρποφορία, καθώς τα σπέρματα του φράξου παραμένουν σε λήθαργο στο έδαφος επί δύο χρόνια.

Καταμέτρηση φυταρίων:

Μετά την εγκατάσταση των υποεπιφανειών της φυσικής αναγέννησης, καταμετρώνται όλα τα φυτάρια φράξου σε κάθε υποεπιφάνεια. Μεγαλύτερα σε ηλικία φυτάρια φράξου που βρίσκονται εντός της υποεπιφάνειας δεν συμπεριλαμβάνονται στην καταμέτρηση. Στον επόμενο γύρο καταμέτρησης, λαμβάνονται υπόψη μόνο φυτάρια της αντίστοιχης ηλικίας, δηλαδή στο 8^ο έτος καταμετρώνται φυτάρια 5 ετών.

Αριθμός φυταρίων ανά υποεπιφάνεια

X

Η θνησιμότητα/ επιβίωση της φυσικής αναγέννησης υπολογίζεται από τις τιμές που καταγράφονται για αυτόν τον επαληθευτή.

Η εγκατάσταση των υποεπιφανειών ΦΑ και η έναρξη των παρατηρήσεων πρέπει να προσαρμοστούν στη διάρκεια του ληθάργου των σπερμάτων στην παρακολουθούμενη επιφάνεια.

Για την εγκατάσταση υποεπιφανειών, δείτε στην ενότητα 6.2 Εγκατάσταση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης

7.1.4.3 Προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται με την καταμέτρηση φυταρίων σε κάθε μία από τις 20 υποεπιφάνειες ΦΑ, το 2^ο φθινόπωρο μετά από κάθε αξιολογημένη περίοδο καρποφορίας (το έτος με καρποφορία θεωρείται το έτος 0) και έπειτα το 7^ο, 12^ο, 17^ο έτος μετά την παραπάνω καρποφορία, καθώς τα σπέρματα του φράξου συνήθως παραμένουν σε λήθαργο στο έδαφος επί δύο χρόνια.

Η εγκατάσταση των υποεπιφανειών ΦΑ και η έναρξη των παρατηρήσεων πρέπει να προσαρμοστούν στη διάρκεια του ληθάργου των σπερμάτων στην παρακολουθούμενη επιφάνεια.

Πίνακας 2: Χρονοδιάγραμμα για την αξιολόγηση της φυσικής αναγέννησης (ΦΑ). Σε αυτό το υπόδειγμα, η πρώτη καρποφορία συμβαίνει το δεύτερο έτος της δεκαετίας όπου εφαρμόζεται η γενετική παρακολούθηση και λαμβάνοντας υπόψη το διετή λήθαργο των σπερμάτων του φράξου, είκοσι νέες υποεπιφάνειες ΦΑ εγκαθίστανται κατά το 4^ο έτος της δεκαετίας. Η επόμενη καρποφορία η οποία αξιολογείται, είναι στο 8^ο έτος παρακολούθησης. Λαμβάνοντας ξανά υπόψη το διετή λήθαργο των σπερμάτων του φράξου, είκοσι νέες υποεπιφάνειες ΦΑ εγκαθίστανται το 10^ο έτος της δεκαετίας παρακολούθησης. Είκοσι νέες υποεπιφάνειες εγκαθίστανται μετά από κάθε περίοδο καρποφορίας. Η παρακολούθηση της αφθονίας της φυσικής αναγέννησης σε κάθε ομάδα 20 υποεπιφανειών γίνεται κάθε 5 έτη. Η περίοδος καρποφορίας που αντιστοιχεί στην κάθε υποεπιφάνεια ΦΑ υπό αξιολόγηση και το χρονοδιάγραμμα των αξιολογήσεων χρωματίζονται με το ίδιο χρώμα. Μετά τον τελευταίο γύρο καταμέτρησης φυταρίων, η παρακολούθηση της ΦΑ στις καθορισμένες ομάδες σταματάει και οι υποεπιφάνειες απεγκαθίστανται. Τ – Τυπικό επίπεδο, Π– Προχωρημένο επίπεδο.

Έτος παρακολούθησης	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	
Περίοδος καρποφορίας		•			•	•		•		•		•		•		•		•		•		•		•		
Αξιολόγηση ΦΑ από την 1η αξιολογημένη περίοδο καρποφορίας		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
Εγκατάσταση υποεπιφανειών ΦΑ				ΤΠ																						
Καταμέτρηση αφθονίας ΦΑ				ΤΠ				ΤΠ				Π					Π									
Αξιολόγηση ΦΑ από τη 2η αξιολογημένη περίοδο καρποφορίας									0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Εγκατάσταση υποεπιφανειών ΦΑ										ΤΠ																
Καταμέτρηση αφθονίας ΦΑ										ΤΠ			ΤΠ				Π								Π	

Η θνησιμότητα/ επιβίωση της φυσικής αναγέννησης υπολογίζεται από τις τιμές που καταγράφονται για αυτόν τον επαληθευτή.

Για την εγκατάσταση υποεπιφανειών, δείτε στο 6.2 Εγκατάσταση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης και για την καταμέτρηση στο 7.1.4.2 Τυπικό επίπεδο.

7.2 Πρωτόκολλα για την καταγραφή των επιπλέον πληροφοριών

7.2.1 Κατανομή κλάσεων στηθιαίας διαμέτρου κορμών

7.2.1.1 Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Η στηθιαία διάμετρος DBH καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα δέντρα κάθε δεκαετία. Η στηθιαία διάμετρος είναι η διάμετρος του κορμού σε ύψος 1,30 μ., δηλαδή περίπου το ύψος του στήθους σε έναν ενήλικα. Εάν το δέντρο έχει παραπάνω από έναν κορμό, προτείνεται να μετρηθούν όλοι και να καταγραφεί ο μέσος όρος τους (ωστόσο, καλύτερα να αποφεύγετε τα δέντρα με πολλαπλούς, μικρούς κορμούς). Σημειώστε επίσης ότι το δέντρο έχει πολλαπλούς κορμούς και όλους τους κορμούς που μετρήθηκαν. Εάν το δέντρο γέρνει, τότε μετράτε τη στηθιαία διάμετρο κάθετα στον κορμό. Η στηθιαία διάμετρος μετράται με δύο τρόπους:

1. Χρησιμοποιώντας ένα παχύμετρο παίρνετε δύο κάθετες διαμέτρους και υπολογίζετε το μέσο όρο
2. Μετράτε την περίμετρο του δέντρου και υπολογίζετε τη διάμετρο με βάση αυτή τη μέτρηση (π.χ. διαιρώντας με το π~ 3,14)

Η στηθιαία διάμετρος αποτυπώνεται σε εκατοστά. Η ίδια μέθοδος εφαρμόζεται για κάθε ακόλουθη μέτρηση.

7.2.2 Κατανομή κλάσεων ύψους

7.2.2.1 Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Το ύψος καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα δέντρα κάθε δεκαετία. Το ύψος μετράται από το έδαφος στο υψηλότερο σημείο της κόμης, χρησιμοποιώντας κλισίμετρο ή υψόμετρο. Το ύψος αποτυπώνεται σε μέτρα και στρογγυλοποιείται στο πιο κοντινό ακέραιο ψηφίο. Εάν η κόμη είναι κατεστραμμένη αυτό το γεγονός αλλά και η αιτία που συνέβη θα πρέπει να καταγραφούν ως παρατήρηση.

7.2.3 Αναλογία θηλυκών/αρσενικών ταξιανθιών

Αυτή η επιπλέον πληροφορία περιγράφει το φύλο του κάθε δέντρου. Μπορεί να καταγραφεί ταυτόχρονα με τον επαληθευτή «ανθοφορία», κατά τη διάρκεια της ανθοφορίας το διάστημα Μάρτιο με Απρίλιο στην κεντρική Ευρώπη και ενδεχομένως λίγο νωρίτερα στη νότια Ευρώπη.

7.2.3.1 Τυπικό επίπεδο

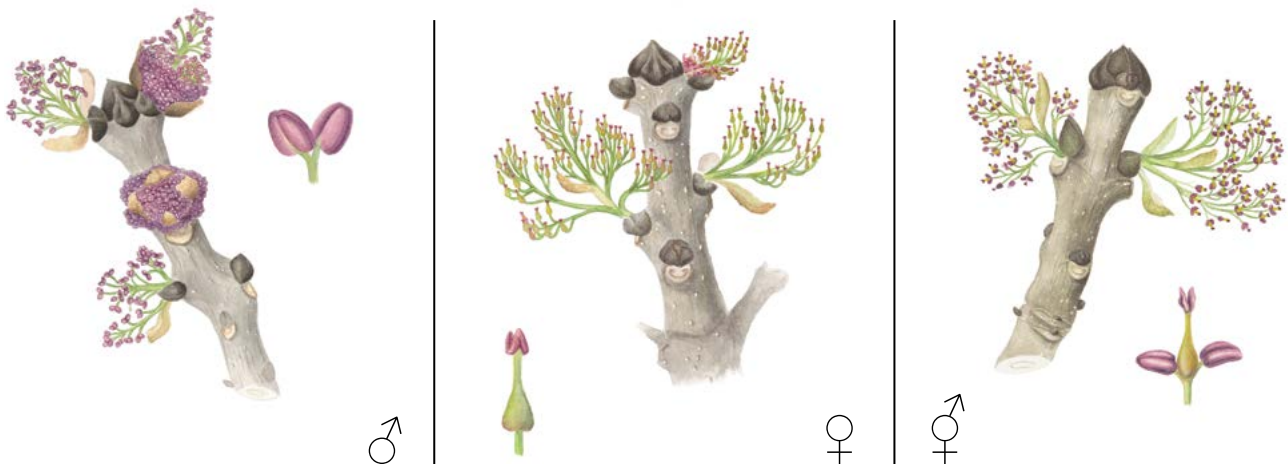
Στο τυπικό επίπεδο, αυτή η επιπλέον πληροφορία καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα δέντρα ταυτόχρονα με τον επαληθευτή «ανθοφορία». Για τη γραφική απεικόνιση των αρσενικών, θηλυκών και διγενών ταξιανθιών ανατρέξτε στην Εικόνα 6.

Κωδικός	Φύλο	Περιγραφή
1	Αρσενικό	Περισσότερες από τις μισές ταξιανθίες στο δέντρο είναι αρσενικές
2	Θηλυκό	Περισσότερες από τις μισές ταξιανθίες στο δέντρο είναι θηλυκές
3	Ερμαφρόδιτο	Περισσότερες από τις μισές ταξιανθίες στο δέντρο είναι διγενείς

7.2.3.2 Προχωρημένο επίπεδο

Στο προχωρημένο επίπεδο, αυτή η επιπλέον πληροφορία καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα δέντρα ταυτόχρονα με τον επαληθευτή «ανθοφορία». Το ποσοστό αρσενικών, θηλυκών και διγενών ταξιανθιών καταγράφεται για κάθε παρακολουθούμενο δέντρο με ακρίβεια της τάξης του 10%. Για τη γραφική απεικόνιση των αρσενικών, θηλυκών και διγενών ταξιανθιών ανατρέξτε στην Εικόνα 6.

Κωδικός	Φύλο
1	% αρσενικές ταξιανθίες
2	% θηλυκές ταξιανθίες
3	% διγενείς ταξιανθίες



Εικόνα 6: Φωτογραφικός οδηγός για τον προσδιορισμό της αναλογίας φύλου των ταξιανθιών του of *F. excelsior*.

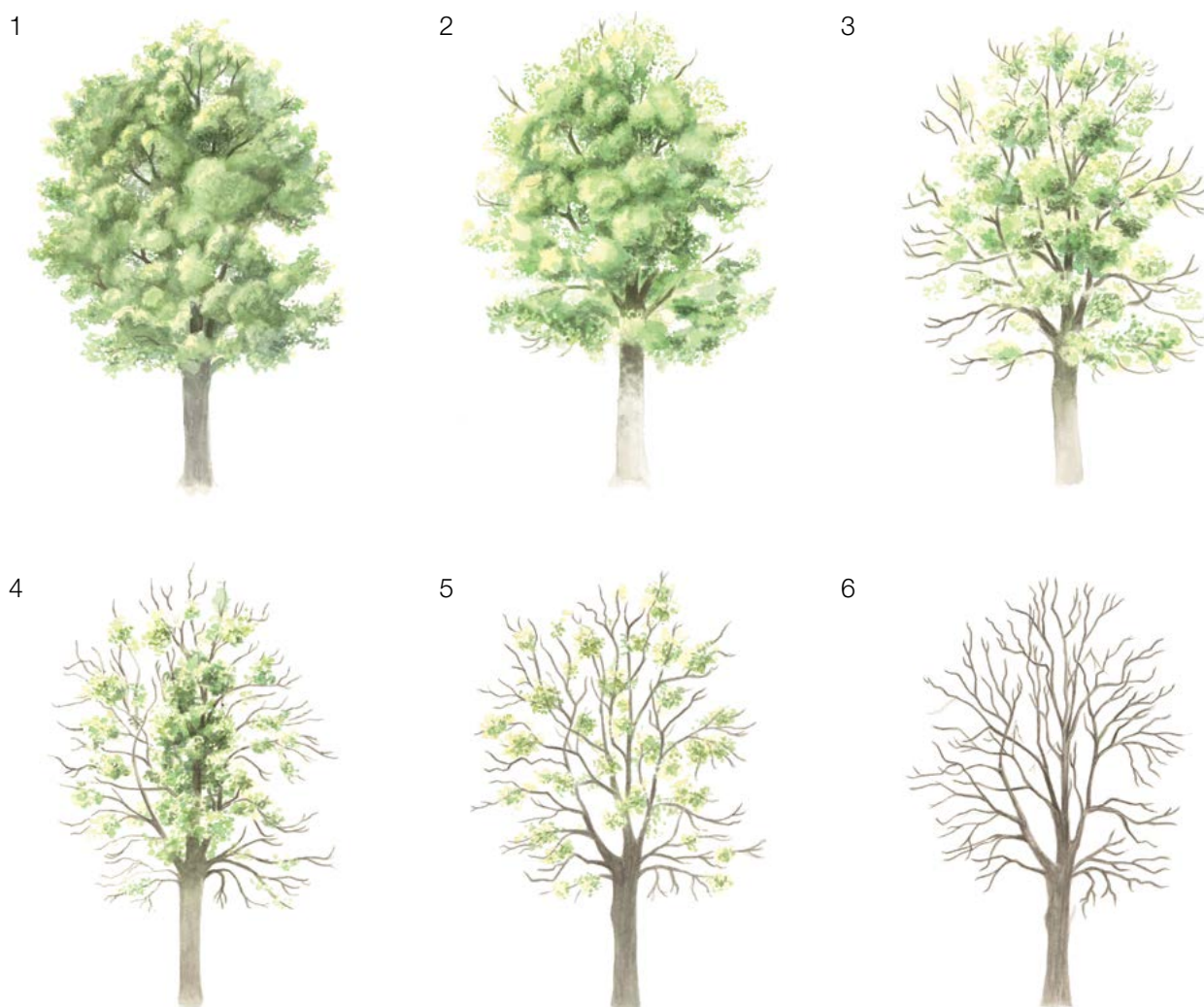
Άτομα που φέρουν ταξιανθίες με κάποια ενδιάμεση μορφή ανθέων μεταξύ θηλυκών και διγενών, με μικρούς ανθήρες που μπορεί να απελευθερώνουν γύρη ή όχι, είναι δύσκολο να χαρακτηριστούν. Αν η πλειοψηφία των ταξιανθιών είναι θηλυκές τότε το δέντρο μπορεί να χαρακτηριστεί θηλυκό, ενώ αν η πλειοψηφία τους είναι διγενείς, τότε το δέντρο μπορεί να χαρακτηριστεί ερμαφρόδιτο.

7.2.4 Ξήρανση κόμης

Αυτή η επιπλέον πληροφορία περιγράφει την κατάσταση της κόμης υπό την επίδραση του μύκητα *Hymenoscyphus fraxineus* ο οποίος προκαλεί ξήρανση της κόμης. Ο επαληθευτής καταγράφεται σε ετήσια βάση, έπειτα από παρατήρηση των 50 παρακολουθούμενων δέντρων από εμπειρογνώμονες. Συστήνεται τα δεδομένα για αυτόν τον επαληθευτή να συλλέγονται την περίοδο που τα φύλλα έχουν αναπτυχθεί πλήρως, λ.χ. τον Ιούλιο για την κεντρική Ευρώπη. Για τη γραφική απεικόνιση των σταδίων ξήρανσης κόμης, ανατρέξτε στην Εικόνα 7.

7.2.4.1 Βασικό, τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Κωδικός	Περιγραφή
1	Υγιής κόμη (0-10% αποφύλλωση)
2	Εμφανείς νεκρώσεις στις άκρες βλαστών στην εξωτερική επιφάνεια της κόμης, γενικά η κόμη σε καλή κατάσταση (11-30% αποφύλλωση)
3	Νεκρώσεις ολόκληρων κλαδιών στην εξωτερική επιφάνεια της κόμης, αραιώση της κόμης σε βαθμό που είναι ορατό το εσωτερικό της μέρος (31-50% αποφύλλωση)
4	Δευτερογενής κόμη αναπτύσσεται στον κορμό, παχύτερα κλαδιά χωρίς φύλλα είναι ορατά, κόμη πολύ αραιή (51-80% αποφύλλωση)
5	Παραμένει μόνο ένα πολύ μικρό μέρος της κόμης (81-99% αποφύλλωση)
6	Δέντρο νεκρό (100% αποφύλλωση)



Εικόνα 7: Οδηγός για την εκτίμηση ξήρανσης της κόμης

7.2.5 Έκπτυξη οφθαλμών

Η έκπτυξη των οφθαλμών περιγράφει την ανάπτυξη των φύλλων. Στο φράξο η έκπτυξη των φύλλων συμβαίνει αμέσως μετά την ανθοφορία. Η καταγραφή αυτού του επαληθευτή γίνεται μόνο στο τυπικό και στο προχωρημένο

επίπεδο. Οι επιπλέον πληροφορίες για αυτόν τον επαληθευτή συλλέγονται τον Απρίλιο στην κεντρική Ευρώπη, ενώ απαιτούνται αρκετές επισκέψεις στο πεδίο μέχρι η καταγραφή να ολοκληρωθεί όταν όλα τα δέντρα που παρακολουθούνται έχουν αναπτύξει πλήρως τα φύλλα τους. Η έκπτυξη του φυλλώματος συμβαίνει νωρίτερα μετά από έναν θερμό χειμώνα.

7.2.5.1 Τυπικό επίπεδο

Στο τυπικό επίπεδο η έκπτυξη των οφθαλμών καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα άτομα ανά πενταετία. Αναζητούμε την έναρξη της έκπτυξης των φύλλων (στάδιο 3) και την ολοκλήρωση της διαδικασίας (στάδιο 5). Οι παρατηρήσεις ολοκληρώνονται όταν όλα τα δέντρα έχουν φτάσει στο στάδιο 5. Συνήθως απαιτούνται 6 επισκέψεις στο πεδίο.

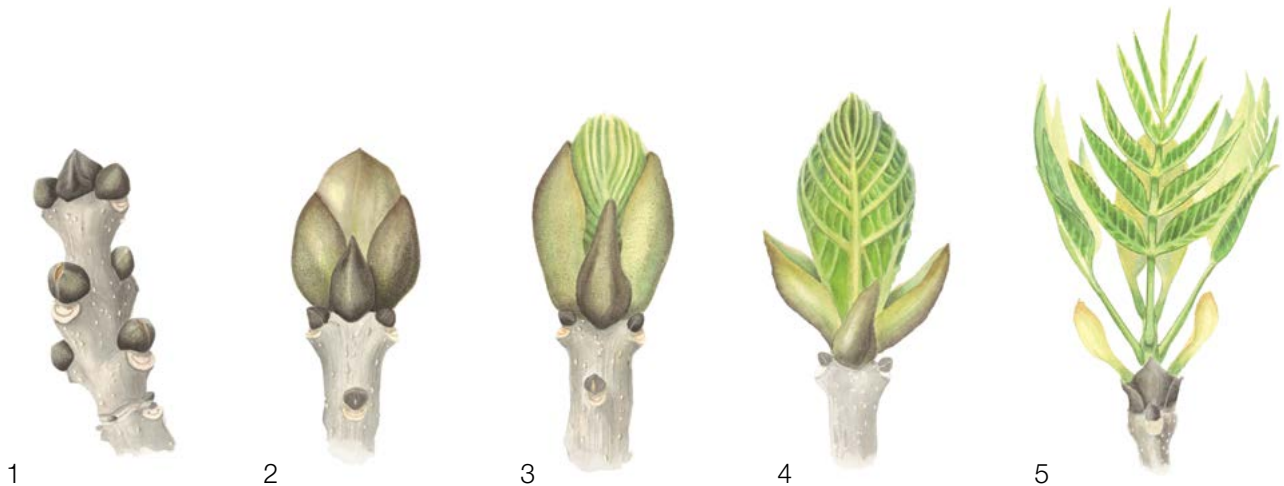
Για κάθε δέντρο δίνονται δύο εκτιμήσεις: το στάδιο έκπτυξης οφθαλμών και η αναλογία έκπτυξης οφθαλμών στην κόμη. Για τη γραφική απεικόνιση των σταδίων έκπτυξης οφθαλμών, ανατρέξτε στην Εικόνα 8.

Κωδικός	Στάδιο έκπτυξης οφθαλμών
1	Οφθαλμοί σε λήθαργο
2	Οφθαλμοί διογκωμένοι αλλά κλειστοί
3	Άνοιγμα οφθαλμών
4	Επιμήκυνση οφθαλμών
5	Τα φύλλα έχουν διαχωριστεί και ξεκινούν να αναπτύσσονται κάθετα

Κωδικός	Αναλογία κόμης σε κάθε στάδιο έκπτυξης οφθαλμών (%)
1	> 0 – 33
2	> 33 – 66
3	> 66 – 99
4	100

7.2.5.2 Προχωρημένο επίπεδο

Σε αυτό το επίπεδο η έκπτυξη οφθαλμών αξιολογείται ετησίως, σε επίπεδο δέντρου και για τα 50 παρακολουθούμενα δέντρα, όπως στο τυπικό επίπεδο. Για λεπτομέρειες δείτε την ενότητα 7.2.5.1 Τυπικό επίπεδο.



Εικόνα 8: Εικονογραφημένος οδηγός για την έκπτυξη οφθαλμών (έκπτυξη φυλλώματος) για τις επιπλέον πληροφορίες της έκπτυξης οφθαλμών στο τυπικό και το προχωρημένο επίπεδο

7.2.6 Φθινοπωρινός μαρασμός

Ο φθινοπωρινός μαρασμός περιγράφει τη διαδικασία μαρασμού και πτώσης των φύλλων. Η καταγραφή αυτής της παραμέτρου γίνεται μόνο στο τυπικό και στο προχωρημένο επίπεδο.

7.2.6.1 Τυπικό επίπεδο

Στο τυπικό επίπεδο, ο φθινοπωρινός μαρασμός καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου σε κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα άτομα, ανά πενταετία. Αναζητούμε το στάδιο 3, όπου τα φύλλα είναι κίτρινα και δεν φωτοσυνθέτουν πλέον. Οι παρατηρήσεις ολοκληρώνονται όταν όλα τα δέντρα έχουν φτάσει στο στάδιο 3. Συνήθως απαιτούνται δύο (2) επισκέψεις στο πεδίο. Για κάθε άτομο σημειώνονται τρεις μετρήσεις: το στάδιο μαρασμού με βάση το χρώμα των φύλλων, η αναλογία της κόμης σε μαρασμό και η αναλογία φύλλων που έχουν πέσει. Για τη γραφική απεικόνιση των σταδίων μαρασμού, ανατρέξτε στην Εικόνα 9.

Κωδικός	Στάδιο μαρασμού
1	Φύλλα πράσινα
2	Φύλλα πρασινωπά, με κίτρινες κηλίδες
3	Φύλλα εντελώς κίτρινα
4	Φύλλα καφετιά

Κωδικός	Αναλογία κόμης σε κάθε στάδιο μαρασμού (%)
1	> 0 – 33
2	> 33 – 66
3	> 66 – 99
4	100

Κωδικός	Αναλογία φύλλων που έχουν πέσει λόγω του μαρασμού (%)
1	> 0 – 33
2	> 33 – 66
3	> 66 – 99
4	100

7.2.6.2 Προχωρημένο επίπεδο

Σε αυτό το επίπεδο ο φθινοπωρινός μαρασμός καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου, ετησίως για κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα δέντρα, όπως στο τυπικό επίπεδο. Για λεπτομέρειες δείτε την ενότητα 7.2.6.1 Τυπικό επίπεδο.

7.2.7 Συγχρονισμός ανθοφορίας

7.2.7.1 Προχωρημένο επίπεδο

Ο συγχρονισμός ανθοφορίας καταγράφεται μόνο στο προχωρημένο επίπεδο και βασίζεται σε παρατηρήσεις για τον επαληθευτή Ανθοφορία. Χρησιμοποιείται για να προσδιορίσει αν ο χρόνος ανθοφορίας θηλυκών και αρσενικών συμπίπτει εντός της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης.

Για την εγκατάσταση επιφάνειας χρησιμοποιήστε το Έντυπο Υπόδειγμα «Περιγραφή επιφάνειας ΓΠΑ»

Για την καταγραφή των επαληθευτών χρησιμοποιήστε το «Έντυπο Υπόδειγμα για την καταγραφή επαληθευτών στο πεδίο, εντός της επιφάνειας ΓΠΑ»

Για τις επιπλέον πληροφορίες χρησιμοποιήστε το «Έντυπο Υπόδειγμα για την καταγραφή επιπλέον πληροφοριών στο πεδίο, εντός της επιφάνειας ΓΠΑ»

8 Βιβλιογραφία

1. Pliūra A, Heuertz M (2003) EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for common ash (*Fraxinus excelsior*). International Plant Genetic Resources Institute, Rome
2. Beck P, Caudullo G, Tinner W, de Rigo D (2016) *Fraxinus excelsior* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: San-Miguel-Ayanz J, de Rigo D, Caudullo G, Houston Durrant T, Mauri A (ed) European Atlas of Forest Tree Species. Publ. Off. EU, Luxembourg, pp 98-99. DOI: 10.2788/4251
3. FRAXIGEN (2005) Ash species in Europe: biological characteristics and practical guidelines for sustainable use. Oxford Forestry Institute, University of Oxford, UK
4. Ogris N (2020) Varstvo gozdov Slovenije – portal. https://www.zdravgozd.si/meni_index.aspx. Accessed 16 September 2020

Για την επιστημονική ονομασία των ειδών που εξετάζονται ή αναφέρονται στο παρόν έγγραφο, ακολουθείται η τρέχουσα (Δεκέμβριος 2020), κοινώς αποδεκτή ονοματολογία όπως αναφέρεται στις παρακάτω πηγές:

- a. CABI (2020) Invasive Species Compendium. CAB International, Wallingford, UK. www.cabi.org/isc. Accessed 15 December 2020
- b. EPPO (2020) EPPO Global Database (available online). <https://gd.eppo.int>. Accessed 15 December 2020
- c. GBIF (2020) Global Biodiversity Information Facility. <https://www.gbif.org> Accessed 15 December 2020
- d. IPNI (2020) International Plant Names Index. The Royal Botanic Gardens, Kew, Harvard University Herbaria & Libraries & Australian National Botanic Gardens. <http://www.ipni.org>, Accessed 10 December 2020
- e. National Center for Biotechnology Information (NCBI) (1998) National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information, Bethesda (MD). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Accessed 15 December 2020
- f. Stevens PF (2001) Angiosperm Phylogeny Website, Version 14. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Accessed 15 December 2020
- g. The Plant List (2013) Version 1.1. <http://www.theplantlist.org/>. Accessed 12 December 2020
- h. Tropicos.org (2020) Missouri Botanical Garden. <http://www.tropicos.org>. Accessed 15 December 2020
- i. WFO (2020) World Flora Online. <http://www.worldfloraonline.org>. Accessed 15 December 2020

9.2.4 Μαύρης πεύκης (*Pinus nigra* J. F. Arnold)

Παρασκευή ΑΛΙΖΩΤΗ¹, Darius KAVALIAUSKAS², Barbara FUSSI²,
Marjana WESTERGREN³, Marko BAJC³, Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ¹,
Rok DAMJANIĆ³, Hojka KRAIGHER³

Απόδοση στα ελληνικά

Παρασκευή ΑΛΙΖΩΤΗ, Μαρίτα ΠΑΠΑΓΙΑΝΝΗ, Χρύσα ΓΟΥΓΟΥΤΣΑ, Φίλιππος Α.
ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ

Εικονογράφηση Klara JAGER



Βιβλιογραφική παράθεση: Alizioti κ.α. (2020) Κατευθυντήριες Οδηγίες για τη Γενετική Παρακολούθηση της Ευρωπαϊκής Μαύρης Πεύκης (*Pinus nigra* J.F. Arnold). Στο: Βαϊς κ. ά. (Επιμ.) Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών. Ινστιτούτο Δασών Σλοβενίας; Silva Slovenica Publishing Centre, Λιουμπλιάνα, σσ. 237-255. <http://dx.doi.org/10.20315/SFS.167>

Φορείς:

1. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), Ελλάδα
2. Βαυαρικό Γραφείο Δασικής Γενετικής (AWG), Γερμανία
3. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας (SFI), Σλοβενία

1 Περίληψη

Η μαύρη πεύκη (*Pinus nigra* J.F. Arnold) είναι ένα ανεμογαμές, μόνοικο και κατά κύριο λόγο ετερογαμές κωνοφόρο μεγάλων υψομέτρων, που φύτεται σε όλη τη λεκάνη της Μεσογείου, όπως επίσης και στην Αυστρία, την Κριμαία και τη Μαύρη Θάλασσα. Η εκτεταμένη γεωγραφική εξάπλωση του είδους σε ποικιλία περιβαλλόντων είχε ως αποτέλεσμα τη μορφολογική και γενετική του διαφοροποίηση σε πέντε αλληλοδιασταυρούμενα υποείδη, που καταλαμβάνουν διαφορετικές περιοχές εντός της φυσικής του εξάπλωσης. Η μαύρη πεύκη είναι θεμελιώδες είδος των δασικών οικοσυστημάτων, πολύτιμο λόγω της υψηλής οικονομικής και οικολογικής του αξίας, το οποίο παράγει ξύλο υψηλής ποιότητας και φυσικής αντοχής. Χαρακτηρίζεται από την ανθεκτικότητά του σε αβιοτικούς παράγοντες καταπόνησης, όπως φτωχά και αλατούχα εδάφη, παγετούς, ισχυρούς ανέμους και ξηρασία. Το είδος αναγεννάται φυσικά στα δασικά οικοσυστήματα, αλλά δεν διαθέτει μηχανισμούς αναγέννησης μετά από πυρκαγιά, γεγονός που το καθιστά ευάλωτο στις εκτεταμένες πυρκαγιές που συχνά συμβαίνουν σε όλη τη λεκάνη της Μεσογείου. Δεδομένης της μεγάλης οικονομικής και οικολογικής αξίας του είδους, της εκτεταμένης φυσικής του εξάπλωσης σε ποικιλία οικοτόπων και της ύπαρξης απομονωμένων και οριακών πληθυσμών, που θα μπορούσαν να κινδυνεύσουν εν όψει της κλιματικής αλλαγής, μπορεί να θεωρηθεί ως ένα καλό υποψήφιο είδος για γενετική παρακολούθηση.

Οι παρούσες κατευθυντήριες οδηγίες περιλαμβάνουν τη σύντομη περιγραφή της μαύρης πεύκης και συγκεκριμένα της εξάπλωσης, οικολογίας, αναπαραγωγής και των απειλών που μπορούν να θέσουν το είδος σε κίνδυνο, καθώς επίσης οδηγίες τόσο περί του τρόπου ίδρυσης μιας επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης, όσο και καταγραφής όλων των απαραίτητων επαληθευτών στο πεδίο, προκειμένου να επιτευχθούν οι στόχοι της γενετικής παρακολούθησης.

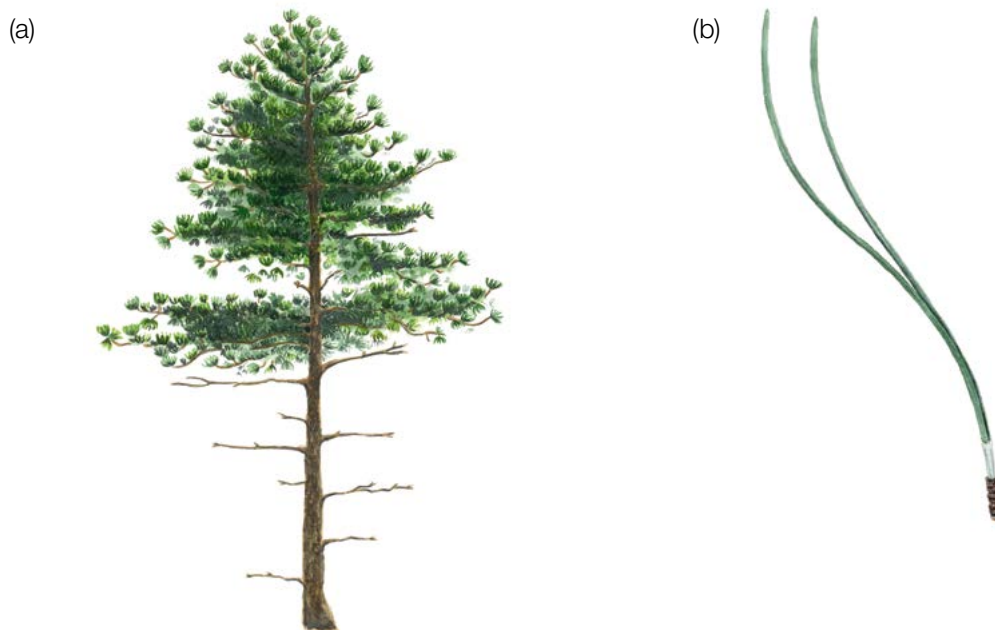
2 Περιγραφή είδους

Η μαύρη πεύκη είναι Μεσογειακό κωνοφόρο, που πέραν της λεκάνης της Μεσογείου εξαπλώνεται στην Αυστρία, την Κριμαία και τη Μαύρη Θάλασσα. Διακρίνονται τα παρακάτω πέντε υποείδη [1], με βάση μορφολογικά / ανατομικά γνωρίσματα: α) *P. nigra* J.F. Arnold subsp. *nigra*, που εξαπλώνεται στην νοτιοανατολική Αυστρία, βόρεια Ιταλία, τη Βαλκανική Χερσόνησο, Βουλγαρία, Ρουμανία, ευρωπαϊκή Τουρκία, β) *P. nigra* subsp. *dalmatica* (Vis.) Franco, που εξαπλώνεται στην Κροατία, γ) *P. nigra* subsp. *laricio* (Poir.) Palib. ex Maire, που εξαπλώνεται στη Γαλλία (Κορσική) και την Ιταλία (Απέννινα, Σικελία), δ) *P. nigra* subsp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe, που εξαπλώνεται στην Ελλάδα, την Κύπρο, τη νοτιοδυτική Βουλγαρία, τη νοτιοανατολική Βόρεια Μακεδονία, τη νότια Αλβανία και από την Κριμαία κατά μήκος της ακτής της Μαύρης Θάλασσας έως την Τουρκία και, ε) *Pinus nigra* subsp. *salzmannii* (Dunal) Franco, εξαπλώνεται στη νοτιοδυτική Ευρώπη, τη Γαλλία (Όρη Ερώ, Πυρηνάια), την Ισπανία, την Αλγερία και το Μαρόκο. Το είδος μπορεί να φύτεται σε μίξη με τα είδη *P. sylvestris* L., *P. mugo* Turra, *P. halepensis* Mill., *P. pinea* L. και *P. heldreichii* Christ [2]. Στις περισσότερες περιπτώσεις το είδος σχηματίζει αμιγείς συστάδες, ενώ μπορεί να απαντάται και σε μικτές συστάδες μαζί με άλλα είδη πεύκης και ιδιαίτερα με *P. sylvestris* [12].

Φυσικός διειδικός υβριδισμός μεταξύ της *Pinus nigra* και άλλων ειδών πεύκης έχει αναφερθεί, όπως για παράδειγμα με τα είδη *P. sylvestris*, *P. heldreichii*, *P. densiflora* Siebold & Zucc., *P. resinosa* Aiton, *P. tabulaeformis* Carrière, *P. taiwanensis* Hayata, *P. mugo*, *Pinus thunbergii* Parl. [3,4,5,6,7], όταν τα είδη συνυπάρχουν φυσικά με τη μαύρη πεύκη, ή όταν έχουν εισαχθεί τεχνητά στην περιοχή που φύτεται. Ενδοειδικός υβριδισμός μεταξύ των υποειδών είναι πιθανός, καθώς το γενετικό ασυμβίβαστο μεταξύ τους δεν είναι αρκετά ισχυρό ώστε να εμποδίσει την μεταξύ τους διασταύρωση και ανταλλαγή γονιδίων, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία μεταβατικών μορφών που προκύπτουν λόγω της εκτεταμένης ροής γονιδίων εξαιτίας της διασποράς γύρης σε μεγάλες αποστάσεις [8].

Το είδος είναι μεσαίου μεγέθους πεύκη, με δύο βελόνες ανά βραχυκλάδιο (Εικόνα 1), που φτάνει κατά την ηλικία ωριμότητας (80 ετών) σε ύψος 30 – 50μ.και χαρακτηρίζεται από την ευθυτένεια του κορμού της. Το χρώμα του φλοιού κυμαίνεται από ανοιχτό γκρι έως σκούρο γκρι-καφέ, ενώ ο φλοιός αποκολλάται σε λωρίδες και φολιδωτά κομμάτια σε γηραιότερα δέντρα [9]. Ο φλοιός αποκτά βαθιές σχισμές όσο αυξάνεται η ηλικία του δέντρου [10].

Η κορυφή είναι συνήθως κωνική σε νεαρή ηλικία, αλλά στρογγυλεύει όσο η ηλικία αυξάνεται, σχηματίζοντας θολωτή ή εκτεταμένη και επίπεδη κορυφή. Οι βελόνες είναι δύσκαμπτες, έχουν μήκος 8 έως 16 εκ. και πλάτος 1-2 χλστ., είναι ίσιες ή περιστραμμένες και οδοντωτές, ενώ ο κολεός έχει μήκος 10-12 χλστ. [11,12].



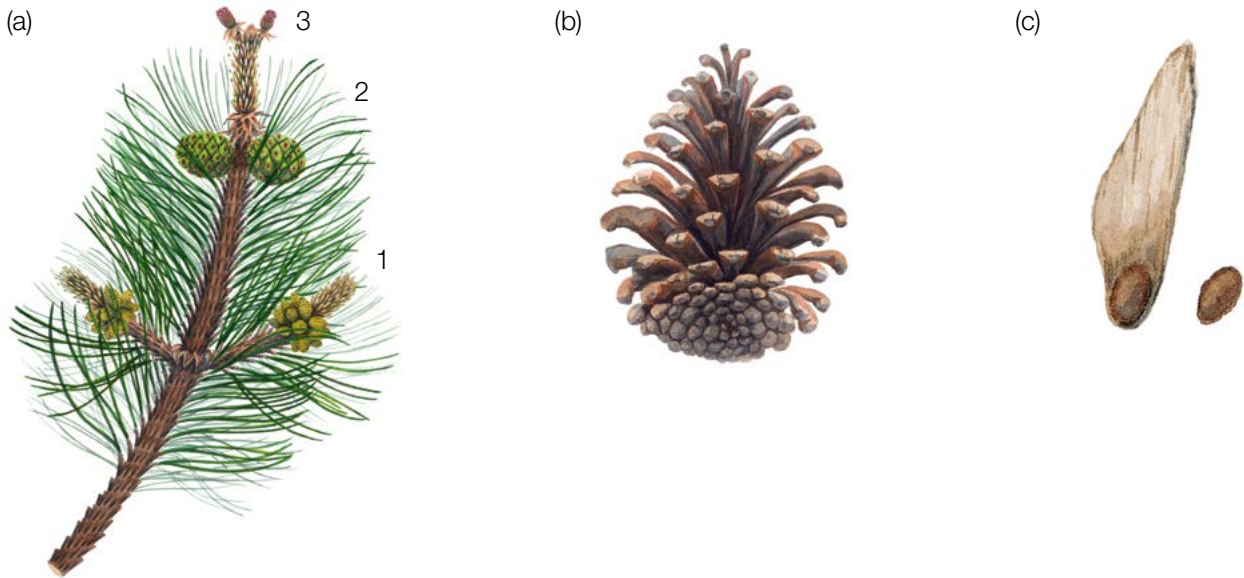
Εικόνα 1. Φαινολογία (a) και βελόνες (b) της ευρωπαϊκής μαύρης πεύκης (*Pinus nigra*).

3 Αναπαραγωγή

Η μαύρη πεύκη είναι μόνικο, ανεμογαμές κωνοφόρο, με σπέρματα που φέρουν πτερύγιο και διασπείρονται με τον άνεμο. Η αναπαραγωγική ωριμότητα επέρχεται στην ηλικία των 15-20 χρόνων. Οι αρσενικοί και οι θηλυκοί στρόβιλοι (κωνίσκοι) (Εικόνα 2a) εμφανίζονται κάθε χρόνο κατά τη διάρκεια του Μαΐου. Οι θηλυκοί στρόβιλοι (κωνίσκοι) έχουν χρώμα από κόκκινο έως μωβ, ενώ οι ανώριμοι αρσενικοί στρόβιλοι έχουν χρώμα πράσινο, που σταδιακά μετατρέπεται σε κίτρινο όταν αυτοί ωριμάσουν και διασπείρουν τη γύρη τους. Η διασπορά γύρης και η δεκτικότητα των θηλυκών κωνίσκων παρατηρούνται από τον Μάιο έως τις αρχές Ιουνίου, ενώ η διάρκεια της δεκτικότητας των θηλυκών κωνίσκων διαρκεί συνήθως τρεις ημέρες [8]. Η γονιμοποίηση πραγματοποιείται 13 μήνες μετά την επικονίαση. Οι ώριμοι κώνοι (Εικόνα 2b) είναι απόδοσκοι και βρίσκονται σε οριζόντια θέση σε σχέση κλαδιά, έχουν μήκος 4-8 εκ., πλάτος 2-4 εκ. και χρώμα που κυμαίνεται από καφετί έως καφεκίτρινο ή ακόμα και ανοιχτό κίτρινο. Οι κώνοι ωριμάζουν από τον Σεπτέμβριο έως τον Νοέμβριο του δεύτερου έτους και ανοίγουν το τρίτο έτος μετά την επικονίαση [12]. Συνήθως, κάθε γόνιμο σπερμοβλαστικό λέπι φέρει δύο σπέρματα με πτερύγιο (Εικόνα 2c), οι δε κώνοι φέρουν συνολικά συνήθως από 30-40 σπέρματα από τα οποία βλαστάνουν περίπου τα μισά. Τα σπέρματα διασπείρονται από τον Οκτώβριο έως το Νοέμβριο της δεύτερης αυξητικής περιόδου. Το χρώμα των σπερμάτων μπορεί να κυμαίνεται από γκρι έως ανοιχτό κίτρινο, το μήκος σπέρματος είναι 5-7 χλστ. και το μήκος πτερυγίου 19-26 χλστ. Η πληροκαρπία συμβαίνει κάθε δύο έως πέντε έτη [13].

4 Περιβάλλον

Η *Pinus nigra* χαρακτηρίζεται από εκτεταμένη φυσική εξάπλωση (δηλ. σε όλη τη λεκάνη της Μεσογείου και περιοχές της Αυστρίας, της Κριμαίας και της Μαύρης Θάλασσας) που περιλαμβάνει μεγάλο εύρος περιβαλλόντων. Αναπτύσσεται σε υψόμετρα που κυμαίνονται μεταξύ 350μ. και 2200 μ. (οροσειρά του Ταύρου, Τουρκία), αλλά το βέλτιστο υψόμετρο για το είδος είναι μεταξύ 800μ. και 1500μ. Το είδος μπορεί να αναπτύσσεται σε ξηρά περιβάλλοντα με φτωχά εδάφη και σε μια ποικιλία εδαφικών υποστρωμάτων, που μπορεί να κυμαίνονται από



Εικόνα 2. Κλαδί της *Pinus nigra* με αρσενικούς κωνίσκους (a-1), ανώριμους θηλυκούς κώνους πρώτου έτους (a-2) και ανώριμους θηλυκούς κωνίσκους τρέχοντος έτους (a-3), ώριμος ανοιχτός κώνος (b) και σπέρματα με και χωρίς πτερύγιο (c).

ασβεστολιθικά έως δολομιτικά, όξινα ή ηφαιστειακά εδάφη [8]. Το μεγαλύτερο τμήμα της εξάπλωσης του είδους εμπίπτει στον Μεσογειακό τύπο κλίματος, ενώ οι βιοκλιματικές συνθήκες μπορεί να κυμαίνονται από υγρές, έως ύφυγρες και ημίξηρες. Σε τμήματα της φυσικής του εξάπλωσης το είδος φύεται σε δροσερά έως ψυχρά κλίματα, ενώ οι βόρειοι πληθυσμοί του είναι ανθεκτικοί στους παγετούς, καθώς αντέχουν θερμοκρασίες έως -30°C , σε αντίθεση με τους νότιους πληθυσμούς οι οποίοι αντέχουν θερμοκρασίες έως -7°C [2]. Διαδικασία φωτοσύνθεσης έχει καταγραφεί ακόμη και στους -5°C , ενώ η διαδικασία της αναπνοής ανιχνεύθηκε ακόμα και στους -19°C [2,14]. Επιπλέον, το είδος αντέχει το βάρος του πάγου στην κόμη του και γενικώς θεωρείται ανθεκτικό σε παγοθλασίες. Είναι φωτόφιλο είδος, δεν αντέχει στη σκιά, ενώ παρουσιάζει καλή ανθεκτικότητα σε ανέμους, ξηρασία και αλατώδη εδάφη.

5 Απειλές

Το είδος μπορεί να αντιμετωπίσει κινδύνους, ειδικότερα όταν αναπτύσσεται σε απομονωμένους πληθυσμούς, εξαιτίας διαφόρων παραγόντων που μπορεί να προκαλέσουν τον αφανισμό του, όπως οι ανεξέλεγκτες πυρκαγιές, τα έντομα και οι ασθένειες, οι παράνομες υλοτομίες και η κλιματική αλλαγή, που αποτελεί μια ευρύτερη απειλή. Έντομα όπως τα *Rhyacionia buoliana* Denis & Schiffermüller, *Thaumetopoea pityocampa* Denis & Schiffermüller, *Acantholyda hieroglyphica* Christ, *Diprion pini* L., *Pissodes validirostis* L., *Marchalina hellenica* (*Monophlebus hellenicus*) Gen., *Ips pini* Say και οι νηματώδεις του είδους *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhner) Nickle προσβάλλουν το είδος [8,15]. Μύκητες όπως οι *Mycosphaerella pini* Rostr. (*Dothistroma pini* Hulbary), *Lophodermella* spp., *Sphaeropsis sapinea* (Fr.) Dyko & B. Sutton (syn. *Diplodia pinea* (Desm.) J. Kickx f.) μπορούν επίσης να προσβάλλουν τις βελόνες της μαύρης πεύκης [16,17,18].

Επιπλέον, η μίξη γονιδιακών αποθεμάτων σε ολόκληρη την Ευρώπη, λόγω των εκτεταμένων φυτειών του είδους που εγκαταστάθηκαν κατά τους τελευταίους δύο αιώνες με γενετικό υλικό άγνωστης προέλευσης και δυνητικά μη καλά προσαρμοσμένου στις τοπικές συνθήκες, συνιστά απειλή για το γονιδιακό απόθεμα των αυτοφυών πληθυσμών [8], καθώς και για το δυναμικό προσαρμογής και εξέλιξής τους.

6 Ίδρυση επιφανειών και συντήρηση

Η μαύρη πεύκη είναι είδος που σχηματίζει συστάδες συνήθως αμιγείς, αλλά μπορεί επίσης να φύτεται σε μίξη με την *P. sylvestris* και άλλα είδη κωνοφόρων ή πλατύφυλλων δασικών ειδών [2]. Συνεπώς, η συνήθης μεθοδολογία γενετικής παρακολούθησης (ΓΠΔ) για δασικά είδη που σχηματίζουν συστάδες μπορεί να εφαρμοστεί και για τη μαύρη πεύκη.

Μια επιφάνεια γενετικής παρακολούθησης (FGM) αποτελείται από 50 αναπαραγωγικά ώριμα δέντρα (δηλ. δέντρα με αρσενικούς και θηλυκούς κώνισκους/κώνους), που επιλέγονται έτσι ώστε να πληρούν την προϋπόθεση της ύπαρξης απόστασης 30 μ. μεταξύ τους ανά δύο. Τα δέντρα φτάνουν το στάδιο της αναπαραγωγικής ωριμότητας στην ηλικία των 15-20 ετών στο φυσικό τους περιβάλλον [8]. Η στηθαία διάμετρος και κοινωνική κλάση του ατόμου εντός της συστάδας (Kraft's social class) μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μεταβλητές προσέγγισης και σύμφωνα με την εξειδικευμένη γνώση των δασολόγων της περιοχής, προκειμένου να εντοπιστούν δυνητικά αναπαραγωγικώς ώριμα άτομα στην περίπτωση που η επιφάνεια ιδρύεται εκτός της περιόδου ανθοφορίας. Επιπλέον, η ύπαρξη επαρκώς πυκνής φυσικής αναγέννησης (ΦΑ) θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν πριν από τον καθορισμό μιας επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης, για την περίπτωση που θα χρειαστεί να εγκατασταθούν υποεπιφάνειες ΦΑ για τη μελέτη των μοτίβων του συστήματος διασταύρωσης, της γονιδιακής ροής και του εύρους των δυνητικών μεταβολών της γενετικής ποικιλότητας μεταξύ διαφορετικών γενεών. Τα επιλεγμένα αναπαραγωγικώς ώριμα άτομα εντός της επιφάνειας σημαίνονται και καταγράφονται οι συντεταγμένες τους. Επιπροσθέτως, έως και 20 υποεπιφάνειες ΦΑ θα πρέπει να επιλεγούν και να οριοθετηθούν, προκειμένου να εκτιμηθεί η αφθονία της φυσικής αναγέννησης και να πραγματοποιηθούν δειγματοληψίες γενετικού υλικού.

Κατά τον χρόνο εγκατάστασης της επιφάνειας μπορεί να μετρηθεί η στηθαία διάμετρος των επιλεγμένων δέντρων, να ληφθούν δείγματα για εκχύλιση DNA και να αξιολογηθεί η ανθοφορία, σε περίπτωση που η επιφάνεια εγκαθίσταται εντός της περιόδου ανθοφορίας.

Απαραίτητος εξοπλισμός:

- Αποστασιόμετρο (συστήνονται επίσης ειδικά κιάλια για μέτρηση απόστασης)
- Πυξίδα
- Πινέλο και μπογιά ή μπογιά σε σπρέι για τη σήμανση των δέντρων
- Μάσκα, γυαλιά ασφαλείας και γάντια για τον ψεκασμό/σήμανση των δέντρων
- Παχύμετρο για την μέτρηση της στηθαίας διαμέτρου
- Συσκευή GPS υψηλής ακριβείας με δυνατότητα αποθήκευσης συντεταγμένων των δέντρων
- Φωτογραφική μηχανή για λήψη φωτογραφιών, σε περίπτωση που η εγκατάσταση της επιφάνειας πραγματοποιείται κατά την περίοδο της ανθοφορίας.

Οι επιφάνειες γενετικής παρακολούθησης σε περιπτώσεις απομονωμένων, οριακών ή απειλούμενων πληθυσμών του είδους μπορεί να έχουν μεγαλύτερο μέγεθος από το τυπικό. Σε αυτές τις περιπτώσεις, το σχήμα και το μέγεθος μιας επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης προσαρμόζεται αναλόγως, αλλά για πρακτικούς λόγους δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τα 10 εκτάρια.

6.1 Ίδρυση επιφάνειας

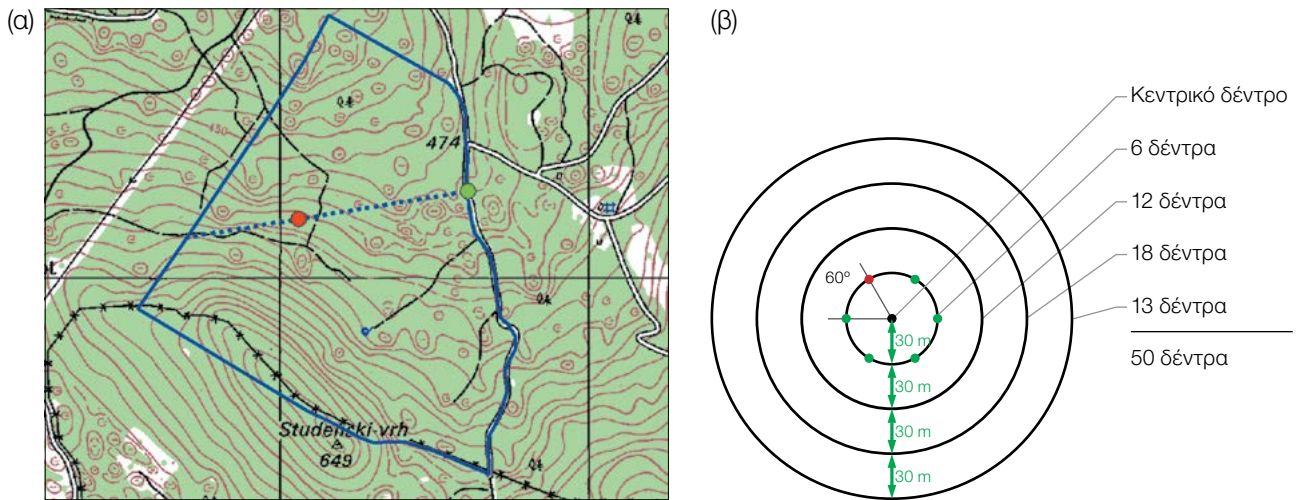
6.1.1 Επιλογή του κέντρου της επιφάνειας

Η γενική διαδικασία για τυχαία επιλογή επιφάνειας περιλαμβάνει τα παρακάτω βήματα (Εικόνα 3):

- Τυχαία επιλογή ενός σημείου στο χάρτη (πράσινη κουκκίδα) κατά μήκος δασικού δρόμου ή μονοπατιού που διατρέχει τη συστάδα,

- Σχεδίαση κάθετης ως προς τον ανωτέρω δρόμο (ή μονοπάτι) γραμμής στο τυχαίο σημείο που καθορίστηκε,
- Τυχαία επιλογή ενός σημείου επάνω στην κάθετη προς το δρόμο γραμμή (κόκκινη κουκκίδα) - το σημείο αυτό αποτελεί το κέντρο της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης.

Η ελάχιστη απόσταση μεταξύ του κέντρου της επιφάνειας που ορίσαμε και του ορίου της συστάδας πρέπει να είναι περίπου 150 μέτρα. Εάν δεν εκπληρώνεται η ανωτέρω προϋπόθεση, τότε επιλέγεται νέο σημείο που πληροί την ανωτέρω προϋπόθεση βάσει της παραπάνω περιγραφόμενης διαδικασίας.



Εικόνα 3: Τυχαία επιλογή του κέντρου της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης, (α) επιλογή δέντρων σε ομόκεντρους κύκλους που απέχουν μεταξύ τους 30 μέτρα και βρίσκονται γύρω από το κεντρικό σημείο (β).

Αντί της ανωτέρω διαδικασίας, μπορεί να χρησιμοποιηθεί κατάλληλο λογισμικό GIS που διαθέτει εργαλείο καθορισμού τυχαίων σημείων.

Οι συντεταγμένες των επιλεγμένων σημείων αποθηκεύονται σε συσκευή GPS, ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν στο πεδίο.

6.1.2 Ίδρυση επιφάνειας στο πεδίο

Το αναπαραγωγικά ώριμο δέντρο που βρίσκεται πλησιέστερα στο σημείο που ορίστηκε ως κέντρο της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης (Εικόνα 3) θεωρείται ως το κεντρικό δέντρο της επιφάνειας και σημαίνεται με τον αριθμό '1'.

Τα υπόλοιπα δέντρα επιλέγονται έτσι ώστε να βρίσκονται πάνω σε ομόκεντρους κύκλους περί το κεντρικό δέντρο. Η ακτίνα του πρώτου κύκλου γύρω από το κεντρικό δέντρο, όπως και η διαφορά των ακτινών μεταξύ διαδοχικών ομόκεντρων κύκλων είναι 30 μέτρα (Εικόνα 3b). Το πρώτο δέντρο σε κάθε κύκλο επιλέγεται τυχαία με ένα από τους παρακάτω τρόπους: α) χρήση τυχαίου αζιμούθιου (όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 1), β) ακολουθώντας την κατεύθυνση του μικρού δείκτη ενός ρολογιού ή οποιαδήποτε άλλη προσέγγιση που διασφαλίζει την αντικειμενική επιλογή. Τα υπόλοιπα δέντρα του κύκλου επιλέγονται αυξάνοντας ανάλογα το αζιμούθιο ώστε να πληρείται η συνθήκη της ελάχιστης απόστασης των 30 μέτρων μεταξύ οποιονδήποτε 2 δέντρων:

- +60° για τον πρώτο κύκλο
- +30° για τον δεύτερο κύκλο
- +20° για τον τρίτο κύκλο
- +15° για τον τέταρτο κύκλο

Εάν δεν είναι εφικτή η επιλογή αντίστοιχα 6, 12 και 18 δέντρων σε κάθε έναν από τους 3 εσωτερικούς κύκλους (Εικόνα 3), μπορούν να επιλεγούν επιπλέον δέντρα στους εξωτερικούς κύκλους.

Πίνακας 1: Τυχαία αζιμούθια για την επιλογή του πρώτου δέντρου σε κάθε κύκλο.

108	15	186	35	178	29	305	351	44	150
232	23	160	141	112	292	216	83	245	214
63	65	345	234	95	78	279	323	40	236
201	313	275	144	182	68	268	289	185	92
356	177	93	1	145	198	287	251	224	142

Στην περίπτωση που το κεντρικό δέντρο δεν είναι ορατό λόγω εμποδίων (π.χ. άλλα δέντρα καλύπτουν το κεντρικό δέντρο) ή τοπογραφίας, τότε η επιλογή των δέντρων βασίζεται κυρίως στην ελάχιστη απόσταση ($\geq 30\mu$) από τα υπόλοιπα επιλεγμένα άτομα, ενώ η σχετική θέση του κεντρικού δέντρου μπορεί να εκτιμάται λαμβάνοντας υπόψη τη θέση των επιλεγμένων δέντρων των προηγούμενων κύκλων ή σημαίνοντας τις συντεταγμένες τους σε ανοιχτές πλατφόρμες σχεδίασης/απεικόνισης γης (π.χ. Google Maps/Earth).

6.1.3 Σήμανση δέντρων

Κάθε επιλεγμένο δέντρο σημαίνεται με ένα συγκεκριμένο αριθμό και μία γραμμή περιμετρικά του κορμού ώστε να είναι ορατό από κάθε πλευρά. Το κεντρικό δέντρο (νούμερο 1) σημαίνεται με μία ή περισσότερες γραμμές ώστε να διαφοροποιείται από τα υπόλοιπα δέντρα (Εικόνα 4α). Συστήνεται επίσης η σήμανση των δέντρων στην πλευρά που αποκλίνει από το κεντρικό δέντρο, καθώς αυτό βοηθά στον εντοπισμό του κεντρικού δέντρου, ιδιαίτερα από τους εξωτερικούς ομόκεντρους κύκλους της επιφάνειας (Εικόνα 4β).



Εικόνα 4α. Το κεντρικό δέντρο της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης έχει σημαθεί με πολλαπλές γραμμές ώστε να διακρίνεται από τα άλλα δέντρα (παράδειγμα επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης της ευρωπαϊκής οξυάς), β). Η σήμανση με αριθμούς των υπόλοιπων δέντρων πραγματοποιείται σε αποκλίνουσα προς το κεντρικό δέντρο κατεύθυνση.

6.2 Ίδρυση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης

Η ίδρυση υποεπιφανειών (έως και 20) φυσικής αναγέννησης (ΦΑ) πρέπει να βασίζεται σε φυτάρια που προήλθαν από σπέρματα τα οποία προέκυψαν από μια χρονιά πληροκαρπίας.

Τα κέντρα φυσικής αναγέννησης που προέκυψαν από την τελευταία χρονιά πληροκαρπίας αναζητώνται στο πεδίο και η θέση τους σημαίνεται (συντεταγμένες με GPS, αριθμός κοντινότερου επιλεγμένου δέντρου που βρίσκεται δίπλα στο κέντρο ΦΑ). Σε περίπτωση που έχουν εντοπιστεί περισσότερα από 20 κέντρα αναγέννησης τότε σημαίνονται όλα και επιλέγονται τυχαία 20 από αυτά. Εάν έχουν εντοπιστεί 20 ή και λιγότερα κέντρα φυσικής αναγέννησης, τότε συμπεριλαμβάνονται όλα.

Εντός κάθε κέντρου φυσικής αναγέννησης ορίζεται και οριοθετείται με μεταλλικές ράβδους μία επιφάνεια 1 m². Οι μεταλλικές ράβδοι βυθίζονται στο έδαφος σε κάθε γωνία της υποεπιφάνειας και σε όσο το δυνατόν μεγαλύτερο βάθος, ώστε να αποτραπεί η αφαίρεσή τους από ζώα. Οι ελεύθερες άνω άκρες των ράβδων βάζονται έτσι ώστε να είναι εύκολα ορατές.

6.3 Συντήρηση επιφανειών

6.3.1 Γενική συντήρηση

Οι σημάνσεις και οι αριθμήσεις των δέντρων πρέπει ελέγχονται περιοδικά (κατά προτίμηση κάθε δύο χρόνια), έτσι ώστε να είναι δυνατή η επιδιόρθωσή τους, όπου αυτό είναι απαραίτητο.

6.3.2 Αντικατάσταση δέντρων

Εάν κάποιο επιλεγμένο για γενετική παρακολούθηση άτομο νεκρωθεί ή υλοτομηθεί για λόγους διαχείρισης, τότε πρέπει να αντικατασταθεί. Το κοντινότερο κατάλληλο δέντρο σε σχέση με το δέντρο που νεκρώθηκε/υλοτομήθηκε πρέπει να επιλεγεί, λαμβάνοντας υπόψη ότι πρέπει να ικανοποιείται η προϋπόθεση της ύπαρξης απόστασης 30μ. από το κοντινότερο επιλεγμένο δέντρο που παρακολουθείται. Διαφορετικά, θα πρέπει να επιλέγεται ένα δέντρο στην περιφέρεια της επιφάνειας παρακολούθησης (κατά προτίμηση στον εξωτερικό κύκλο). Το δέντρο αντικατάστασης λαμβάνει τον επόμενο διαθέσιμο αριθμό μετά το 50 λ.χ. 51, 52, 53 κ.ο.κ. ώστε να διαφοροποιείται από τα αρχικά επιλεγμένα 50 άτομα.

Εάν η κόμη ενός επιλεγμένου δέντρου πληγεί εξαιτίας π.χ. ανεμοθύελλας, παγοθύελλας ή χιονοθύελλας, αλλά το δέντρο εντούτοις συνεχίζει να καρποφορεί, τότε διατηρείται ως επιλεγμένο δέντρο και συνεχίζεται η παρακολούθησή του. Εάν η καταστροφή είναι τέτοιας έκτασης ώστε να μην αναμένεται μελλοντική καρποφορία του δέντρου τότε αυτό θα πρέπει να αντικατασταθεί. Η αιτία πρόκλησης των βλαβών θα πρέπει να καταγράφεται, καθώς οι βλάβες μπορεί να επηρεάσουν τις τιμές που καταγράφονται για τις παραμέτρους που λειτουργούν ως επαληθευτές και ως βασικές πληροφορίες.

7 Καταγραφή επαληθευτών και επιπλέον πληροφοριών

Οι επαληθευτές και οι επιπλέον πληροφορίες καταγράφονται περιοδικά στην επιφάνεια γενετικής παρακολούθησης. Οι επαληθευτές χρησιμοποιούνται για την παρακολούθηση των γενετικών ιδιοτήτων ενός πληθυσμού και της προσαρμογής του σε περιβαλλοντικές αλλαγές ή/και διαχειριστικές μεθόδους, ενώ οι επιπλέον πληροφορίες καταγράφονται ώστε να συμβάλλουν στην ερμηνεία των επαληθευτών.

Υψηλού επιπέδου επαληθευτές (τυπικοί, προχωρημένου επιπέδου) πρέπει επίσης να περιλαμβάνουν καταγραφή των επαληθευτών χαμηλότερων επιπέδων (βασικοί, τυπικοί). Το ανωτέρω δεν ισχύει για την καταγραφή των επιπλέον πληροφοριών.

Πίνακας 2: Κατάλογος επαληθευτών και επιπλέον πληροφοριών, σύντομη περιγραφή τους και συχνότητα καταγραφής κατά τη διάρκεια εργασιών πεδίου σε επιφάνειες γενετικής παρακολούθησης μαύρης πεύκης.

Όνομα	Βασικό επίπεδο	Τυπικό επίπεδο	Προχωρημένο επίπεδο
Θνησιμότητα / επιβίωση	Ενήλικα άτομα: Μέτρηση υφιστάμενων επιλεγμένων δέντρων κάθε 10 χρόνια και μετά από κάθε ακραίο καιρικό φαινόμενο/διαταραχή	Το ίδιο με το βασικό	Το ίδιο με το βασικό
	Φυσική αναγέννηση: /	Καταμέτρηση υφιστάμενων φυταρίων στις υποεπιφάνειες φυσικής αναγέννησης, δύο φορές ανά δεκαετία	Όπως στο τυπικό επίπεδο
Ανθοφορία	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας σε ετήσια βάση	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κατά τη διάρκεια δύο γεγονότων μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία, ιδανικά ισαπεχόντων χρονικά μεταξύ τους*	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κατά τη διάρκεια δύο γεγονότων μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία, ιδανικά ισαπεχόντων χρονικά μεταξύ τους*
Καρποφορία	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας σε ετήσια βάση	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, τα ίδια έτη αξιολόγησης με την ανθοφορία στο τυπικό επίπεδο (ανεξάρτητα από το βαθμό καρποφορίας)*	Καταμέτρηση κώνων (κώνων), τα ίδια έτη αξιολόγησης με την ανθοφορία στο προχωρημένο επίπεδο, ανεξάρτητα από το βαθμό καρποφορίας* Συλλέγονται επίσης σπέρματα για εργαστηριακές για καρποφορία που αξιολογείται
Επαληθευτές Αφθονία φυσικής αναγέννησης	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας σε ετήσια βάση	Καταμέτρηση των φυταρίων το 1 ^ο και το 6 ^ο έτος μετά από κάθε αξιολογημένη καρποφορία	Καταμέτρηση των φυταρίων το 1 ^ο , 6 ^ο , 11 ^ο και 16 ^ο έτος μετά από κάθε αξιολογημένη καρποφορία
Επιπλέον πληροφορίες Κατανομή κλάσεων διαμέτρου	/	Μέτρηση κάθε 10 έτη	Όπως στο τυπικό επίπεδο
	/	Μέτρηση κάθε 10 έτη	Όπως στο τυπικό επίπεδο
	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου κάθε 5 έτη	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, ετησίως
Επιπλέον πληροφορίες Συγχρονισμός ανθοφορίας	/	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κατά τη διάρκεια κάθε αξιολογούμενης μαζικής ανθοφορίας

* Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος μαζικής ανθοφορίας πρέπει να αξιολογείται ανά δεκαετία. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δε οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε την επόμενη περίοδο ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου και η ανθοφορία και η πληροκαρπία, ανεξάρτητα του χρόνου που έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών περιόδων. Το βασικό επίπεδο παρατήρησης χρησιμοποιείται για την αναγνώριση των περιόδων ανθοφορίας και πληροκαρπίας.

7.1 Πρωτόκολλα για την καταγραφή επαληθευτών

7.1.1 Θνησιμότητα / επιβίωση

Ο επαληθευτής της θνησιμότητας αφορά τη θνησιμότητα (%) τόσο των ώριμων ατόμων, όσο και της φυσικής αναγέννησης. Ο επαληθευτής της επιβίωσης (%) εκτιμάται βάσει των ατόμων που βρίσκονται ακόμη εν ζωή σε σχέση με την προηγούμενη αξιολόγηση. Η επιβίωση υπολογίζεται ως: 1- Θνησιμότητα.

7.1.1.1 Ενήλικα άτομα: Βασικό, τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής για τη θνησιμότητα των ώριμων ατόμων εκτιμάται με καταμέτρηση των ζώντων επιλεγμένων και σημασμένων/αριθμημένων δέντρων κάθε 10 έτη, όπως επίσης και μετά από ακραία καιρικά φαινόμενα ή καιρικές

διαταραχές. Η θνησιμότητα υπολογίζεται ως η διαφορά μεταξύ του αρχικού αριθμού των 50 επιλεγμένων και σημασμένων δέντρων και του αριθμού των εναπομεινάντων ζώντων δέντρων από τα 50 αρχικώς επιλεγμένα.

7.1.1.2 Φυσική αναγέννηση: Βασικό, τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Η θνησιμότητα της φυσικής αναγέννησης υπολογίζεται από τον επαληθευτή 'Αφθονία της φυσικής αναγέννησης' όπως αυτός προκύπτει μεταξύ δύο διαδοχικών αξιολογήσεων (πραγματοποιούνται δύο φορές ανά δεκαετία, ιδανικά κάθε 5 έτη).

7.1.2 Ανθοφορία

Ο συγκεκριμένος επαληθευτής περιγράφει την ένταση της ανθοφορίας και το ποσοστό των δέντρων που ανθοφορούν. Συνήθως μπορεί να καταγραφεί από τα τέλη Απριλίου έως τις αρχές Ιουνίου.

7.1.2.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κάθε έτος σε επίπεδο συστάδας. Η καταγραφή γίνεται όταν η ανθοφορία είναι σε πλήρη εξέλιξη. Η εκτίμηση της μέσης κατάστασης επιτυγχάνεται με περιήγηση εντός της επιφάνειας παρακολούθησης. Δίδονται δύο τιμές, μία για την ένταση ανθοφορίας και μια για το ποσοστό των ατόμων που ανθοφορούν με ανωτέρω ένταση ανθοφορίας στη συστάδα.

Κωδικός	Ένταση ανθοφορίας σε επίπεδο συστάδας	Μέσο ποσοστό της κόμης που ανθοφορεί (%)
1	Χωρίς ανθοφορία: Καθόλου άνθη ή μόνο περιστασιακή εμφάνιση ανθέων στα δέντρα.	0 – 10
2	Μικρή ανθοφορία: Μερικά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα.	> 10 – 30
3	Μέτρια ανθοφορία: Μέτριος αριθμός ανθέων εμφανίζεται στα δέντρα.	> 30 – 60
4	Μεγάλη ανθοφορία: Άφθονα άνθη στα δέντρα.	> 60 – 90
5	Μαζική ανθοφορία: Τεράστιος αριθμός ανθέων στα δέντρα.	> 90

Κωδικός	Ποσοστό δέντρων της συστάδας που ανθοφορούν με τη δεδομένη ένταση ανθοφορίας(%)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

7.1.2.2. Τυπικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κατά τη διάρκεια δύο περιόδων μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία, ιδανικά ισοπέχουσες χρονικά μεταξύ τους. Καταγράφεται σε επίπεδο ατομικού δέντρου σε κάθε ένα από τα 50 επιλεγμένα και παρακολουθούμενα άτομα. Μαζική ανθοφορία θεωρείται ότι συμβαίνει όταν στο βασικό επίπεδο αξιολόγησης η ένταση ανθοφορίας είναι υψηλή ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και το ποσοστό των δέντρων που ανθοφορούν με την ανωτέρω ένταση είναι άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5). Η καταγραφή γίνεται όταν η ανθοφορία είναι σε πλήρη εξέλιξη. Για κάθε δέντρο δίνεται μία τιμή.

Κωδικός	Περιγραφή	Ποσοστό της κόμης που ανθοφορεί (%)
1	Χωρίς ανθοφορία: Καθόλου άνθη ή μόνο περιστασιακή εμφάνιση ανθέων στα δέντρα.	0 – 10
2	Μικρή ανθοφορία: Μερικά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα.	> 10 – 30
3	Μέτρια ανθοφορία: Μέτριος αριθμός ανθέων εμφανίζεται στα δέντρα.	> 30 – 60
4	Μεγάλη ανθοφορία: Άφθονα άνθη στα δέντρα.	> 60 – 90
5	Μαζική ανθοφορία: Τεράστιος αριθμός ανθέων στα δέντρα.	> 90

7.1.2.3. Προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κατά τη διάρκεια δύο περιόδων μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία, ιδανικά ισαπέχουσες χρονικά μεταξύ τους. Καταγράφεται σε επίπεδο ατομικού δέντρου για κάθε ένα από τα 50 επιλεγμένα/παρακολουθούμενα άτομα. Μαζική ανθοφορία θεωρείται ότι συμβαίνει όταν στο βασικό επίπεδο αξιολόγησης η ένταση ανθοφορίας είναι υψηλή ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και το ποσοστό των δέντρων που ανθοφορούν με την ανωτέρω ένταση είναι άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5). Χρειάζονται κατά μέσο όρο δύο επισκέψεις στην επιφάνεια παρακολούθησης, η πρώτη αρκετά νωρίς ώστε να παρατηρηθούν τα πρώιμα στάδια της ανθοφορίας και η δεύτερη όταν πλέον η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη.

Τρεις τιμές καταγράφονται για κάθε δέντρο: το στάδιο ανθοφορίας θηλυκών και αρσενικών ανθέων [5] και το ποσοστό της κόμης που ανθοφορεί. Η τελευταία τιμή αφορά το σύνολο των ανθέων (θηλυκά και αρσενικά) στο δέντρο. Δείτε στην Εικόνα 5 την γραφική απεικόνιση των σταδίων ανθοφορίας.

Ένα μεγάλο γεγονός ανθοφορίας δεν οδηγεί απαραίτητα και σε μεγάλη καρποφορία. Εάν μια μεγάλη ανθοφορία δεν ακολουθείται από μεγάλη καρποφορία τότε θα πρέπει να επαναληφθεί η αξιολόγηση τόσο της ανθοφορίας, όσο και της καρποφορίας κατά το επόμενο γεγονός μεγάλης/μαζικής ανθοφορίας. Οι παρατηρήσεις βασικού επιπέδου χρησιμοποιούνται για τον εντοπισμό γεγονότων μεγάλης ανθοφορίας και καρποφορίας.

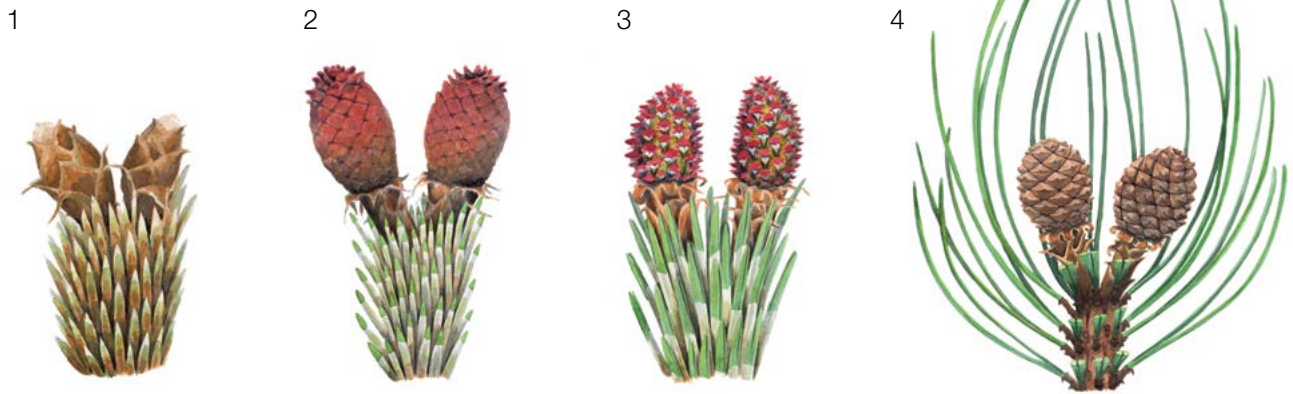
Κωδικός	Φαινολογικά στάδια θηλυκών κωνίσκων
1	Οι θηλυκοί οφθαλμοί ανθοφορίας είναι ορατοί στην κορυφή του βλαστού, αλλά τα λέπια καλύπτουν εντελώς τον θηλυκό κωνίσκο.
2	Ανοίγει η κορυφή του κυλινδρικού κωνίσκου και εμφανίζονται τα πρώτα σπερμοβλαστικά λέπια.
3	Τα σπερμοβλαστικά λέπια του θηλυκού κωνίσκου διαχωρίζονται και σχηματίζουν σχεδόν ορθή γωνία με τον άξονα του κωνίσκου (δεκτικότητα 100%).
4	Τα σπερμοβλαστικά λέπια των κωνίσκων είναι κλειστά.

Κωδικός	Φαινολογικά στάδια αρσενικών στρόβιλων
1	Οι αρσενικοί στρόβιλοι αναπτύσσονται, αλλά περιβάλλονται ακόμη από περίβλημα.
2	Τα μικροσποριάγγεια είναι χαλαρά, και όταν ο στρόβιλος πιεστεί απελευθερώνει πράσινο έως κίτρινο υγρό.
3	Οι στρόβιλοι έχουν κίτρινο χρώμα και απελευθερώνουν τη γύρη.

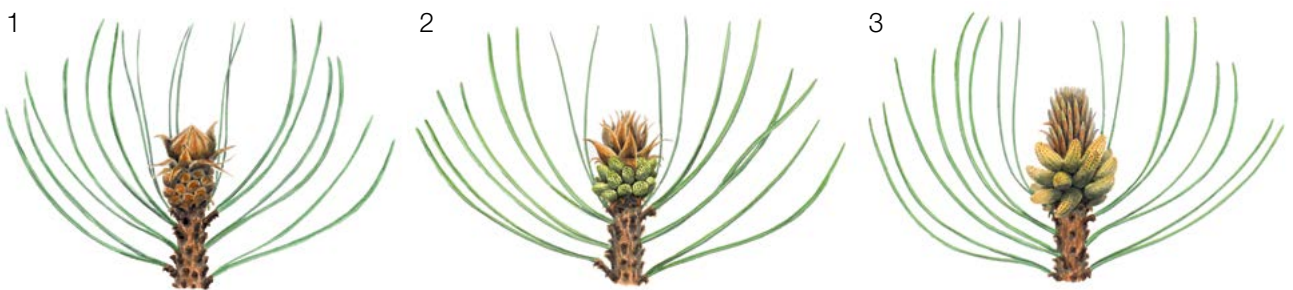
Κωδικός	Ποσοστό της κόμης που ανθοφορεί (% αρσενική και θηλυκή ανθοφορία μαζί)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

Οι επιπλέον πληροφορίες για τον Συγχρονισμό της ανθοφορίας μπορούν να προκύψουν από την καταγραφή των φαινολογικών σταδίων θηλυκής και αρσενικής ανθοφορίας που καταγράφηκαν σε αυτόν τον επαληθευτή.

(a)



(b)



Εικόνα 5: Φωτογραφικός οδηγός για την περιγραφή των σταδίων ανθοφορίας της *Pinus nigra* (a) για τους θηλυκούς κωνίσκους και (b) για τα αρσενικούς στροβίλους, που αφορά τον επαληθευτή Ανθοφορία για το προχωρημένο επίπεδο παρακολούθησης.

7.1.3. Καρποφορία

Ο συγκεκριμένος επαληθευτής αφορά την καρποφορία και την αφθονία αυτής για την *Pinus nigra*. Δεδομένα για αυτόν τον επαληθευτή συλλέγονται κατά τη διάρκεια της καρποφορίας, κατά το διάστημα Σεπτέμβριος – Νοέμβριος. Πρέπει να σημειωθεί εδώ ότι οι κώνοι του είδους ωριμάζουν το δεύτερο φθινόπωρο μετά την ανθοφορία.

7.1.3.1. Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κάθε έτος σε επίπεδο συστάδας. Η εκτίμηση της μέσης κατάστασης επιτυγχάνεται με περιήγηση μέσα στην επιφάνεια παρακολούθησης. Δίδονται δύο τιμές, μία για την ένταση της καρποφορίας και μία για το ποσοστό των ατόμων που καρποφορούν στην δεδομένη ένταση καρποφορίας.

Κωδικός	Ένταση καρποφορίας στο βασικό επίπεδο	Ποσοστό της κόμης που καρποφορεί (%)
1	Χωρίς καρποφορία: Καθόλου κώνοι ή με περιστασιακή εμφάνιση κώνων στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρή καρποφορία: Μερικοί μόνο κώνοι υπάρχουν στα δέντρα.	> 10 – 30
3	Μέτρια καρποφορία: Μέτριος αριθμός κώνων υπάρχει στα δέντρα	> 30 – 60
4	Μεγάλη καρποφορία: Άφθονοι κώνοι στα δέντρα	> 60 – 90
5	Μαζική καρποφορία: Πολύ μεγάλος αριθμός κώνων στο δέντρα	> 90

Κωδικός	Ποσοστό δέντρων στη συστάδα για τη δεδομένη ένταση καρποφορίας (%)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

7.1.3.2. Τυπικό επίπεδο

Ο επαληθευτής πρέπει να καταγράφεται κατά το δεύτερο φθινόπωρο (Σεπτέμβριο/Νοέμβριο) μετά την καταγραφή/αξιολόγηση της ανθοφορίας στο τυπικό επίπεδο (ανεξάρτητα από την ένταση της καρποφορίας). Η καταγραφή πραγματοποιείται σε επίπεδο ατομικού δέντρου και για τα 50 παρακολουθούμενα δέντρα. Η καταγραφή γίνεται πριν οι ώριμοι κώνοι απελευθερώσουν τα σπέρματά τους και αρχίσουν να πέφτουν από το δέντρο. Για κάθε ατομικό δέντρο δίδεται μία τιμή.

Ιδανικά, τουλάχιστον ένα γεγονός μαζικής καρποφορίας θα πρέπει να μπορεί να αξιολογηθεί μετά από παρατηρούμενα γεγονότα μαζικής ανθοφορίας σε κάθε δεκαετία. Ωστόσο, ένα γεγονός μαζικής ανθοφορίας δεν οδηγεί πάντοτε σε μαζική καρποφορία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία δεν ακολουθήσει μαζική καρποφορία, τότε τόσο η ανθοφορία όσο και η καρποφορία θα πρέπει να επαναξιολογηθούν όταν συμβεί το επόμενο γεγονός μαζικής ανθοφορίας, ανεξαρτήτως του χρόνου που μπορεί να έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών γεγονότων μαζικής ανθοφορίας. Η αναγνώριση γεγονότων μαζικής καρποφορίας εδράζεται στις παρατηρήσεις που προκύπτουν από το βασικό επίπεδο αξιολόγησης. Μαζική καρποφορία στο βασικό επίπεδο θεωρείται ότι συμβαίνει όταν η ένταση καρποφορίας είναι μεγάλη ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και το ποσοστό των δέντρων που εμπίπτει στη δεδομένη ένταση καρποφορίας είναι άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5).

Κωδικός	Ένταση καρποφορίας	Ποσοστό της κόμης που καρποφορεί (%)
1	Χωρίς καρποφορία: Καθόλου κώνοι ή με περιστασιακή εμφάνιση καρπών/κώνων στο δέντρο	0 – 10
2	Μικρή καρποφορία: Μερικοί μόνο κώνοι υπάρχουν στο δέντρο	> 10 – 30
3	Μέτρια καρποφορία: Μέτριος αριθμός κώνων υπάρχει στο δέντρο	> 30 – 60
4	Μεγάλη καρποφορία: Άφθονοι κώνοι στο δέντρο	> 60 – 90
5	Μαζική καρποφορία: Πολύ μεγάλος αριθμός κώνων στο δέντρο	> 90

7.1.3.3. Προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται σε επίπεδο ατομικού δέντρου και για τα 50 επιλεγμένα δέντρα που παρακολουθούνται, κατά τον δεύτερο χρόνο (το δεύτερο φθινόπωρο) μετά την αξιολόγηση της ανθοφορίας σε προχωρημένο επίπεδο και ανεξάρτητα από την ένταση της καρποφορίας. Η καταγραφή γίνεται πριν ανοίξουν οι ώριμοι κώνοι και διασπαρούν τα σπέρματα. Σε κάθε δέντρο δίδεται μια τιμή. Ταυτόχρονα, πραγματοποιείται συλλογή σπερμάτων για γενετική ανάλυση και εκτίμηση παραμέτρων που αφορούν τα σπέρματα, για καταγραφές τόσο επαληθευτών σε προχωρημένο επίπεδο, όσο και επιπλέον πληροφοριών.

Ιδανικά, τουλάχιστον ένα γεγονός μαζικής καρποφορίας (πληροκαρπίας) θα πρέπει να μπορεί να αξιολογηθεί μετά από γεγονότα μαζικής ανθοφορίας που μπορεί να παρατηρούνται σε κάθε δεκαετία. Ωστόσο, ένα γεγονός μαζικής ανθοφορίας δεν οδηγεί πάντοτε σε μαζική καρποφορία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε τόσο η ανθοφορία όσο και η καρποφορία θα πρέπει να επαναξιολογηθούν όταν συμβεί το επόμενο γεγονός μαζικής ανθοφορίας, ανεξαρτήτως του χρόνου που μπορεί να έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών γεγονότων μαζικής ανθοφορίας. Η αναγνώριση γεγονότων πληροκαρπίας εδράζεται στις παρατηρήσεις που προκύπτουν από το βασικό επίπεδο αξιολόγησης. Πληροκαρπία στο βασικό επίπεδο

θεωρείται ότι συμβαίνει όταν η ένταση καρποφορίας είναι μεγάλη ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και το ποσοστό των δέντρων που εμπίπτει στη δεδομένη ένταση καρποφορίας είναι άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5).

Ο επαληθευτής καταγράφεται μέσω μέτρησης των ώριμων κώνων με κιάλια. Συγκεκριμένα, καταγράφεται ο μέσος όρος που προκύπτει από τρεις επαναλήψεις καταμέτρησης κώνων. Κάθε επανάληψη καταμέτρησης αφορά τον αριθμό των ώριμων κώνων που ο παρατηρητής μετρά σε 30 δευτερόλεπτα. Σε όλα τα δέντρα οι καταμετρήσεις των κώνων πραγματοποιούνται στο ίδιο τμήμα της κόμης. Από τη στιγμή που θα επιλεγεί το τμήμα της κόμης που θα καταμετρώνται οι κώνοι, στο ίδιο αυτό τμήμα θα πρέπει να πραγματοποιείται η καταμέτρηση και σε κάθε επόμενη παρακολούθηση του συγκεκριμένου επαληθευτή. Το ανώτερο ένα τρίτο της κόμης προτιμάται σε σχέση με το μέσο και το κατώτερο τμήμα της για την καταμέτρηση των κώνων.

Καταγράφονται δύο τιμές: ο αριθμός των ώριμων κώνων και το τμήμα της κόμης που έγινε η καταμέτρησή τους.

Αριθμός κώνων που καταμετρήθηκαν σε 30 δευτερόλεπτα (μέσος όρος τριών κύκλων μέτρησης)

X

Κωδικός Τμήμα της κόμης που εξετάστηκε

- | | |
|---|----------|
| 1 | Κατώτερο |
| 2 | Μέσο |
| 3 | Ανώτερο |

7.1.4 Αφθονία φυσικής αναγέννησης

Ο επαληθευτής περιγράφει την παρουσία και την αφθονία της φυσικής αναγέννησης (ΦΑ) στην επιφάνεια παρακολούθησης.

7.1.4.1. Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται σε επίπεδο συστάδας κάθε χρόνο κατά τη διάρκεια του φθινοπώρου. Για την εκτίμηση της κατάστασης σε όλη την επιφάνεια παρακολούθησης λαμβάνεται υπόψιν η άποψη των τοπικών δασολόγων. Δύο τιμές θα πρέπει να καταγράφονται, μία για την νέα φυσική αναγέννηση (φυτάρια της τρέχουσας χρονιάς) και μία για την ήδη εγκατεστημένη αναγέννηση (δενδρύλλια μεγαλύτερα του ενός έτους). Δεδομένου ότι πληροκαρπία στην *Pinus nigra* συμβαίνει συνήθως κάθε 3 έως 5 χρόνια, η αξιολόγηση της εγκατάστασης νέας ΦΑ πρέπει να εκτιμάται το καλοκαίρι/ φθινόπωρο που ακολουθεί τον χρόνο πληροκαρπίας.

Κωδικός Περιγραφή: νέα φυσική αναγέννηση (φυτάρια της τρέχουσας χρονιάς)

- | | |
|----|--|
| 1a | Καθόλου ή ελάχιστη νέα φυσική αναγέννηση στην επιφάνεια παρακολούθησης. |
| 2a | Υπάρχει ικανός αριθμός φυταρίων νέας φυσικής αναγέννησης στην επιφάνεια παρακολούθησης |

Κωδικός Περιγραφή: εγκατεστημένη φυσική αναγέννηση (δενδρύλλια)

- | | |
|----|---|
| 1b | Έλλειψη εγκατεστημένης φυσικής αναγέννησης ή ύπαρξή της σε μικρό βαθμό στην επιφάνεια παρακολούθησης. |
| 2b | Εγκατεστημένη φυσική αναγέννηση σε ικανοποιητικό βαθμό στην επιφάνεια παρακολούθησης. |

7.1.4.2. Τυπικό επίπεδο

Η καταγραφή του επαληθευτή πραγματοποιείται μέσω της μέτρησης των φυταρίων/δενδρυλλίων κατά το 1^ο φθινόπωρο μετά από κάθε γεγονός καρποφορίας που αξιολογήθηκε (το έτος καρποφορίας θεωρείται ως έτος 0) και κατά το 6^ο φθινόπωρο μετά το γεγονός καρποφορίας.

Καταμέτρηση φυταρίων:

Μετά την εγκατάσταση των υποεπιφανειών της ΦΑ, όλα τα φυτάρια της *Pinus nigra* σε καθμία από τις 20 υποεπιφάνειες ΦΑ πρέπει να καταμετρηθούν. Μεγαλύτερα σε ηλικία δενδρύλλια μαύρης πεύκης που υπάρχουν στην υποεπιφάνεια δεν πρέπει να καταμετρώνται. Στην επόμενη περίοδο καταμέτρησης, λαμβάνονται υπόψιν μόνο δενδρύλλια που βρίσκονται στην κατάλληλη ηλικία – π.χ. κατά το 6^ο έτος καταμετρώνται δενδρύλλια 5 ετών.

Αριθμός σπορόφυτων ανά υποεπιφάνεια

X

Η θνησιμότητα/επιβίωση της φυσικής αναγέννησης υπολογίζεται από τις τιμές που καταγράφονται για αυτόν τον επαληθευτή.

Για την εγκατάσταση υποεπιφανειών, δείτε στην ενότητα 6.2 'Εγκατάσταση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης'.

7.1.4.3. Προχωρημένο επίπεδο

Η καταγραφή του επαληθευτή πραγματοποιείται μέσω της μέτρησης των φυταρίων κατά το 1^ο φθινόπωρο μετά από κάθε γεγονός καρποφορίας που αξιολογήθηκε (το έτος καρποφορίας θεωρείται ως έτος 0) και έπειτα των δενδρυλλίων κατά το 6^ο, 11^ο, 16^ο φθινόπωρο μετά το γεγονός καρποφορίας. Η επόμενη περίοδος παρακολούθησης της αφθονίας της φυσικής αναγέννησης (δημιουργία 20 νέων υποπεριοχών ΦΑ και εκτίμηση της αφθονίας της ΦΑ) πραγματοποιείται μετά το πρώτο γεγονός μαζικής καρποφορίας το οποίο θα συμβεί τουλάχιστον 5 χρόνια μετά από το προηγούμενο γεγονός μαζικής καρποφορίας (βλ. Πίνακα 3 για μια γραφική αναπαράσταση του χρονοδιαγράμματος αξιολόγησης της ΦΑ). Αναμένεται αξιολόγηση της αφθονίας της ΦΑ μετά από ένα ή δύο γεγονότα μαζικής καρποφορίας εντός της κάθε περιόδου παρακολούθησης.

Πίνακας 3: Χρονοδιάγραμμα για την εκτίμηση της αφθονίας της φυσικής αναγέννησης (ΦΑ). Σε αυτό το παράδειγμα, το πρώτο γεγονός μαζικής καρποφορίας (πληροκαρπίας) συμβαίνει το δεύτερο έτος της δεκαετίας γενετικής παρακολούθησης και το δεύτερο γεγονός μαζικής καρποφορίας αξιολογείται πέντε χρόνια αργότερα, δηλ. κατά το 7^ο έτος παρακολούθησης. Επειδή η πληροκαρπία της *Pinus nigra* συμβαίνει κάθε 3 με 5 χρόνια, το διάστημα μεταξύ οποιονδήποτε δύο διαδοχικών γεγονότων πληροκαρπίας μπορεί να διαφέρει ανάλογα. Είκοσι νέες υποεπιφάνειες ΦΑ εγκαθίστανται μετά από κάθε περίοδο μαζικής καρποφορίας που αξιολογείται. Η παρακολούθηση της αφθονίας ΦΑ στην κάθε ομάδα που αποτελείται από 20 υποεπιφάνειες πραγματοποιείται κάθε 5 έτη. Τα γεγονότα μαζικής καρποφορίας που αντιστοιχούν στην εκτιμώμενη αφθονία ΦΑ και τα χρονοδιαγράμματα αξιολόγησης φέρουν τον ίδιο χρωματισμό. Μετά την τελευταία περίοδο καταμέτρησης δενδρυλλίων, η παρακολούθηση της αφθονίας ΦΑ στις αντίστοιχες 20 υποεπιφάνειες ΦΑ τερματίζεται και αυτές απεγκαθίστανται. Τ – Τυπικό επίπεδο, Π– Προχωρημένο επίπεδο.

Έτος παρακολούθησης	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Περίοδος καρποφορίας		•					•								•					•			
Αξιολόγηση ΦΑ από την 1 ^η αξιολογημένη περίοδο καρποφορίας [έτη]	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
Εγκατάσταση υποεπιφανειών ΦΑ			ΤΠ																				
Καταμέτρηση αφθονίας ΦΑ			ΤΠ				ΤΠ					Π					Π						
Αξιολόγηση ΦΑ από τη 2 ^η αξιολογημένη περίοδο καρποφορίας							0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Εγκατάσταση υποεπιφανειών ΦΑ								ΤΠ															
Καταμέτρηση αφθονίας ΦΑ								ΤΠ				ΤΠ					Π						Π

Η θνησιμότητα/επιβίωση της φυσικής αναγέννησης υπολογίζεται από τις τιμές που καταγράφονται για αυτόν τον επαληθευτή.

Για την εγκατάσταση υποεπιφανειών, δείτε στην ενότητα 6.2 'Εγκατάσταση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης' και για την καταμέτρηση το 7.1.4.2 'Τυπικό επίπεδο'.

7.2 Πρωτόκολλα για την καταγραφή επιπλέον πληροφοριών

7.2.1 Κατανομή κλάσεων στηθιαίας διαμέτρου

7.2.1.1 Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Η στηθιαία διάμετρος (DBH) καταγράφεται σε επίπεδο ατομικού δέντρου και για τα 50 δέντρα που παρακολουθούνται σε κάθε δεκαετία. Η στηθιαία διάμετρος είναι η διάμετρος του κορμού σε ύψος 1.30 μ., δηλαδή περίπου το ύψος που βρίσκεται το στήθος ενός ενήλικου ανθρώπου. Εάν το δέντρο έχει παραπάνω από έναν κορμό, θα πρέπει να μετρηθούν όλοι οι κορμοί και να υπολογιστεί ο μέσος όρος τους (προτείνεται η αποφυγή επιλογής δέντρων με πολλούς, λεπτούς κορμούς). Στο πεδίο των σημειώσεων σημειώστε ότι το δέντρο έχει πολλούς κορμούς. Εάν το δέντρο δεν είναι ευθύκορμο, τότε μετράται η στηθιαία διάμετρος κάθετα προς τον κορμό. Η στηθιαία διάμετρος μετράται με δύο τρόπους:

- 1) Με χρήση παχυμέτρου - σε όλες τις περιπτώσεις απαιτείται η μέτρηση δύο κάθετων μεταξύ τους διαμέτρων ώστε να εκτιμηθεί ο μέσος όρος τους.
- 2) Μέσω μέτρησης της περιμέτρου του δέντρου και υπολογισμού της διαμέτρου στη συνέχεια [δηλ. διαιρώντας την τιμή της περιμέτρου με την σταθερά π, ~ 3.14 ή με χρήση παχυταινίας (pi-tape)]

Η στηθιαία διάμετρος αποτυπώνεται σε εκατοστά. Η ίδια μέθοδος εφαρμόζεται για κάθε επόμενη μέτρηση.

7.2.2. Κατανομή κλάσεων ύψους

7.2.2.1. Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Το ύψος καταγράφεται σε επίπεδο ατομικού δέντρου και για τα 50 δέντρα που παρακολουθούνται σε κάθε δεκαετία. Το ύψος μετράται από το έδαφος έως το υψηλότερο σημείο της κόμης, χρησιμοποιώντας κλισίμετρο ή υψόμετρο (π.χ. vertex).

Το ύψος καταμετράται σε μέτρα και στρογγυλοποιείται στην πλησιέστερη τιμή. Εάν η κόμη έχει υποστεί βλάβη τότε αυτό θα πρέπει να καταγραφεί στο πεδίο των σημειώσεων, όπως επίσης και ο λόγος που την προκάλεσε.

7.2.3. Έκπτυξη οφθαλμών

Η έκπτυξη των οφθαλμών περιγράφει την διαδικασία της έκπτυξης των βελονών. Στην *Pinus nigra*, η έκπτυξη των οφθαλμών ξεκινά λίγο αργότερα από την ανθοφορία. Η καταγραφή αυτής της παραμέτρου πραγματοποιείται μόνο στο τυπικό και προχωρημένο επίπεδο. Τα δεδομένα για αυτήν την επιπλέον πληροφορία συλλέγονται από τον Απρίλιο έως τον Μάιο και έως ότου όλα τα δέντρα που παρακολουθούνται έχουν φτάσει στο στάδιο των πλήρως ανεπτυγμένων βελονών.

7.2.3.1. Τυπικό επίπεδο

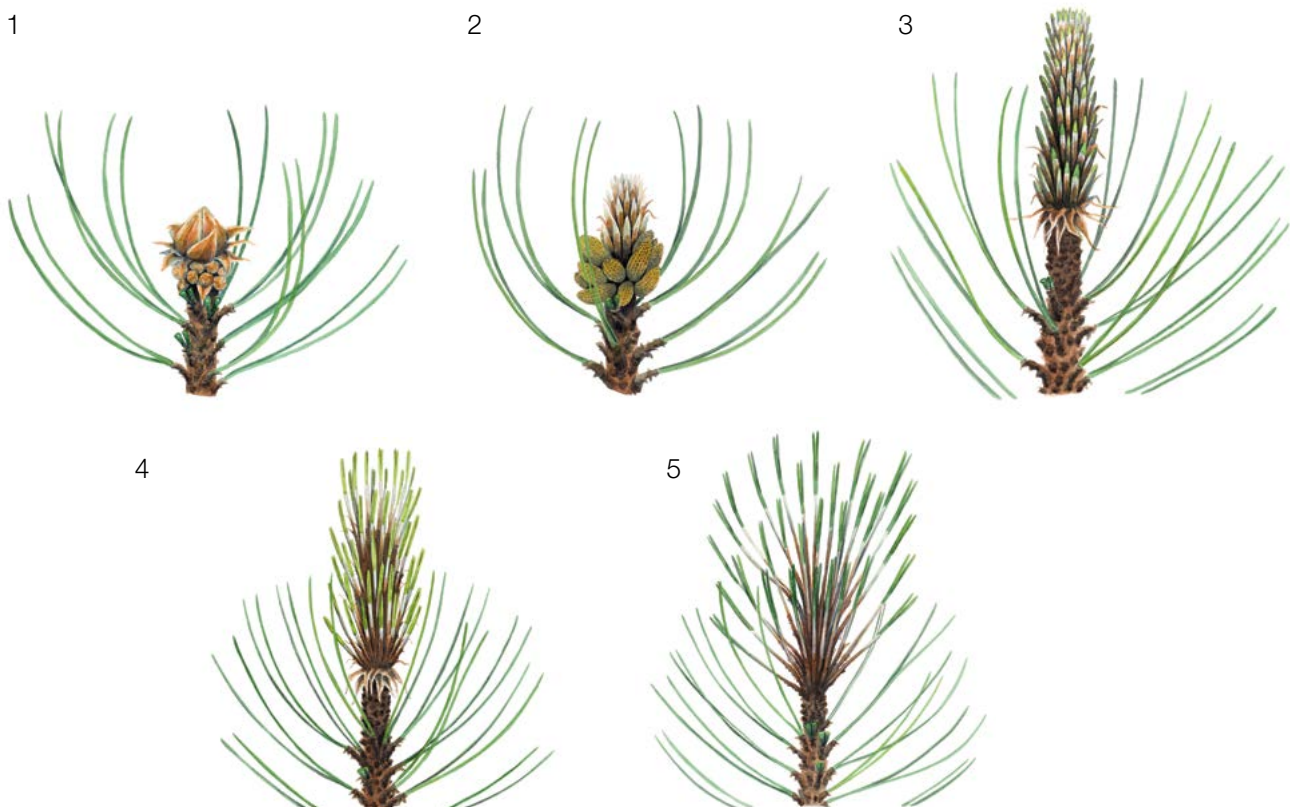
Στο τυπικό επίπεδο η έκπτυξη των οφθαλμών καταγράφεται σε επίπεδο ατομικού δέντρου και για τα 50 άτομα που παρακολουθούνται, κάθε πενταετία. Αναζητούμε την έναρξη της έκπτυξης των οφθαλμών (στάδιο 2) και την ολοκλήρωση της διαδικασίας (στάδιο 5). Οι παρατηρήσεις ολοκληρώνονται όταν όλα τα δέντρα έχουν φτάσει στο στάδιο 5. Συνήθως απαιτούνται 6 επισκέψεις στο πεδίο. Για κάθε δέντρο δίνονται δύο εκτιμήσεις: το στάδιο έκπτυξης οφθαλμών και το ποσοστό της κόμης στο οποίο εκπτύσσονται οφθαλμοί. Η γραφική απεικόνιση των σταδίων έκπτυξης οφθαλμών περιλαμβάνεται στην Εικόνα 6.

Κωδικός Στάδιο έκπτυξης οφθαλμών	
1	Οφθαλμοί σε χειμερινό λήθαργο
2	Έναρξη επιμήκυνσης
3	Σημαντική επιμήκυνση του επάκριου οφθαλμού
4	Οι βελόνες ξεπροβάλλουν από τον διαφανή κολεό.
5	Οι δυο βελόνες του ίδιου βραχυκλαδίου διακρίνονται σαφώς

Κωδικός Ποσοστό της κόμης για δεδομένο στάδιο έκπτυξης οφθαλμών (%)	
1	> 0 – 33
2	> 33 – 66
3	> 66 – 99
4	100

7.2.3.2. Προχωρημένο επίπεδο

Στο προχωρημένο επίπεδο, η έκπτυξη οφθαλμών αξιολογείται ετησίως, σε επίπεδο ατομικού δέντρου και για τα 50 δέντρα που παρακολουθούνται, με τον ίδιο ακριβώς τρόπο που ακολουθείται στο τυπικό επίπεδο. Για λεπτομέρειες, ανατρέξτε στην ενότητα 7.2.3.1 'Τυπικό επίπεδο'.



Εικόνα 6: Φωτογραφικός οδηγός για την περιγραφή της έκπτυξης οφθαλμών (έκπτυξη βελονών) στο βασικό, τυπικό και προχωρημένο στάδιο της επιπλέον πληροφoρίας 'Έκπτυξη οφθαλμών'.

6.1.4 Συγχρονισμός ανθοφορίας

Ο συγχρονισμός της ανθοφορίας καταγράφεται μόνο στο προχωρημένο επίπεδο και βασίζεται σε δεδομένα που συλλέγονται για τον επαληθευτή 'Ανθοφορία'. Χρησιμοποιείται για να προσδιοριστεί αν οι περίοδοι θηλυκής και αρσενικής ανθοφορίας επικαλύπτονται για τα άτομα της επιφάνειας παρακολούθησης.

7.2.4.1. Προχωρημένο επίπεδο

Ο συγχρονισμός της ανθοφορίας αξιολογείται σε επίπεδο ατομικού δέντρου και για τα 50 δέντρα που παρακολουθούνται, κατά τη διάρκεια ενός γεγονότος μαζικής ανθοφορίας. Από αυτό το γεγονός μαζικής ανθοφορίας θα προκύψουν και τα σπέρματα που θα συλλεχθούν το δεύτερο φθινόπωρο μετά την ανθοφορία.

Για την εγκατάσταση επιφάνειας χρησιμοποιήστε το Έντυπο Υπόδειγμα «Περιγραφή επιφάνειας ΓΠΔ»

Για την καταγραφή των επαληθευτών χρησιμοποιήστε το «Έντυπο Υπόδειγμα για την καταγραφή επαληθευτών πεδίου εντός της επιφάνειας ΓΠΔ»

Για τις επιπλέον πληροφορίες χρησιμοποιήστε το «Έντυπο Υπόδειγμα για την καταγραφή επιπλέον πληροφοριών πεδίου εντός της επιφάνειας ΓΠΔ»

8. Βιβλιογραφία

- Farjon A (2017) A Handbook of the World's Conifers. 2nd revised Edition, Volume 1. Brill Leiden - Boston. Brill Acad. Publ. <https://doi.org/10.1163/9789047430629>
- Burns RM, Honkala BH (1990) Silvics of North America. Volume 1. Conifers. Agriculture Handbook 654, USDA Forest service, Washington
- Vidaković M (1958) Investigation on the intermediate type between the Austrian and Scots pine. *Silv Gen* 7:12–19.
- Fukarek P (1958) Die Standortstrassen per Schwarzföhre (*Pinus nigra* Arn.). *Centralblatt fuer das gesamte Forstwesen* 75:203–207
- McWilliam JR (1959) Interspecific incompatibility in *Pinus*. *Am J Bot* 46:425–433. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1959.tb07033.x>
- Righter FI, Duffield JW (1951) Interspecific hybrids in pines. *J Hered* 42:75–80. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a106169>
- Juranović-Cindrić I, Zeiner M, Starčević A, Liber Z, Rusak G, Idžojčić M, Stingeder G (2018) Influence of F1 hybridization on the metal uptake behaviour of pine trees (*Pinus nigra* x *Pinus thunbergiana*; *Pinus thunbergiana* x *Pinus nigra*). *J. Trace Elem Med Biol* 48:190–195. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2018.04.009>
- Vidaković M (1974) Genetics of European black pine (*Pinus nigra* Arn.). *Annales Forestales* (6/3):57–86.
- Mitchell AF (1972) Conifers in the British Isles: A descriptive handbook. Forestry Commission Booklet No. 33. London: Her Majesty's Stationery Office
- Rose CI (1979) Observations on the ecology and conservation value of native and introduced tree species. *Q J Forest* 73(4):219–229
- Athanasiadis NH (1986) Forest Botany (Trees and Shrubs of the Hellenic Forests). Part II. Publ. Giahoudi Thessaloniki
- Isajev V, Fady B, Semerci H, Andonovski V (2004) EUFORGEN technical guidelines for genetic conservation and use of European black pine (*Pinus nigra*). International Plant Genetic Resources Institute, Rome
- Van Haverbeke DF (1990) *Pinus nigra* Arnold - European black pine. In: Burns RM; Honkala BH (eds). *Silvics of North America. Volume 1. Conifers. Agric. Handb. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Washington, DC*
- Freeland RO (1944) Apparent photosynthesis in some conifers during the winter. *Pl Physiol* 19:179–185
- Boutheina A, El Aouni MH, Balandier P (2013) Influence of stand and tree attributes and silviculture on cone and seed productions in forests of *Pinus pinea* L. in northern Tunisia. *Options Méditerranéennes Series A: Mediterranean Seminars*, No. 105. CIHEAM, FAO, INIA, IRTA, CESEFOR, CTFC, Zaragoza
- Nicholls TH, Hudler GW (1971) *Dothistroma pini* on *Pinus nigra* in Minnesota. *Plant Disease Reporter* 55: 1040.

17. Millar CS (1970) Role of *Lophodermella* species in premature death of Pine needles in Scotland. Report on Forest Research, London, pp 176-178
18. Blodgett JT, Eyles A, Bonello P (2007) Organ-dependent induction of systemic resistance and systemic susceptibility in *Pinus nigra* inoculated with *Sphaeropsis sapinea* and *Diplodia scrobiculata*. *Tree Physiol* 27: 511–517. <https://doi.org/10.1093/treephys/27.4.511>
19. Alizoti PG, Kilimis K, Gallios P (2010). Temporal and spatial variation of flowering among *Pinus nigra* Arn. clones under changing climatic conditions. *For Ecol Manag* 259:768–797. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2009.06.029>

Οι παρακάτω πηγές χρησιμοποιήθηκαν για τον εντοπισμό της τρέχουσας (Δεκέμβριος 2020) αποδεκτής επιστημονικής ονομασίας των ειδών που περιλαμβάνονται ή αναφέρονται στο παρόν κείμενο:

- a. Avtzis N (1985) *Marchalina hellenica* (Monophlebus hellenicus) Gen. An important honey producing insect of Greece. *Dasiki Erevna* VI(1):51-63
- b. Bußkamp J, Langer GJ & Langer EJ (2020) *Sphaeropsis sapinea* and fungal endophyte diversity in twigs of Scots pine (*Pinus sylvestris*) in Germany. *Mycol Progress* 19:985–999. <https://doi.org/10.1007/s11557-020-01617-0>
- c. CABI (2020) *Invasive Species Compendium*. CAB International, Wallingford, UK. www.cabi.org/isc. Accessed 15 December 2020
- d. EPPO (2020) *EPPO Global Database* (available online). <https://gd.eppo.int>. Accessed 15 December 2020
- e. GBIF (2020) *Global Biodiversity Information Facility*. <https://www.gbif.org> Accessed 15 December 2020
- f. IPNI (2020) *International Plant Names Index*. The Royal Botanic Gardens, Kew, Harvard University Herbaria & Libraries & Australian National Botanic Gardens. <http://www.ipni.org>, Accessed 10 December 2020
- g. National Center for Biotechnology Information (NCBI) (1998) *National Library of Medicine* (US), National Center for Biotechnology Information, Bethesda (MD). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Accessed 15 December 2020
- h. The Plant List (2013) Version 1.1. <http://www.theplantlist.org/>. Accessed 12 December 2020
- i. Tropicos.org (2020) *Missouri Botanical Garden*. <http://www.tropicos.org>. Accessed 15 December 2020
- j. WFO (2020) *World Flora Online*. <http://www.worldfloraonline.org>. Accessed 15 Dec 2020

9.2.5 Μαύρης Λεύκης (*Populus nigra* L.)

Gregor BOŽIČ¹, Sándor BORDÁCS², Berthold HEINZE³, Marko BAJC¹,
Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ⁴, Dalibor BALLIAN^{1,5}, Rok DAMJANIČ¹,
Natalija DOVČ¹, Barbara FUSSI⁶, Darius KAVALIAUSKAS⁶, Zvonimir VUJNOVIĆ⁷,
Marjana WESTERGREN¹, Hojka KRAIGHNER¹

Απόδοση στα ελληνικά

Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ, Μαρίτα ΠΑΠΑΓΙΑΝΝΗ, Μαρία-Ειρήνη ΑΝΤΩΝΙΑΔΟΥ,
Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ

Εικονογράφηση Marina GABOR



Βιβλιογραφική παράθεση: Božič κ.α. (2020) Κατευθυντήριες Οδηγίες για τη Γενετική Παρακολούθηση της Ευρωπαϊκής Μαύρης Λεύκης (*Populus nigra* L.). Στο: Bajc κ. ά. (Επιμ.) Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών. Ινστιτούτο Δασών Σλοβενίας; Silva Slovenica Publishing Centre, Λιουμπλιάνα, σσ. 257-278. <http://dx.doi.org/10.20315/SFS.167>

Φορείς:

1. Δασικό Ινστιτούτο της Σλοβενίας (SFI), Σλοβενία
2. Πανεπιστήμιο Szent István (SZIE), Ουγγαρία
3. Ομοσπονδιακό Κέντρο Έρευνας και Κατάρτισης για τα Δάση, τους Φυσικούς Κινδύνους και το Τοπίο (BFW), Αυστρία
4. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), Ελλάδα
5. Πανεπιστήμιο του Σαράγεβο, Τμήμα Δασολογίας, Βοσνία και Ερζεγοβίνη
6. Βαυαρικό γραφείο Δασικής Γενετικής (AWG), Γερμανία
7. Ινστιτούτο Δασικών Ερευνών της Κροατίας (CFRI), Κροατία

1 Περίληψη

Η μαύρη λεύκη (*Populus nigra*) είναι ένα υψηλής οικολογικής σημασίας, ταχυαυξές, βραχύβιο και φυλλοβόλο δασικό είδος. Απαντάται σε μικτά, παραποτάμια δάση, διαθέτει φυσικές τάσεις προσαρμογής και γρήγορα καταλαμβάνει διάκενα σε θέσεις που έχουν υποστεί διαταραχές, ενώ έχει την ικανότητα να επιβιώνει εύκολα μετά από δυναμικές μεταβολές που συνδέονται με τα παραποτάμια οικοσυστήματα. Το είδος, συνεισφέρει στη φυσική αποτροπή των πλημμυρών, αποτελεί θεμελιώδες είδος για την προστασία και την αποκατάσταση του φυσικού περιβάλλοντος των παρόχθιων δασών και θεωρείται είδος-δείκτης της υγείας και της βιοποικιλότητας των παρόχθιων οικοσυστημάτων [1]. Επίσης, η μαύρη λεύκη είναι γνωστή για τη φυσική της ικανότητα να αναπτύσσεται ταχέως και να απορροφά μεγάλες ποσότητες νερού και θρεπτικών στοιχείων από το έδαφος. Αυτή η ικανότητα καθιστά το είδος σημαντικό για φυτοεξυγίανση και αποκατάσταση εδαφών, για περιβαλλοντικές χρήσεις σε βιομηχανικές ζώνες με αυξημένη ρύπανση, για ρύθμιση του μικροκλίματος και για βελτίωση της βιολογικής ποικιλότητας σε ανοιχτές αγροτικές θέσεις [2]. Η μαύρη λεύκη, χρησιμοποιείται ως γονικό είδος σε πολυάριθμα προγράμματα γενετικής βελτίωσης λεύκης ανά τον κόσμο. Η πρεμνοφυής διαχείριση του είδους είναι απλή, γεγονός που το καθιστά κατάλληλο για μακροπρόθεσμη διατήρηση άριστων γενοτύπων φυτευτικού υλικού αμιγούς μαύρης λεύκης σε εκτός σταθμού (*ex situ*) συλλογές. Στα πλαίσια του Δικτύου EUFORGEN [3], έχουν κατατεθεί προτάσεις για μονάδες προστασίας εντός σταθμού (*in situ*) και αντίστοιχη μεθοδολογία για εκτός σταθμού (*ex situ*) διατήρηση γενετικού υλικού, οι οποίες στη συνέχεια υιοθετήθηκαν από αρκετές χώρες και ερευνητικά έργα [4].

Η μαύρη λεύκη, δημιουργεί φυσικούς μεταπληθυσμούς από αλληλένδετους πληθυσμούς αντί για μικρούς, απομονωμένους πληθυσμούς [6]. Για να διασφαλιστεί η δειγματοληψία αντιπροσωπευτικού υλικού από όλο το μεταπληθυσμό, κρίνεται αναγκαίος ο σχεδιασμός ενός συστήματος γενετικής παρακολούθησης όπου επιλέγονται τυχαία επιφάνειες γενετικής παρακολούθησης με ενήλικα άτομα από τοπικούς πληθυσμούς, καθώς και επιφάνειες παρακολούθησης φυσικής αναγέννησης εντός των φυσικών κέντρων αναγέννησης κατά μήκος ενός ποτάμιου οικοσυστήματος, ως μέρος ενός ολοκληρωμένου δικτύου αλληλένδετων τοπικών πληθυσμών. Η γενετική ταυτοποίηση της μαύρης λεύκης είναι απαραίτητο να γίνεται με τη χρήση εξειδικευμένων διαγνωστικών γενετικών δεικτών για το είδος. Η κύρια δυσκολία για την εφαρμογή της γενετικής παρακολούθησης δασών (ΓΠΔ) στη μαύρη λεύκη έγκειται στην εύρεση οικοτόπων όπου το είδος αναπαράγεται αποτελεσματικά και όπου οι συνθήκες υποστηρίζουν τη μακροπρόθεσμη επιβίωση απογόνων.

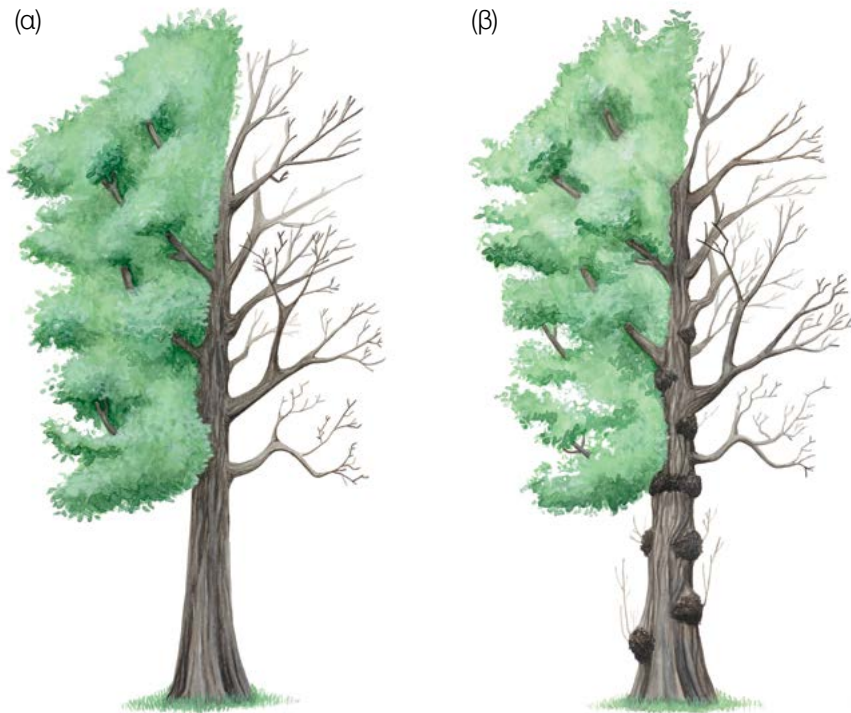
Οι κατευθυντήριες οδηγίες, περιγράφουν συνοπτικά το είδος λεύκη, τον τρόπο αναπαραγωγή του, το φυσικό του περιβάλλον και τις απειλές τις οποίες υφίσταται, ενώ παρέχουν καθοδήγηση για την ίδρυση των επιφανειών ΓΠΔ (*in situ*) και την καταγραφή των επαληθευτών και των επιπλέον απαιτούμενων πληροφοριών στο πεδίο.

2 Περιγραφή είδους

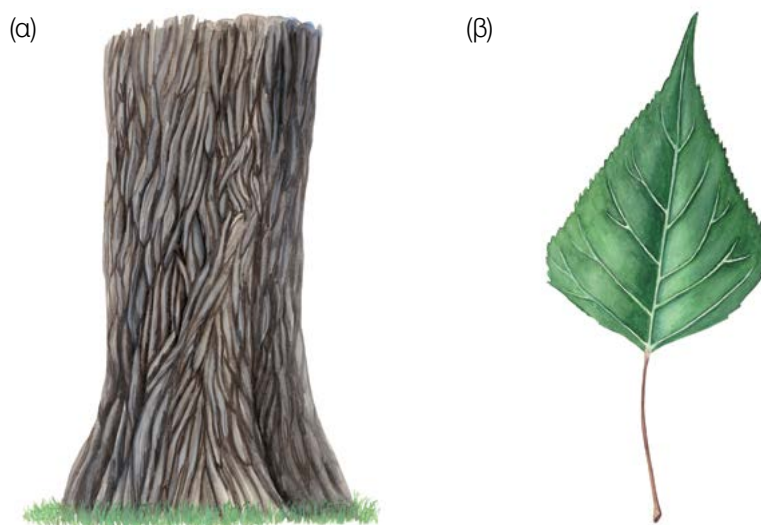
Η μαύρη λεύκη (Εικόνα 1), είναι ένα αυτοφυές, φωτόφιλο και απαιτητικό σε θρεπτικά στοιχεία φυλλοβόλο, δασικό είδος δέντρων των εύκρατων περιοχών της Ευρασίας. Ανήκει στο τμήμα *Aigeros* του γένους *Populus*, της οικογένειας *Salicaceae* [5]. Αποικεί διαθέσιμες θέσεις, έπειτα από διαταραχές που συνήθως οφείλονται σε δυναμικές αλλαγές των ποτάμιων συστημάτων, ενώ απαντάται και στα πρώιμα στάδια διαδοχής των παρόχθιων, μικτών οικοσυστημάτων. Σχηματίζει διαφορετικές μορφές πληθυσμών, που κυμαίνονται από μεμονωμένα άτομα έως μεγάλες αμιγείς ή μικτές συστάδες. Η μαύρη λεύκη, σχηματίζει φυσικούς μεταπληθυσμούς αποτελούμενους από αλληλένδετους μικρότερους τοπικούς πληθυσμούς [6,7].

Η μαύρη λεύκη, είναι μεσαίου έως μεγάλου μεγέθους δέντρο, το οποίο συνήθως φτάνει τα 40 μ. σε ύψος και τα 300 εκ. σε διάμετρο, ενώ φτάνει σε ηλικία έως τα 100-200 έτη. Σε σπάνιες περιπτώσεις, άτομα του είδους μπορούν να φτάσουν έως τα 400 έτη ζωής [8,9]. Συχνά, αναπτύσσει ακανόνιστα διακλαδισμένη κόμη. Ο κορμός μπορεί να παρουσιάζει κάμψη ή στρέβλωση, να έχει διογκωμένη βάση και σχηματίζει συχνά μεγάλα εξογκώματα από πληγώσεις ή επικορμικά κλαδιά. Παρόλα αυτά, μερικά δέντρα σε συστάδες μπορεί να είναι ευθυτενή και με κανονική μορφή [10]. Ο φλοιός των ώριμων δέντρων είναι σκούρος καφέ ή μαύρος

με πολυάριθμες βαθιές ραγαδώσεις [11]. Τα φύλλα είναι ρομβοειδή έως δελτοειδή. Έχουν μήκος 5-12 εκ., πλάτος 4-10 εκ. και ο μίσχος τους έχει μήκος 2-6 εκ. [12,13]. Το χρώμα τους είναι πράσινο και από τις δύο επιφάνειες και έχουν ελαφρώς οδοντωτές παρυφές (Εικόνα 2β). Τα δέντρα, φτάνουν σε αναπαραγωγική ηλικία στα 10 - 15 έτη [14].



Εικόνα 1: Μορφολογία της μαύρης λεύκης (*Populus nigra*) χωρίς επικορμικούς βλαστούς (α) και με επικορμικούς βλαστούς, οι οποίοι αποτελούν συνηθισμένο χαρακτηριστικό (β).



Εικόνα 2: Ο φλοιός των ώριμων δέντρων έχει σκούρο γκριζοκαφέ ή μαύρο χρώμα, με πολυάριθμες βαθιές διακλαδιζόμενες ραγαδώσεις (α). Χαρακτηριστικό ρομβοειδές έως δελτοειδές φύλλο της μαύρης λεύκης (β).

Τα μορφολογικά και φαινολογικά χαρακτηριστικά της *Populus nigra*, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μια πρώτη προσέγγιση για τον χαρακτηρισμό των αμιγών (μη υβριδίων) ατόμων μαύρης λεύκης, τουλάχιστον στην περίπτωση των ενήλικων και μεσηλικών ατόμων. Τα πιο σταθερά και συγκεκριμένα για το είδος χαρακτηριστικά, αναφέρονται αναλυτικά στο σχετικό έντυπο του EUFORGEN με τα στοιχεία αναγνώρισης του *Populus nigra* [24]:

- το σχήμα των δέντρων,
- επικορμικά κλαδιά και οφθαλμοί σε λήθαργο πάνω στον κορμό,
- διακλαδιζόμενες ραγαδώσεις του φλοιού στο κατώτερο μέρος του κορμού,
- σχήμα των φύλλων (διαμαντοειδές, ρομβοειδές και δελτοειδές),
- απουσία ιξού (*Viscum album* L.) στην κόμη του δέντρου,
- η παρουσία μελιτωδών εκκρίσεων στους μίσχους των φύλλων από είδη αφίδας του γένους *Pemphigus*.

Με βάση την εμπειρία των σχετικών ευρωπαϊκών ερευνητικών έργων (EUROPOP, DANUBEPARKS κ.λ.π.) τα δέντρα τα οποία είχαν χαρακτηριστεί με τα παραπάνω μορφολογικά χαρακτηριστικά και επιλέχθηκαν για σκοπούς προστασίας γενετικών πόρων, σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις επιβεβαιώθηκαν ως «αμιγή» άτομα *Populus nigra* από διαγνωστικούς μοριακούς δείκτες.

Η μαύρη λεύκη, είναι δίοικο είδος. Τα αρσενικά ή θηλυκά μονογενή άνθη (Εικόνα 3), αναπτύσσονται από εξειδικευμένους ανθοφόρους οφθαλμούς οι οποίοι εμπεριέχουν προσηματισμένες ταξιανθίες [11]. Τα άνθη είναι συγκεντρωμένα σε κρεμάμενους ίουλους σε διαφορετικά άτομα, κάτι που διασφαλίζει την διασταύρωση μεταξύ τους. Οι αρσενικοί ίουλοι, έχουν κοκκινωπούς μωβ ανθήρες ενώ οι θηλυκοί έχουν ωχροπράσινα στίγματα.



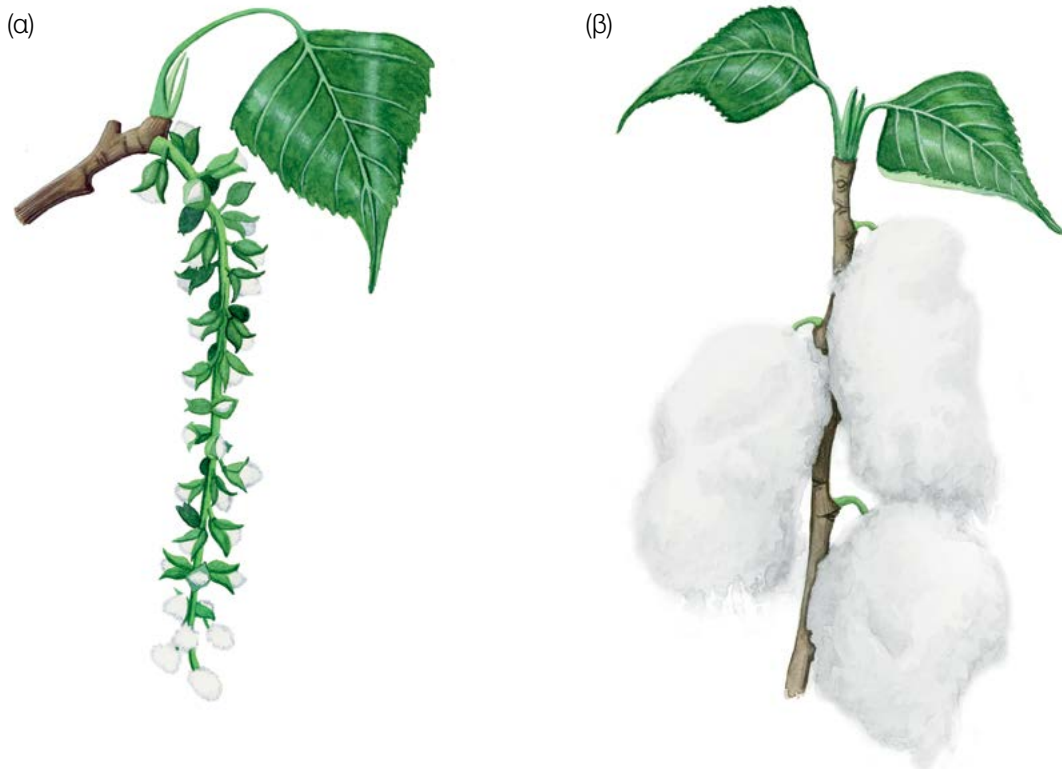
Εικόνα 3: Αναγνώριση του φύλου του δέντρου: σχηματική παρουσίαση των αρσενικών ανθέων (α), θηλυκών ανθέων (β) σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης

3 Αναπαραγωγή

Τα αρσενικά δέντρα φέρουν αποκλειστικά αρσενικά άνθη τα οποία παράγουν γύρη και τα θηλυκά δέντρα φέρουν αποκλειστικά θηλυκά άνθη και παράγουν σπέρματα. Τα άνθη αναδύονται από εξειδικευμένους οφθαλμούς, περίπου 1-2 εβδομάδες πριν την έκπτυξη των φύλλων, στις αρχές της άνοιξης (Μάρτιος-Απρίλιος) στα χαμηλότερα υψόμετρα και γεωγραφικά πλάτη, ενώ στα υψηλότερα γεωγραφικά πλάτη και υψόμετρα η ανθοφορία καθυστερεί έως τον Μάιο [15]. Ο χρόνος και η διάρκεια της ανθοφορίας και η διάρκεια της διαδικασίας ωρίμανσης των σπερμάτων σχετίζονται τόσο με τη φωτοπερίοδο όσο και με τις τοπικές θερμοκρασίες και επομένως, ποικίλλουν από τη μία τοποθεσία στην άλλη με επιπτώσεις στον χρόνο απελευθέρωσης των σπερμάτων [16]. Επίσης, πιθανολογείται να υπάρχει μια γενετική συνιστώσα η οποία οδηγεί σε γενотύπους με πρώιμη ή όψιμη ανθοφορία και ωρίμανση σπερμάτων. Η γύρη μεταφέρεται με τη βοήθεια του ανέμου. Όταν ολοκληρωθεί η γονιμοποίηση των θηλυκών ανθέων, περίπου 20-50 γυμνές σφαιρικές κάψες πράσινου-καφέ χρώματος ωριμάζουν σε κάθε ίουλο μετά από 4-6 εβδομάδες (Εικόνα 4α), παράγοντας έως 250 μικρά, ανοιχτού καφέ χρώματος σπέρματα ανά ίουλο [17]. Οι θηλυκοί ίουλοι, αναπτύσσουν αερομεταφερόμενα σπέρματα, τα οποία έχουν απαλή αίσθηση όπως εκείνη του βαμβακιού, με μακριά, λευκά, απαλά τριχίδια προσκολλημένα στο σπέρμα (Εικόνα 4β), το οποίο πέφτει στις αρχές του καλοκαιριού [17].

Η μαύρη λεύκη παράγει σπέρματα σχεδόν κάθε χρόνο. Τα σπέρματα, έχουν μικρή διάρκεια ζωής (1-3 ημέρες) και χρειάζονται συγκεκριμένες συνθήκες εδάφους και υδατοδιαθεσιμότητας, με συνεχώς υγρό υπόστρωμα για περίοδο 4 εβδομάδων ώστε να βλαστήσουν [18].

Η μαύρη λεύκη, μπορεί να πολλαπλασιαστεί σπερμοφυώς, όπως περιγράφηκε παραπάνω, ή με αγενή πολλαπλασιασμό (με μοσχεύματα). Ο φυσικός αγενής πολλαπλασιασμός είναι δυνατόν να συμβεί με ριζοβλαστήματα, πρεμνοβλαστήματα, πεσμένα δέντρα και σπασμένα κλαδιά νεαρής ηλικίας [17]. Ο φυσικός αγενής πολλαπλασιασμός, συμβαίνει ακόμα και όταν είναι αδύνατη η ανάπτυξη φυταρίων και ως εκ τούτου, μπορεί να συμβάλει στη συνολική ανάπτυξη του νέου φυτικού υλικού. Η *Populus nigra*, συχνά δημιουργεί πολλαπλούς κορμούς από παραβλαστήματα [2].



Εικόνα 4: Θηλυκοί ίουλοι με κάψες σπερμάτων σε ωρίμανση (α), τα ώριμα σπέρματα του *Populus nigra* έχουν μακριά, λευκά τριχίδια προσκολλημένα σε αυτά και μοιάζουν με βαμβάκι(β).

Προσδιορισμός των περιοχών αναγέννησης

Η μαύρη λεύκη, αναγεννάται φυσικά μόνο στα παρόχθια τμήματα διαταραγμένων εκτάσεων, σε εδάφη με υψηλή υγρασία, αμμώδη και αργιλώδη, τα οποία μένουν εκτεθειμένα μετά τις εποχιακές πλημμύρες των ποταμών [14]. Ωστόσο δεν αναπτύσσεται αν υπάρχουν στο σημείο άλλα αναπαραγωγικώς ώριμα δέντρα μεγαλύτερης ηλικίας σε παλαιότερες παρόχθιες συστάδες. Η επιλογή των φυταρίων πραγματοποιείται κατά μήκος των διακλαδώσεων ποταμών, σε τοξοειδείς ζώνες διαδοχικών ηλικιών μέσα στο δίκτυο ποταμών σε συνδυασμό με συγκεκριμένες μικροπεριοχές (π.χ. σε τμήματα αμμωδών εδαφών τα οποία έχουν συσσωρευτεί πίσω από συστάδες βλάστησης ή σε ξυλώδη υπολείμματα, σε κοιλάτες με χαλίκια στις όχθες των ποταμών) [17]. Η φυσική αναγέννηση θεωρείται επιτυχής όταν δημιουργείται σε τμήματα, σποραδικά. Εξαιτίας των αλλαγών των συνθηκών στα σημεία αναγέννησης, ο πληθυσμός του είδους μπορεί να ποικίλει (να αυξάνεται ή να μειώνεται) με την πάροδο του χρόνου [7].

4 Περιβάλλον - Οικολογία

Η μαύρη λεύκη, έχει μια ευρεία περιοχή φυσικής εξάπλωσης σε όλη την Ευρώπη, εκτός από τις Βόρειες Χώρες και από την Βόρεια Αφρική έως την Κεντρική Ασία, συμπεριλαμβανομένου του Καύκασου και του μεγαλύτερου μέρους της Μέσης Ανατολής. Η φυσική εξάπλωση του είδους, επεκτείνεται ως το Καζακστάν και την Κίνα [11] και σε υψόμετρο από μηδέν ως 4000μ. [19]. Σε όλο το εύρος της φυσικής του εξάπλωσης, καλλιεργούμενες μορφές ή υβρίδια του είδους συχνά αντικαθιστούν τις φυσικές συστάδες *Populus nigra* [20]. Η μαύρη λεύκη, *φύεται κυρίως κατά μήκος των κεντρικών κοιτών και των παραπόταμων τους σε αλλουβιακές αποθέσεις. Συνήθως σχηματίζει φυσικούς μεταπληθυσμούς παρά μικρούς, απομονωμένους πληθυσμούς* [6,7]. Στις συστάδες, *φύονται αρκετά μεμονωμένα δέντρα ή μικρότερες ομάδες υπερήλικων δέντρων. Το είδος απαντάται μαζί με λευκή λεύκη (Populus alba L.), ιτιές (Salix spp.), σκλήθρα (Alnus spp.), σφενδάμια (Acer spp.), φτελιές (Ulmus spp.) και κάποιες φορές με δρύες (Quercus spp.)* [21]. Η μέγιστη ανάπτυξη του είδους παρατηρείται σε βαθιά εδάφη, με pH από 5,5 έως 7,5 και υψηλή περιεκτικότητα σε θρεπτικά στοιχεία. Λόγω της σποραδικής εμφάνισής του σε μικτές παρόχθιες συστάδες, *συνήθως δεν απαντάται σε τυπικούς δασικούς απογραφικούς καταλόγους.*

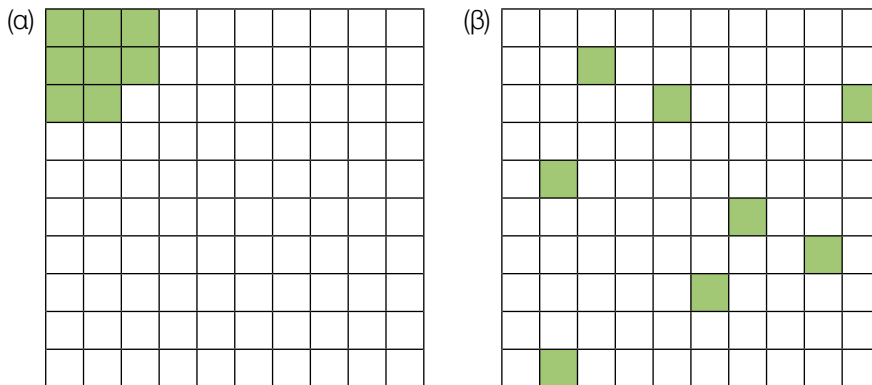
5 Απειλές

Παρά την ευρεία εξάπλωση του είδους, η μαύρη λεύκη είναι ένα τρωτό και σπάνιο δασικό είδος, το οποίο σήμερα βρίσκεται υπό εξαφάνιση σε αρκετά σημεία της φυσικής του εξάπλωσης λόγω ανθρωπογενών επιδράσεων όπως: (α) υπερεκμετάλλευση των φυσικών περιοχών εξάπλωσής της, (β) αλλοίωση των παραποτάμιων οικοσυστημάτων από ανθρωπίνες δραστηριότητες, (γ) καλλιέργεια γενετικά βελτιωμένων διυβριδίων, όπως της *P. x canadensis* Moench (υβρίδιο μεταξύ *Populus deltoides* W. Bartram ex Marshall και *Populus nigra*, συνώνυμο *P. x euramericana*), της δελτοειδούς λεύκης (*Populus deltoides*) και της *Populus trichocarpa* Torr. & A. Gray και *Populus maximowiczii* Henry σε όλη την περιοχή φυσικής εξάπλωσης του είδους, (δ) γονιδιακή διείσδυση μέσω υβριδογενών αναδιασταυρώσεων (διασταύρωση ενός υβριδίου με ένα από τα γονικά είδη) από εισαγόμενους θηλυκούς κλώνους υβριδίων όταν η ανθοφορία τους συγχρονίζεται με την ανθοφορία των αρσενικών ατόμων της μαύρης λεύκης [22,14,11].

Ένα συχνά παρατηρούμενο παράσιτο της μαύρης λεύκης είναι το Chrysomela populi L., ενώ οι πιο συχνές ασθένειες του είδους είναι η σκωρίαση των φύλλων της λεύκης (Melampsora larici-populina Kleb.) και οι κηλίδες των φύλλων της λεύκης από το παθογόνο Marssonina (Drepanopeziza punctiformis Gremmen, γνωστό και ως Marssonina brunnea (Ellis & Everh.) Magnus.). Η νέκρωση σε γηραιά δέντρα μαύρης λεύκης, παρατηρείται συχνά σε περιοχές στις οποίες φύεται το είδος, λόγω των αλλαγών στις συνθήκες της θέσης και της ξηρασίας (ραγδαία μείωση του επιπέδου του εδαφικού ύδατος). Τέλος, τα γηραιά δέντρα καταστρέφονται από την νέκρωση του φλοιού της λεύκης η οποία προκαλείται από το παθογόνο Plagiostoma populinum (παλαιότερα Cryptodiaporthe populea (Saccardo) Butin, επίσης γνωστό ως Dothichiza populea Saccardo), καθώς και από ανεμορριπιές και κατά συνέπεια η φυσική διαδοχή των μικτών παρόχθιων δασών τείνει προς τον σχηματισμό συστάδων άλλων πλατυφύλλων.

6 Ίδρυση επιφανειών και συντήρηση

Η μαύρη λεύκη είναι πρόσκοπο είδος, το οποίο φύτεται σε μικτά παραποτάμια δασικά οικοσυστήματα. Χαρακτηρίζεται από μεταπληθυσμιακή δομή σε όλο το παρόχθιο τμήμα της φυσικής εξάπλωσης του. Η ΓΠΔ της μαύρης λεύκης θα πρέπει να εφαρμοστεί στην κλίμακα του μεταπληθυσμού ώστε να αντιπροσωπεύει ένα ολοκληρωμένο δίκτυο αλληλένδετων τοπικών υπο-πληθυσμών (Εικόνα 5α) , μεταξύ των οποίων υπάρχει δυναμική ανταλλαγή γύρης και σπερμάτων και για το λόγο αυτό, δε θα πρέπει να εφαρμόζεται σε μόνο ένα τοπικό απομονωμένο πληθυσμό (Εικόνα 5β).



Εικόνα 5: Σχηματική παρουσίαση των αλληλένδετων τοπικών πληθυσμών μαύρης λεύκης σε ένα ποτάμιο σύστημα (α) σε αντίθεση με έναν απομονωμένο τοπικό πληθυσμό μαύρης λεύκης (β).

Για να διασφαλιστεί η αντιπροσωπευτική δειγματοληψία σε όλο το μέγεθος του μεταπληθυσμού, είναι σημαντικός ο σχεδιασμός ενός συστήματος γενετικής παρακολούθησης με τυχαία επιλεγμένες επιφάνειες παρακολούθησης ώριμων δέντρων στους τοπικούς πληθυσμούς και στα κέντρα φυσικής αναγέννησης σε όλο το ποτάμιο σύστημα. Η ΓΠΔ για την μαύρη λεύκη εμπεριέχει τόσες επιφάνειες γενετικής παρακολούθησης, όσοι είναι οι τοπικοί πληθυσμοί οι οποίοι σχηματίζουν τον μεταπληθυσμό ενδιαφέροντος. Ο αριθμός των δέντρων σε κάθε επιφάνεια παρακολούθησης, είναι ανάλογος με το μέγεθος του τοπικού πληθυσμού, λαμβάνοντας υπόψη την απαίτηση για συνολικό μέγεθος δείγματος 50 ώριμων (σε αναπαραγωγική ηλικία) διαφορετικών γενοτύπων αμιγών ατόμων *Populus nigra* με κατά προτίμηση ίση αντιπροσώπευση αρσενικών και θηλυκών ατόμων (αναλογία φύλου 1:1). Η επιφάνεια παρακολούθησης σε κάθε τοπικό πληθυσμό θα πρέπει να περιλαμβάνει τουλάχιστον 20 δέντρα τα οποία είναι καταμελημένα σε μέγιστη απόσταση 5 χλμ.

Τα δέντρα, προτείνεται να προεπιλεγούν στο πεδίο με αξιολόγηση των μορφολογικών τους χαρακτηριστικών τα οποία περιγράφονται λεπτομερώς στην περιγραφή του είδους. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα μακροχρόνιων έργων προστασίας γενετικών πόρων στην Ουγγαρία [23], για τα οποία χρησιμοποιήθηκε ένα σύνολο σταθερών μορφολογικών γνωρισμάτων και στη συνέχεια, τα προεπιλεγμένα δέντρα ελέγχθηκαν με διαγνωστικούς γενετικούς δείκτες, η προεπιλογή στο πεδίο θα μπορούσε να αποκλείσει υβριδικούς γενοτύπους και γενοτύπους που είναι αποτέλεσμα γονιδιακής διεύθυνσης. Εντούτοις, οι διαγνωστικοί μοριακοί γενετικοί δείκτες για τον χαρακτηρισμό της ταξινομικής βαθμίδας θα πρέπει να χρησιμοποιούνται σε όλες τις περιπτώσεις ώστε να επιβεβαιώσουν την ταξινομική ταυτότητα και τη μη-υβριδική προέλευση των αξιολογούμενων δέντρων τα οποία επιλέγονται ως αμιγή άτομα *Populus nigra* [7,23]. Επομένως, η χρήση γενετικών δοκιμών με μοριακούς διαγνωστικούς δείκτες, θα πρέπει να είναι ένα απαραίτητο στοιχείο της γενετικής παρακολούθησης της *Populus nigra* σε όλα τα επίπεδα παρακολούθησης. Επιπρόσθετα, τα δέντρα θα πρέπει να ελέγχονται για κλωνικότητα με γονιδιωματικό έλεγχο (μόνο ένα άτομο του ίδιου γενοτύπου μπορεί να συμπεριληφθεί στο πρόγραμμα ΓΠΔ). Εάν ένα δέντρο ανθοφορεί, θεωρείται ως αναπαραγωγικό δέντρο. Για να υπάρξει διαχωρισμός ανάμεσα στα φύλα, η επιφάνεια παρακολούθησης θα πρέπει, ιδανικά, να οριστεί στο πεδίο κατά την εποχή της ανθοφορίας. Κατά τη διάρκεια της ίδρυσης της επιφάνειας παρακολούθησης, τα δέντρα θα πρέπει να σημανθούν και να καταγραφούν οι συντεταγμένες (γεωαναφορά). Ταυτόχρονα, το ύψος και η διάμετρος στο στηθαίο ύψος μπορούν να μετρηθούν και τα ληφθούν δείγματα για απομόνωση γενετικού υλικού.

6.1 Ίδρυση επιφάνειας

6.1.1 Ορισμός του δειγματοληπτικού πλαισίου

Πριν την ίδρυση της επιφάνειας ΓΠΔ στο πεδίο, θα πρέπει να προετοιμαστεί ένας χάρτης των μεταπληθυσμών μαύρης λεύκης με λογισμικό GIS. Για τον λόγο αυτό, οι τοποθεσίες των τοπικών πληθυσμών, όπου το είδος εμφανίζεται με επαρκή πυκνότητα για να δημιουργήσει μια επιφάνεια παρακολούθησης, θα πρέπει να ελεγχθούν λεπτομερώς στο πεδίο. Προτείνεται η καταγραφή ενός μονοπατιού με τη βοήθεια μιας εφαρμογής κινητού τηλεφώνου (π.χ. Locus map) ή μιας συσκευής GPS κατά τη διάρκεια του αρχικού ελέγχου, το οποίο διευκολύνει σημαντικά τον περαιτέρω σχεδιασμό.

Οι τοποθεσίες των τοπικών πληθυσμών απεικονίζονται στον χάρτη με τη μορφή πολυγώνων, τα οποία στο σύνολό τους αντιπροσωπεύουν το δειγματοληπτικό πλαίσιο. Τα δέντρα σε κάθε τοπικό πληθυσμό θα πρέπει να επιλέγονται τυχαία. Η προσέγγιση η οποία επιτρέπει την τυχαία επιλογή, περιλαμβάνει τη δημιουργία ενός κατάλληλου αριθμού (ανάλογο του μεγέθους του τοπικού πληθυσμού) τυχαίων συντεταγμένων GPS σε λογισμικό GIS με ελάχιστη απόσταση 35μ. μεταξύ τους. Η λογική πίσω από τη χρήση μεγαλύτερης απόστασης μεταξύ τυχαίων σημείων είναι να παρέχει ένα περιθώριο ασφαλείας εξαιτίας της μειωμένης ακρίβειας των συσκευών GPS στα δάση και της απόστασης του πλησιέστερου δέντρου από το τυχαίο σημείο GPS. Οι συντεταγμένες τυχαίων σημείων αποθηκεύονται σε μια συσκευή GPS, η οποία θα χρησιμοποιηθεί στο πεδίο. Εάν οι οδηγίες που περιγράφηκαν δεν είναι εφικτές λόγω της πολυπλοκότητας των ρεμάτων και των παραποτάμων των κύριων ποταμών στα αλλουβιακά δάση, προτείνεται να χρησιμοποιηθεί μια απλοποιημένη προσέγγιση «αναζήτησης και εύρεσης» μέσα σε όλους τους τοπικούς πληθυσμούς κατά προτίμηση με τη αρωγή ενός τοπικού δασικού υπαλλήλου. Η προσέγγιση αυτή περιλαμβάνει μια εκτενή αυτοψία στην περιοχή όπου φύονται οι τοπικοί πληθυσμοί, με χρήση ενός συστηματικού μοτίβου και τη βοήθεια μιας συσκευής GPS ή μιας εφαρμογής κινητού τηλεφώνου με καταγραφή παρακολούθησης, η οποία διασφαλίζει τόσο ότι η ίδια περιοχή δεν επιθεωρείται επανειλημμένα, όσο και ότι κανένα σημείο της περιοχής δεν παραβλέπεται. Καταγράφονται οι συντεταγμένες όλων των αναπαραγωγικών δέντρων και καθορίζεται το φύλο τους. Επιλέγεται στη συνέχεια, ένας κατάλληλος αριθμός τυχαίων δέντρων από το σύνολο των κατάλληλων ατόμων σε κάθε τοπικό πληθυσμό.

Σε όλα τα ενήλικα δέντρα θα πρέπει να γίνει γονιδιωματικός έλεγχος ώστε να εξαιρεθούν υβρίδια και κλώνοι σε όλα τα επίπεδα παρακολούθησης.

6.1.2 Ίδρυση επιφάνειας στο πεδίο

Δεδομένου ότι οι συντεταγμένες των κατά προσέγγιση τοποθεσιών των δέντρων είναι γνωστές, η διαδικασία ίδρυσης επιφανειών στον επιλεγμένο πληθυσμό είναι:

- η εύρεση των αποθηκευμένων συντεταγμένων GPS στις δασικές συστάδες,
- η επιλογή και σήμανση του πλησιέστερου αναπαραγωγικού δέντρου σε κάθε ζεύγος αποθηκευμένων συντεταγμένων GPS.

6.1.3 Σήμανση δέντρων

Κάθε επιλεγμένο δέντρο αριθμείται με έναν χαρακτηριστικό αριθμό και συμπληρωματικά με μία γραμμή περιμετρικά του κορμού ώστε να είναι ορατό από όλες τις κατευθύνσεις.

6.1.4 Δειγματοληψία για γενετικές αναλύσεις

Δείγματα για απομόνωση γενετικού υλικού συλλέγονται από όλα τα επιλεγμένα δέντρα, ώστε να υπάρχει αξιολόγηση του βαθμού υβριδισμού και της παρουσίας κλώνων. Τα υβρίδια και οι κλώνοι θα πρέπει να εξαιρούνται και να αντικαθίστανται από μη υβριδικά άτομα με μοναδικούς γενοτύπους (όχι κλώνους). Κατά συνέπεια, πιθανόν

να είναι απαραίτητη η επιλογή και η δειγματοληψία μεγαλύτερου αριθμού δέντρων ώστε να βρεθούν 50 αμιγή δέντρα μαύρης λεύκης που να μην είναι υβριδογενή ή κλώνοι.

6.2 Ίδρυση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης

Ο σχεδιασμός δειγματοληψίας της φυσικής αναγέννησης (ΦΑ) ακολουθεί τη γενική ιδέα των πολλαπλών κέντρων φυσικής αναγέννησης (υποεπιφάνειες) ώστε να συλλάβει ολόκληρη τη γενετική ποικιλότητα της μαύρης λεύκης και να αξιολογήσει τον κίνδυνο γονιδιακής εισδοχής, υβριδισμού με ξενικά (μη αυτοφυή) είδη λεύκης και με τις ιταλικές καλλιεργούμενες ποικιλίες μαύρης λεύκης (π.χ. *P. nigra* var. *italica*) στη δεδομένη περιοχή. Για τις θέσεις ΦΑ, θα πρέπει να λάβουμε υπόψιν τις πλημμυρικές διαταραχές και συνεπώς, τις διαρκώς μεταβαλλόμενες διαστάσεις των μικροπεριοχών, τις περιβαλλοντικές συνθήκες ή ενδεχομένως ακόμη και την εξαφάνισή τους.

Οι μικροπεριοχές πιθανής ΦΑ θα πρέπει να παρακολουθούνται συχνά (τουλάχιστον μια φορά την εβδομάδα) στο τέλος της περιόδου καρποφορίας, στις αρχές του θέρους (κυρίως από τον Απρίλιο έως τον Ιούνιο) και όπου ανακαλυφθούν πρόσφατα κέντρα ΦΑ, λαμβάνεται άμεσα δείγμα από όσα αρτίφυτα έχουν βλαστήσει ή φέρουν φύλλα σε αρχικό στάδιο ανάπτυξης. Τα κέντρα ΦΑ στα οποία έχει πραγματοποιηθεί δειγματοληψία, πρέπει να χαρτογραφούνται με καταγραφή των συντεταγμένων τους σε GPS. Ιδανικά, 20 υποεπιφάνειες ΦΑ με μέγεθος 1 μ² η καθεμία θα πρέπει να βρίσκονται σε όλη την επιφάνεια ΓΠΔ, με επιπλέον 0,5 χλμ. και στις δύο κατευθύνσεις του ποτάμιου συστήματος.

Στη μαύρη λεύκη θα πρέπει να γίνει δειγματοληψία σε υποεπιφάνειες ΦΑ εξαιτίας της μεγάλης ποικιλότητας η οποία καλύπτει τα απογονικά άτομα σε κάθε θέση. Ιδανικά, 5 φυτά τυχαία επιλεγμένα από κάθε υποεπιφάνεια έκτασης 1 m η καθεμία, θα πρέπει να συλλεχθούν ώστε να συγκεντρωθούν 100 δείγματα συνολικά. Εάν εντοπιστούν λιγότερες από 20 περιοχές ΦΑ, πρέπει να γίνει αναλογικά μεγαλύτερη δειγματοληψία από κάθε υποεπιφάνεια ΦΑ. Όλα τα δείγματα ελέγχονται για υβριδισμό και ανάμεσα σε αυτά, 50 αμιγείς μαύρες λεύκες επιλέγονται τυχαία για περαιτέρω αναλύσεις ΓΠΔ. Εάν δεν είναι δυνατή η λήψη 50 αμιγών φυτών μαύρης λεύκης από τα 100 δείγματα που επιλέχθηκαν, πρέπει να πραγματοποιηθεί δειγματοληψία και δοκιμή μιας επιπλέον ομάδας 100 δειγμάτων έως ότου συμπληρωθεί ο ελάχιστος απαιτούμενος αριθμός 50 γενοτύπων αμιγών ατόμων *Populus nigra* από κέντρα ΦΑ τα οποία χρειάζονται για την ανάλυση ΓΠΔ.

6.3 Συντήρηση επιφανειών

6.3.1 Γενική συντήρηση

Οι σημάνσεις και οι αριθμήσεις των δέντρων πρέπει να ελέγχονται περιοδικά (κάθε 2 έτη) και να επιδιορθώνονται όπου είναι απαραίτητο.

6.3.2 Αντικατάσταση δέντρων

Εάν κάποιο επιλεγμένο δέντρο για γενετική παρακολούθηση νεκρωθεί ή αφαιρεθεί στα πλαίσια της διαχείρισης του δάσους, θα πρέπει να αντικατασταθεί άμεσα. Επιλέγεται το κοντινότερο κατάλληλο δέντρο, λαμβάνοντας υπόψη ότι πρέπει να πληρείται η συνθήκη απόστασης 30μ από το κοντινότερο παρακολουθούμενο δέντρο. Ειδιάλλως, επιλέγεται ένα δέντρο από την περιφέρεια της επιφάνειας παρακολούθησης (στον μεταπληθυσμό).

Σε περίπτωση καταστροφής της κόμης του δέντρου π.χ. καταστροφή από άνεμο, χιόνι ή παγετό χωρίς όμως να επηρεάζεται η δυνατότητα καρποφορίας του, το δέντρο συνεχίζει να παρακολουθείται. Εάν η καταστροφή είναι πολύ έντονη σε σημείο που επηρεάζει την καρποφορία, το επιλεγμένο δέντρο είναι απαραίτητο να αντικατασταθεί. Η αιτία της καταστροφής θα πρέπει να καταγραφεί, καθώς η καταστροφή ίσως να επηρεάσει τις τιμές που έχουν καταγραφεί για επαληθευτές πεδίου και επιπλέον πληροφορίες.

7 Καταγραφή επαληθευτών και επιπλέον πληροφορίες

Η μοριακή γενετική ταυτοποίηση των δασικών δέντρων μαύρης λεύκης, θα πρέπει να πραγματοποιείται με τη χρήση διαγνωστικών γενετικών δεικτών για το είδος. Η ανίχνευση κλωνικότητας τόσο στους μεταπληθυσμούς ενήλικων δέντρων όσο και στα κέντρα αναγέννησης, πρέπει να αξιολογείται από γενετικούς δείκτες ως μέρος των μοριακών γενετικών αναλύσεων. Απαιτείται ένα σύνολο επαληθευμένων δειγμάτων αναφοράς και των δύο (ή ακόμα περισσότερων) ειδών που εμπλέκονται σε διειδικό υβριδισμό για τη διάκριση μεταξύ αμιγών ειδών και διειδικών υβριδίων.

Γενικά, θα πρέπει να λάβετε υπόψιν σας τα εξής:

- Η μαύρη λεύκη έχει μεταπληθυσμιακή δομή.
- Οι περιοχές ΓΠΔ είναι «περιοχές τοπικών πληθυσμών» μέσα στον μεταπληθυσμό.
- Η επιλεγμένη επιφάνεια ΓΠΔ στον μεταπληθυσμό σε όλο το μήκος του υδροτοπικού / ποτάμιου συστήματος, δημιουργεί μια επιφάνεια ΓΠΔ με 50 ώριμα δέντρα μαύρης λεύκης συνολικά.
- Όλα τα ώριμα δέντρα ΓΠΔ μαύρης λεύκης λαμβάνονται υπόψιν για παρατηρήσεις και μετρήσεις.
- Οι μοριακές γενετικές αναλύσεις απαιτείται να γίνονται σε όλα τα επίπεδα παρακολούθησης προκειμένου να αποκλειστούν διειδικά υβρίδια από την ΓΠΔ. Ως εκ τούτου, η ΓΠΔ για αυτό το είδος γίνεται εξαρχής πολύ πιο δαπανηρή συγκριτικά με αυτή για δασικά είδη που φύονται σε συστάδες.

Οι επαληθευτές και οι επιπλέον πληροφορίες, καταγράφονται ανά τακτά χρονικά διαστήματα στην επιφάνεια παρακολούθησης. Οι επαληθευτές χρησιμοποιούνται για την παρακολούθηση της γενετικής ποικιλότητας του πληθυσμού και την προσαρμογή του στις περιβαλλοντικές αλλαγές ή / και στη διαχείριση, ενώ οι επιπλέον πληροφορίες πρέπει να καταγράφονται ώστε να υποβοηθήσουν στην ερμηνεία των επαληθευτών.

Οι υψηλότερου επιπέδου επαληθευτές (τυπικοί, προχωρημένου επιπέδου) πρέπει να περιλαμβάνουν καταγραφή των επαληθευτών και από τις χαμηλότερες κατηγορίες (βασικοί, τυπικοί). Αυτό, δεν είναι απαραίτητο για την καταγραφή των επιπλέον πληροφοριών.

Πίνακας 1: Κατάλογος επαληθευτών και επιπλέον πληροφοριών με σύντομες περιγραφές και συχνότητα παρατήρησης κατά τη διάρκεια εργασιών πεδίου σε επιφάνειες γενετικής παρακολούθησης μαύρης λεύκης

Όνομα	Βασικό επίπεδο	Τυπικό επίπεδο	Προχωρημένο επίπεδο	
Επαληθευτές	Θνησιμότητα/επιβίωση	Ενήλικα άτομα: Μέτρηση υφιστάμενων επιλεγμένων δέντρων κάθε 10 χρόνια, καθώς και μετά από ισχυρή κακοκαιρία/έντονα καιρικά φαινόμενα	Το ίδιο με το βασικό επίπεδο	Το ίδιο με το βασικό επίπεδο
	Ανθοφορία	Φυσική αναγέννηση: ο λόγος θνησιμότητας/επιβίωσης δεν υπολογίζεται για αυτό το είδος	/	/
Επιπλέον πληροφορίες	Καρποφορία	Γνώμη εμπειρογνομόνων σε επίπεδο επιφανειών ΓΠΔ, σε ετήσια βάση.	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κατά τη διάρκεια δύο περιόδων μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία, ιδανικά ισαπέχουσες μεταξύ τους. *	Το ίδιο με το τυπικό επίπεδο, όμως η περίοδος ανθοφορίας καταγράφεται επίσης. *
	Αφθονία φυσικής αναγέννησης	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, το ίδιο έτος με την εκτίμηση της ανθοφορίας τυπικού επιπέδου(ανεξαρτήτως βαθμού καρποφορίας).*	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, το ίδιο έτος με την εκτίμηση της ανθοφορίας τυπικού επιπέδου(ανεξαρτήτως βαθμού καρποφορίας).*	Καταμέτρηση καρπών (Ιούλιο με όψη βαμβακιού με ώριμα περικάρπια), κατά τη διάρκεια του ίδιου έτους που πραγματοποιείται η εκτίμηση ανθοφορίας στο προχωρημένο επίπεδο, ανεξάρτητα από τον βαθμό καρποφορίας. * Σε αυτό το επίπεδο, συλλέγονται επίσης σπέρματα για εργαστηριακές αναλύσεις σε κάθε καρποφορία που αξιολογείται στο προχωρημένο επίπεδο.
Επιπλέον πληροφορίες	Κατανομή κλάσεων διαμέτρου	Γνώμη εμπειρογνομόνων σε επίπεδο επιφανειών ΓΠΔ. **	Καταμέτρηση των φυταρίων σε έως 20 κέντρα ΦΑ , μόνο στα νέα βλαστήματα ΦΑ, μετά από κάθε αξιολογημένη μεγάλη καρποφορία. Επίσης, ταυτόχρονα συλλέγονται δείγματα για γενετικές αναλύσεις. **	Το ίδιο με το τυπικό επίπεδο. **
	Κατανομή υψομετρικών κλάσεων	/	Μέτρηση κάθε 10 έτη	Το ίδιο με το τυπικό επίπεδο
	Έκπτυξη οφθαλμών	/	Μέτρηση κάθε 10 έτη	Το ίδιο με το τυπικό επίπεδο
	Φθινοπωρινός μαρασμός	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κάθε 5 έτη	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, ετησίως
	Συγχρονισμός ανθοφορίας	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κάθε 5 έτη	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, ετησίως
	/	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κατά τη διάρκεια κάθε αξιολογημένης μεγάλης ανθοφορίας	

* Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος μαζικής ανθοφορίας πρέπει να αξιολογείται ανά δεκαετία. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δεν οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε την επόμενη περίοδο ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου τόσο η ανθοφορία, όσο και η πληροκαρπία, ανεξάρτητα του χρόνου που έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών περιόδων. Το βασικό επίπεδο παρατήρησης χρησιμοποιείται για την αναγνώριση των περιόδων ανθοφορίας και πληροκαρπίας.

** Εάν δεν υπάρχουν νέα κέντρα ΦΑ μετά από μια αξιολογημένη περίοδο μαζικής ανθοφορίας και πληροκαρπίας (σε περίπτωση που μια πλημμύρα καταστρέψει τα αρτίφυτα), τότε η αξιολόγηση και των τριών επαληθευτών (ανθοφορία, καρποφορία και αφθονία φυσικής αναγέννησης) θα πρέπει να επαναληφθεί στην επόμενη περίοδο μεγάλης ανθοφορίας, ανεξάρτητα από τον χρόνο που μπορεί να έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών περιόδων. Οι παρατηρήσεις του βασικού επιπέδου χρησιμοποιούνται για την αναγνώριση των περιόδων ανθοφορίας και πληροκαρπίας.

7.1 Πρωτόκολλα για την καταγραφή επαληθευτών

7.1.1 Θνησιμότητα / επιβίωση

Ο όρος θνησιμότητα χαρακτηρίζει τη θνησιμότητα των ενήλικων ατόμων. Από την άλλη, η επιβίωση χαρακτηρίζει τα άτομα εκείνα που έχουν παραμείνει ζωντανά από την προηγούμενη αξιολόγηση. Η επιβίωση προκύπτει από τη σχέση $\text{Επιβίωση} = (1 - \text{Θνησιμότητα})$.

7.1.1.1 Ενήλικα άτομα: Βασικό, τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Επαληθευτής για τη θνησιμότητα ενήλικων ατόμων. Υπολογίζεται με καταμέτρηση των ζωντανών αριθμημένων δέντρων κάθε 10 έτη, καθώς και έπειτα από ακραίες καιρικές συνθήκες. Η θνησιμότητα υπολογίζεται ως η διαφορά μεταξύ του αρχικού αριθμού των 50 επιλεγμένων δέντρων, μείον τον τελικό αριθμό των εναπομεινάντων, επιλεγμένων δέντρων.

7.1.2 Ανθοφορία

Ο επαληθευτής περιγράφει την ένταση της ανθοφορίας καθώς και την αναλογία δέντρων που βρίσκονται σε κατάσταση ανθοφορίας. Καταγράφεται τον Απρίλιο στην κεντρική Ευρώπη και ενδεχομένως νωρίτερα στη νότια Ευρώπη. Η ανθοφορία πραγματοποιείται νωρίτερα όταν προηγείται ένας χειμώνας με αυξημένες θερμοκρασίες.

7.1.2.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κάθε έτος σε επίπεδο συστάδας. Η καταγραφή γίνεται όταν η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη. Ο υπολογισμός της μέσης κατάστασης πραγματοποιείται μετά από αυτοψία στην επιφάνεια παρακολούθησης. Δίνονται δύο τιμές, η μία για την ένταση της ανθοφορίας και η άλλη για την αναλογία των ατόμων σε στάδιο ανθοφορίας στη συστάδα.

Κωδικός	Ένταση ανθοφορίας σε επίπεδο συστάδας	Μέση αναλογία ανθοφορίας στην κόμη (%)
1	Απουσία ανθοφορίας: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση ανθέων στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης ανθοφορία: Μερικά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μεσαίας έντασης ανθοφορία: Αρκετά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης ανθοφορία: Άφθονα άνθη στα δέντρα	> 60 – 90
5	Μαζική ανθοφορία: Τεράστιος αριθμός ανθέων στα δέντρα	> 90

Κωδικός	Αναλογία δέντρων της συστάδας σε κάθε στάδιο έντασης ανθοφορίας (%)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

7.1.2.2 Τυπικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κατά τη διάρκεια δύο μαζικών περιόδων ανθοφορίας ανά δεκαετία, οι οποίες ιδανικά, ισαπέχουν χρονικά μεταξύ τους. Καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου σε κάθε ένα από τα 50 παρατηρούμενα άτομα. Ως στάδιο μαζικής ανθοφορίας θεωρείται η ανθοφορία που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησής της, έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση ανθοφορίας είναι σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5). Η καταγραφή πραγματοποιείται όταν η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη. Για κάθε δέντρο ορίζεται μία τιμή.

Κωδικός	Περιγραφή έντασης ανθοφορίας	Αναλογία ανθοφορίας στην κόμη (%)
1	Απουσία ανθοφορίας: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση ανθέων στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης ανθοφορία: Μερικά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μεσαίας έντασης ανθοφορία: Αρκετά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης ανθοφορία: Άφθονα άνθη στα δέντρα	> 60 – 90
5	Μαζική ανθοφορία: Τεράστιος αριθμός ανθέων στα δέντρα	> 90

7.1.2.3 Προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κατά τη διάρκεια δύο μαζικών περιόδων ανθοφορίας ανά δεκαετία, οι οποίες ιδανικά, ισπαέχουν χρονικά μεταξύ τους. Καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου σε κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα άτομα. Στάδιο μαζικής ανθοφορίας θεωρείται η ανθοφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση ανθοφορίας είναι σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5).

Καταγράφονται δύο τιμές για κάθε δέντρο: το στάδιο ανθοφορίας ώστε να περιγραφεί το επίπεδο ανάπτυξης των ανθοφόρων οφθαλμών για θηλυκά και αρσενικά δέντρα με ένταση ανθοφορίας και το ποσοστό της ανθοφορίας κόμης. Χρειάζονται κατά μέσο όρο δύο επισκέψεις στην επιφάνεια παρακολούθησης, η πρώτη αρκετά νωρίς ώστε να παρατηρηθούν τα πρώιμα στάδια της ανθοφορίας και η δεύτερη, όταν πλέον η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη. Μπορούν να εκτιμηθούν επιπλέον πληροφορίες, που αφορούν τον συγχρονισμό ανθοφορίας, από τις τιμές για τα αρσενικά και τα θηλυκά άνθη οι οποίες καταγράφονται με αυτόν τον επαληθευτή. Μπορείτε να ανατρέξετε στις Εικόνες 6 και 7 για την γραφική απεικόνιση των σταδίων ανθοφορίας.

Κωδικός	Στάδιο ανθοφορίας θηλυκών ανθέων
1	Θηλυκοί ανθοφόροι οφθαλμοί μη ενεργοί (οφθαλμοί καφέ χρώματος)
2	Το μέγεθος των θηλυκών ανθοφόρων οφθαλμών αυξάνεται και αρχίζουν να εκπτύσσονται (οφθαλμοί ανοιχτού πράσινου χρώματος)
3	Επιμήκυνση άνθους (κοντά άνθη ανοιχτού πράσινου χρώματος)
4	Άνοιγμα ανθέων (ίουλοι πρασινωπού χρώματος)
5	Ώριμα άνθη (πλήρως ανεπτυγμένα άνθη ωχροπράσινου χρώματος στους ίουλους)

Κωδικός	Στάδιο ανθοφορίας αρσενικών ανθέων
1	Αρσενικοί ανθοφόροι οφθαλμοί μη ενεργοί (οφθαλμοί καφέ χρώματος)
2	Το μέγεθος των αρσενικών ανθοφόρων οφθαλμών αυξάνεται και αρχίζουν να εκπτύσσονται (οφθαλμοί ανοιχτού πράσινου χρώματος)
3	Επιμήκυνση άνθους (κοντά άνθη κοκκινωπού μωβ χρώματος)
4	Ώριμα άνθη (πλήρως ανεπτυγμένα άνθη με γύρη σε ίουλους)
5	Τα άνθη ξεραίνονται και πέφτουν

Κωδικός	Ένταση ανθοφορίας για κάθε δέντρο, ισχύει και για τα δύο φύλα	Αναλογία ανθοφορίας στην κόμη (%)
1	Απουσία ανθοφορίας: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση ανθέων στα δέντρα	0-10
2	Μικρής έντασης ανθοφορία: Μερικά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	>10-30
3	Μεσαίας έντασης ανθοφορία: Αρκετά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	>30-60
4	Ισχυρής έντασης ανθοφορία: Άφθονα άνθη στα δέντρα	>60-90
5	Μαζική ανθοφορία: Τεράστιος αριθμός ανθέων στα δέντρα	>90



Εικόνα 6: Οδηγός των σταδίων ανθοφορίας των αρσενικών κοκκινωπών μωβ χρώματος ίουλων για τον επαληθευτή «ανθοφορία» στο προχωρημένο επίπεδο.



Εικόνα 7: Οδηγός για των σταδίων ανθοφορίας των θηλυκών ίουλων κίτρινο-πράσινου χρώματι επαληθευτή Ανθοφορία στο προχωρημένο επίπεδο.

7.1.3 Καρποφορία

Αυτός ο επαληθευτής περιγράφει την παρουσία καρπών και την αφθονία τους. Τα δεδομένα για αυτόν τον επαληθευτή θα πρέπει να συλλέγονται κατά την διάρκεια της καρποφορίας, κυρίως από τα τέλη Απριλίου έως τον Ιούνιο, στην κεντρική Ευρώπη.

7.1.3.1 Βασικό και τυπικό επίπεδο

Αυτός ο επαληθευτής καταγράφεται κατά τα ίδια έτη με την αξιολόγηση της ανθοφορίας στο τυπικό και στο προχωρημένο επίπεδο (ανεξάρτητα από την ένταση της καρποφορίας). Καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου, σε όλα τα θηλυκά υπό παρακολούθηση δέντρα (ιδανικά 25). Η καταγραφή πραγματοποιείται πριν αρχίσουν να πέφτουν τα σπέρματα. Για κάθε δέντρο δίνεται μία τιμή.

Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος πληροκαρπίας πρέπει να αξιολογείται μετά από μία παρατηρούμενη περίοδο μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δεν οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε στην επόμενη περίοδο ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου τόσο η ανθοφορία όσο και η πληροκαρπία, ανεξάρτητα του χρόνου που έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών περιόδων. Οι παρατηρήσεις βασικού επιπέδου χρησιμοποιούνται για να αναγνωρισθεί η περίοδος πληροκαρπίας. Στάδιο πληροκαρπίας θεωρείται η καρποφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική καρποφορία (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση καρποφορίας είναι σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5).

Κωδικός	Ένταση καρποφορίας	Αναλογία καρποφορίας στην κόμη (%)
1	Απουσία καρποφορίας: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση καρπών στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης καρποφορία: Μερικοί καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μεσαίας έντασης καρποφορία: Αρκετοί καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης καρποφορία: Άφθονοι καρποί στα δέντρα	> 60 – 90
5	Πληροκαρπία: Τεράστιες ποσότητες καρπών στα δέντρα	> 90

Κωδικός	Αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση καρποφορίας (%)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

7.1.3.2 Προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κατά τα ίδια έτη με την αξιολόγηση της ανθοφορίας στο βασικό, τυπικό και προχωρημένο επίπεδο (ανεξάρτητα από την ένταση της καρποφορίας). Καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου, σε όλα τα θηλυκά υπό παρακολούθηση δέντρα (ιδανικά 25). Η καταγραφή πραγματοποιείται πριν αρχίσουν να πέφτουν τα σπέρματα. Για κάθε δέντρο δίνεται μία τιμή. Ταυτόχρονα, συλλέγονται σπέρματα από 20 θηλυκά δέντρα για ανάλυση σπερμάτων και γενετικές αναλύσεις για τους επαληθευτές προχωρημένου επιπέδου και για την καταγραφή επιπλέον πληροφοριών.

Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος πληροκαρπίας πρέπει να αξιολογείται μετά από μία παρατηρούμενη περίοδος μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δεν οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε στην επόμενη περίοδο ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου τόσο η ανθοφορία όσο και η πληροκαρπία, ανεξάρτητα του χρόνου που έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών περιόδων. Οι παρατηρήσεις βασικού επιπέδου χρησιμοποιούνται για την αναγνώριση της πληροκαρπίας. Στάδιο πληροκαρπίας θεωρείται η καρποφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική καρποφορία (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση καρποφορίας είναι σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5).

Ο επαληθευτής καταγράφεται με καταμέτρηση καρπών (ιούλοι που μοιάζουν με βαμβάκι με ώριμα περικάρπια) χρησιμοποιώντας κιάλια. Σημειώνεται ο μέσος όρος που προκύπτει από τρεις επαναλαμβανόμενες μετρήσεις. Η κάθε μέτρηση, εμπεριέχει τον αριθμό των καρπών που ο παρατηρητής καταμέτρησε μέσα σε 30 δευτερόλεπτα. Για όλα τα δέντρα, εξετάζεται το ίδιο μέρος της κόμης. Μόλις επιλεγθεί το μέρος της κόμης το οποίο θα εξεταστεί, ο παρατηρητής θα πρέπει να εστιάσει σε αυτό και για κάθε επόμενη μέτρηση που θα πραγματοποιήσει για αυτόν τον επαληθευτή. Προτείνεται για την καταμέτρηση να εξεταστεί το ανώτερο τρίτο της κόμης σε σχέση με το ενδιάμεσο ή το κατώτερο.

Σημειώνονται δύο τιμές, ο αριθμός των καρπών και το μέρος της κόμης που εξετάστηκε.

Αριθμός καρπών που καταμετρήθηκε σε 30 δευτερόλεπτα (μέσος όρος 3 μετρήσεων)

X

Κωδικός Μέρος της κόμης το οποίο εξετάστηκε

- | | |
|---|-----------|
| 1 | Κατώτερο |
| 2 | Ενδιάμεσο |
| 3 | Ανώτερο |

7.1.4 Παρουσία φυσικής αναγέννησης και αφθονία

Ο επαληθευτής περιγράφει την παρουσία και την αφθονία της φυσικής αναγέννησης στην επιφάνεια παρακολούθησης.

7.1.4.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται σε επίπεδο επιφάνειας ΓΠΔ ετησίως, στα τέλη της άνοιξης έως τις αρχές του καλοκαιριού. Χρησιμοποιείται η άποψη τοπικών εμπειρογνομόνων για την εκτίμησή του, λαμβάνοντας υπόψιν την κατάσταση στην επιφάνεια ΓΠΔ στο σύνολο της.

Κωδικός Περιγραφή: νέα φυσική αναγέννηση (αρτίφυτα της τρέχουσας χρονιάς)

- | | |
|----|--|
| 1a | Καθόλου ή ελάχιστη νέα φυσική αναγέννηση στην επιφάνεια παρακολούθησης |
| 2a | Υπάρχει νέα φυσική αναγέννηση και αντιπροσωπεύεται από ικανό αριθμό ατόμων στην επιφάνεια παρακολούθησης |

Κωδικός Περιγραφή: εγκατεστημένη φυσική αναγέννηση (φυτάρια)

- | | |
|----|--|
| 1b | Καθόλου ή ελάχιστη νέα φυσική αναγέννηση στην επιφάνεια παρακολούθησης |
| 2b | Εγκατεστημένη φυσική αναγέννηση σε ικανό αριθμό ατόμων στην επιφάνεια παρακολούθησης |



Εικόνα 8: Φυτάριο μαύρης λεύκης της τρέχουσας χρονιάς με χαρακτηριστικές κοτυληδόνες ή φύλλα σε αρχικό στάδιο ανάπτυξης.

7.1.4.2 Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται με την καταμέτρηση των φυταρίων του τρέχοντος έτους (Εικόνα 8) μετά από κάθε περίοδο πληροκαρπίας σε έως 20 κέντρα ΦΑ. Σημειώνεται ότι δεν ιδρύονται υποεπιφάνειες ΦΑ για την μαύρη λεύκη, λόγω της μεγάλης αναμενόμενης απώλειας περιοχών ΦΑ εξαιτίας των τακτικών πλημμυρών των ποταμών. Κατά συνέπεια, η καταμέτρηση πραγματοποιείται μόνο μια φορά, απευθείας μετά την αναγέννηση και η επιβίωση / θνησιμότητα της ΦΑ για αυτό το είδος δεν αξιολογείται. Ταυτόχρονα, δείγματα ΦΑ συλλέγονται για γενετικές αναλύσεις.

Καταμέτρηση φυταρίων:

Όλα τα φυτάρια μαύρης λεύκης τα οποία βρίσκονται σε καθένα από τα 20 κέντρα ΦΑ θα πρέπει να καταμετρηθούν. Οποιαδήποτε άλλα μεγαλύτερα φυτάρια μαύρης λεύκης τα οποία βρίσκονται στα κέντρα ΦΑ δε θα πρέπει να συμπεριληφθούν.

Εάν δεν υπάρχουν νέα κέντρα ΦΑ μετά από μια μαζική ανθοφορία και πληροκαρπία, (μετά από κάποιο γεγονός όπως π.χ. πλημμύρα η οποία κατέστρεψε τα αρτίφυτα) τότε η αξιολόγηση των τριών επαληθευτών (ανθοφορία, καρποφορία και αφθονία φυσικής αναγέννησης) θα πρέπει να επαναληφθεί στην επόμενη περίοδο μαζικής ανθοφορίας, ανεξάρτητα από τον χρόνο που μπορεί να έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών περιόδων. Οι παρατηρήσεις του βασικού επιπέδου χρησιμοποιούνται για την αναγνώριση των περιόδων ανθοφορίας και πληροκαρπίας.

Εάν δεν έχουν δημιουργηθεί νέα κέντρα ΦΑ μέσα σε 5 συνεχόμενα έτη γενετικής παρακολούθησης (μετά από 2 περιόδους πληροκαρπίας μέσα σε μια δεκαετία) τότε η ΦΑ θα πρέπει να εκτιμηθεί μια φορά τη δεκαετία σε ήδη επιτυχημένα σημεία ΦΑ. Σε τέτοιες περιπτώσεις, η κατά προσέγγιση ηλικία της ΦΑ θα πρέπει να αξιολογείται και να καταγράφεται.

Αριθμός φυταρίων ανά υποεπιφάνεια

X

7.2 Πρωτόκολλα για την καταγραφή επιπλέον πληροφοριών

7.2.1 Κατανομή κλάσεων στηθιαίας διαμέτρου κορμών

7.2.1.1 Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Η στηθιαία διάμετρος DBH καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου και για τα 50 υπό παρακολούθηση δέντρα, ανά δεκαετία. Η στηθιαία διάμετρος είναι η διάμετρος του κορμού σε ύψος 1,30 μ, δηλαδή περίπου στο ύψος του στήθους σε έναν ενήλικα. Εάν ένα δέντρο έχει περισσότερους από έναν κορμούς, προτείνεται η μέτρηση όλων των κορμών και η καταγραφή του μέσου όρου τους (αποφύγετε όμως δέντρα με πολλούς μικρούς κορμούς). Σημειώστε επίσης εάν το δέντρο έχει πολλαπλούς και πόσους κορμούς. Εάν το δέντρο γέρνει, τότε μετράτε τη στηθιαία διάμετρο κάθετα στον κορμό. Η στηθιαία διάμετρος μετράται με δύο τρόπους:

- 1) Με τη χρήση παχυμέτρου όπου παίρνετε δύο κάθετες διαμέτρους και υπολογίζετε το μέσο όρο τους.
- 2) Με τη μέτρηση της περιμέτρου του δέντρου και τον υπολογισμό της διαμέτρου σύμφωνα με αυτή τη μέτρηση (π.χ. διαιρώντας με το π~ 3,14).

Η στηθιαία διάμετρος αποτυπώνεται σε εκατοστά. Η ίδια μέθοδος εφαρμόζεται για κάθε ακόλουθη μέτρηση.

7.2.2 Κατανομή κλάσεων ύψους

7.2.2.1 Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Το ύψος καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα δέντρα ανά δεκαετία. Το ύψος μετράται από το έδαφος στο υψηλότερο σημείο της κόμης, χρησιμοποιώντας είτε κλισίμετρο είτε υψόμετρο. Το ύψος αποτυπώνεται σε μέτρα και στρογγυλοποιείται στο πιο κοντινό ακέραιο ψηφίο. Εάν η κόμη είναι κατεστραμμένη, αυτό θα πρέπει να καταγραφεί ως παρατήρηση το ίδιο και η καθορισμένη αιτία καταστροφής της.

7.2.3 Έκπτυξη οφθαλμών

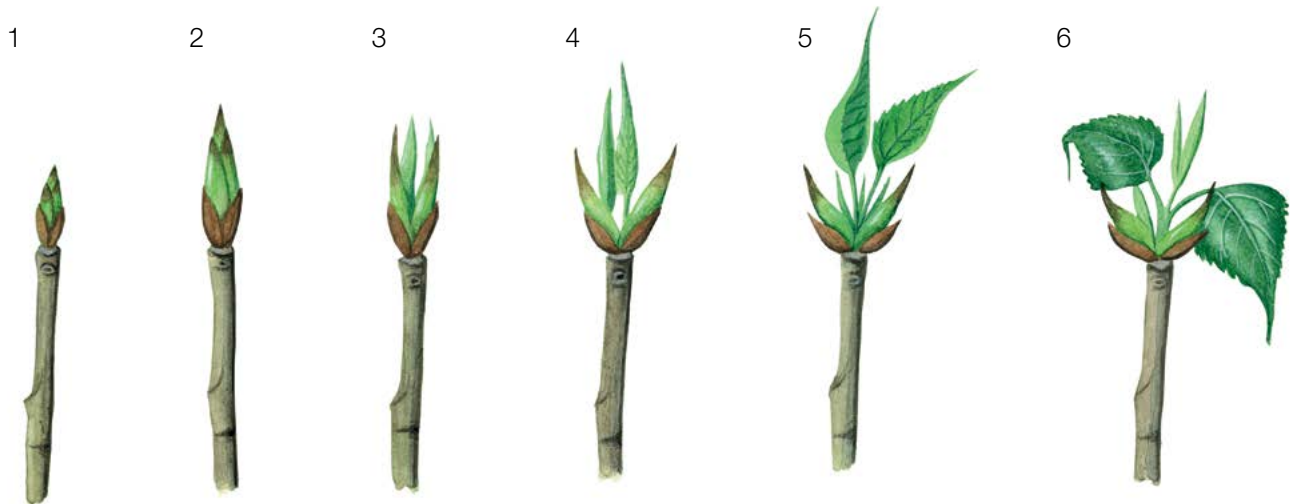
Η έκπτυξη οφθαλμών περιγράφει την έκπτυξη φυλλώματος. Η έκπτυξη οφθαλμών είναι μια επιπλέον πληροφορία, η καταγραφή της οποίας πραγματοποιείται μόνο στο τυπικό και στο προχωρημένο επίπεδο. Στην μαύρη λεύκη, η έκπτυξη φυλλώματος πραγματοποιείται μετά την έκπτυξη ανθέων. Οι σχετικές πληροφορίες θα πρέπει να συλλέγονται κατά την περίοδο Μαρτίου- Μαΐου στην Κεντρική Ευρώπη και ενδεχομένως νωρίτερα στη νότια Ευρώπη. Η έκπτυξη οφθαλμών πραγματοποιείται νωρίτερα όταν προηγείται ένας χειμώνας με αυξημένες θερμοκρασίες.

7.2.3.1 Τυπικό επίπεδο

Στο τυπικό επίπεδο, η έκπτυξη των οφθαλμών, καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα άτομα ανά πενταετία. Για κάθε δέντρο, δίνονται δύο τιμές: το στάδιο έκπτυξης οφθαλμών και η αναλογία της έκπτυξης οφθαλμών στην κόμη. Για τη γραφική παρουσίαση των σταδίων έκπτυξης των οφθαλμών, δείτε την Εικόνα 9.

Κωδικός	Στάδιο	Στάδιο έκπτυξης οφθαλμών
1	Οφθαλμός σε χειμερινό λήθαργο	Οφθαλμοί οι οποίοι είναι εντελώς καλυμμένοι με προστατευτικό κάλυμμα έως την πρώτη διόγκωσή τους
2	Διόγκωση	Οφθαλμός διογκωμένος και επιμήκης
3	Έναρξη έκπτυξης	Έκπτυξη οφθαλμών
4	Διαχωρισμός των φύλλων	Οι οφθαλμοί έχουν ανοίξει εντελώς, τα φύλλα παραμένουν διπλωμένα
5	Επιμήκυνση φύλλων	Τα φύλλα με τα ελάσματά τους αναδύονται
6	Κάθετη ανάπτυξη	Τα φύλλα έχουν ανοίξει εντελώς και είναι πλήρως ανεπτυγμένα

Κωδικός	Αναλογία κόμης σε κάθε στάδιο έκπτυξης οφθαλμών (%)
1	> 0 – 33%
2	> 33 – 66%
3	> 66 – 99%
4	100%



Εικόνα 9: Οδηγός για την περιγραφή της έκπτυξης οφθαλμών (έκπτυξη φυλλώματος) στο τυπικό και προχωρημένο στάδιο της επιπλέον πληροφoρίας ‘Έκπτυξη οφθαλμών’.

7.2.3.2 Προχωρημένο επίπεδο

Στο προχωρημένο επίπεδο, καταγράφεται η έκπτυξη οφθαλμών σε επίπεδο δέντρου για καθένα από τα 50 δέντρα που παρακολουθούνται, ετησίως. Στο επίπεδο αυτό, αναζητούμε την έναρξη της έκπτυξης των οφθαλμών (στάδιο 3) και την ολοκλήρωση της έκπτυξής τους (στάδιο 6). Η παρατήρηση σταματάει όταν όλα τα δέντρα έχουν φτάσει στο επίπεδο 6. Συνήθως, απαιτούνται δύο επισκέψεις. Για τις τιμές (στάδιο έκπτυξης φυλλώματος και ποσοστό επηρεασμένης κόμης), μπορείτε να ανατρέξετε στην Ενότητα 7.2.3.1 Τυπικό επίπεδο.

7.2.4 Φθινοπωρινός μαρρασμός

Ο φθινοπωρινός μαρρασμός περιγράφει την διαδικασία ωρίμανσης και πτώσης των φύλλων. Η καταγραφή αυτής της παραμέτρου γίνεται μόνο στο τυπικό και το προχωρημένο επίπεδο.

7.2.4.1 Τυπικό επίπεδο

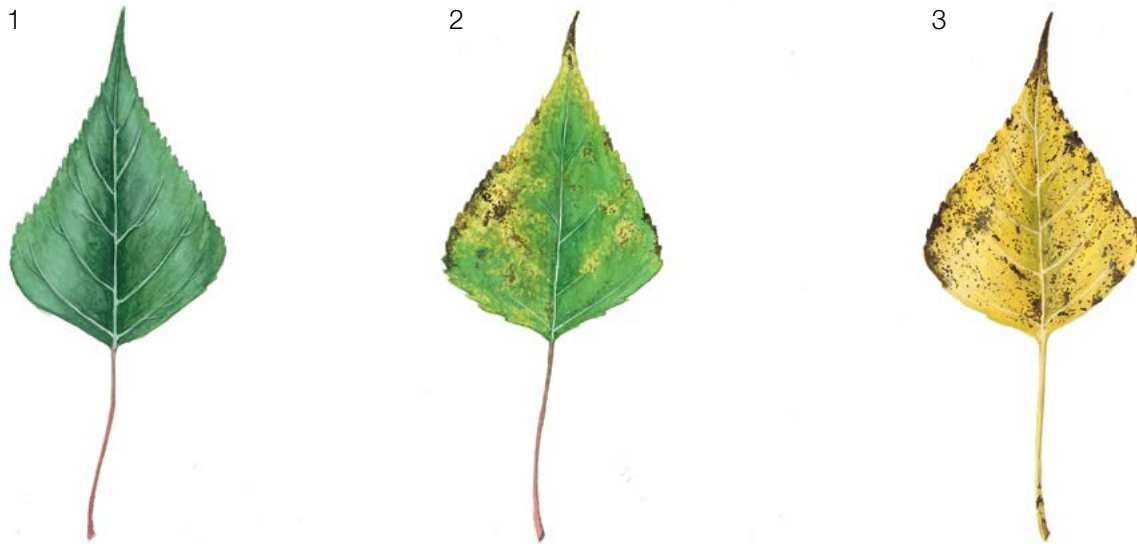
Στο τυπικό επίπεδο, ο φθινοπωρινός μαρρασμός καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου σε κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα άτομα, ανά πενταετία. Για κάθε δέντρο, δίνονται δύο τιμές : το στάδιο μαρρασμού και η αναλογία της κόμης σε μαρρασμό. Για τη γραφική απεικόνιση των σταδίων μαρρασμού, μπορείτε να δείτε την Εικόνα 10.

Κωδικός Στάδιο μαρρασμού	
1	Φύλλα πράσινα
2	Φύλλα πρασινωπά, προς το κίτρινο (ωχροπράσινα)
3	Φύλλα κίτρινα προς το καφετί (καφεκίτρινα)
4	Φύλλα καφέ / απόπτωση

Κωδικός	Αναλογία κόμης σε κάθε στάδιο μαρρασμού (%)
1	> 0 – 33%
2	> 33 – 66%
3	> 66 – 99%
4	100%

7.2.4.2 Προχωρημένο επίπεδο

Ο φθινοπωρινός μαρρασμός καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου σε καθένα από τα 50 δέντρα που βρίσκονται υπό παρακολούθηση, ετησίως. Στο επίπεδο αυτό, αναζητούμε το στάδιο 3, όταν τα φύλλα είναι κίτρινου χρώματος και δε φωτοσυνθέτουν πια. Οι παρατηρήσεις τερματίζονται όταν όλα τα δέντρα έχουν φτάσει στο στάδιο 3. Για τις τιμές (στάδιο μαρρασμού και ποσοστό κόμης σε αυτό το στάδιο) μπορείτε να ανατρέξετε στην Ενότητα 7.2.4.1 Τυπικό επίπεδο.



Εικόνα 10: Φωτογραφικός οδηγός για την περιγραφή της επιπλέον πληροφορίας Φθινοπωρινός μαρρασμός (η φάση 4 δεν εμφανίζεται) για το τυπικό και προχωρημένο επίπεδο.

7.2.5 Συγχρονισμός ανθοφορίας

7.2.5.1 Προχωρημένο επίπεδο

Ο συγχρονισμός ανθοφορίας καταγράφεται μόνο στο προχωρημένο επίπεδο και βασίζεται στα δεδομένα που λήφθηκαν από τον επαληθευτή «ανθοφορία» (βλέπε 7.1.2.3). Χρησιμοποιείται για να προσδιορίσει εάν ο χρόνος ανθοφορίας των αρσενικών και των θηλυκών δέντρων, συμπίπτει μέσα στη συστάδα παρακολούθησης.

Για την ίδρυση επιφάνειας χρησιμοποιήστε το Έντυπο Υπόδειγμα «Περιγραφή επιφάνειας ΓΠΔ»

Για την καταγραφή των επαληθευτών χρησιμοποιήστε το «Έντυπο Υπόδειγμα για την καταγραφή επαληθευτών στο πεδίο, εντός της επιφάνειας ΓΠΔ»

Για τις επιπλέον πληροφορίες χρησιμοποιήστε το «Έντυπο Υπόδειγμα για την καταγραφή επιπλέον πληροφοριών στο πεδίο, εντός της επιφάνειας ΓΠΔ»

8 Βιβλιογραφία

1. Smulders MJM, Cottrell JE, Lefèvre F, van der Schoot J, Arens P, Vosman B, Tabbener HE, Grassi F, Fossati T, Castiglione S, Krystufek V, Fluch S, Burg K, Vornam B, Pohl A, Gebhardt K, Alba N, Agúndez D, Maestro C, Notivol E, Volosyanchuk R, Pospíšková M, Bordács S, Bovenschen J, van Dam BC, Koelewijn HP, Halfmaerten D, Ivens B, van Slycken J, Vanden Broeck A, Storme V, Boerjan W (2008) Structure of the genetic diversity in black poplar (*Populus nigra* L.) populations across European river systems: Consequences for conservation and restoration. *Forest Ecol Manag* 255(5–6):1388–1399. DOI:10.1016/j.foreco.2007.10.063
2. Lefèvre F, Barsoum N, Heinze B, Kajba D, Rotach P, de Vries S, Turok J (2001). EUFORGEN Technical Bulletin: *In situ* conservation of *Populus nigra*. International Plant Genetic Resources Institute, Rome
3. Lefèvre F, Bordács S, Cottrell JE, Gebhardt K, Smulders MJM, Vanden Broeck A, Vornam B, van Dam BC (2002) Recommendation for riparian ecosystem management based on the general frame defined in EUFORGEN and results from EUROPOP. In: van Dam BC, Bordács S (eds) Genetic diversity in river populations of European Black Poplar (Implications for riparian eco-system management). Csizsár Nyomda, Budapest, pp 157-161
4. Jelić M, Patenković A, Skorić M, Mišić D, Kurballija Novičić Z, Bordács S, Varhidi F, Vasić I, Benke A, Frank G, Šiler B (2015) Indigenous forests of European black poplar along the Danube River: genetic structure and reliable detection of introgression. *Tree Genet Genomes* 11:89 <https://doi.org/10.1007/s11295-015-0915-5>
5. Eckenwalder JE (1996) Systematics and evolution of *Populus*. In: Stettler RF, Bradshaw HD. Jr, Heilman PE, Hinckley TM (eds) *Biology of Populus and Its Implications for Management and Conservation*. NRC Research Press, Ottawa, pp. 7–32. <https://doi.org/10.1139/9780660165066>
6. Rotach P (2001) General consideration and basic strategies. In: Lefevre F, Barsoum N, Heinze B, Kajba D, Rotach P, de Vries SMG, Turok J (eds) EUFORGEN technical bulletin: in situ conservation of *Populus nigra*. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, pp 8-15
7. Heinze B, Lefevre F (2001) Genetic considerations for the restoration of riparian populations. In: Lefevre F, Barsoum N, Heinze B, Kajba D, Rotach P, de Vries SMG, Turok J (eds) EUFORGEN technical bulletin: in situ conservation of *Populus nigra*. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, pp 25–35
8. Allegri E (1971) Identification of species and varieties of poplar indigenous in Italy. *Annali dell Istituto Sperimentale per la Selvicoltura* 2:1-62
9. Popivshchy II; Prokazin AE; Routkovsky LV (1997) Black poplar in the Russian Federation. In: Turok J, Lefèvre F, de Vries S, Toth B (eds) *Populus nigra* Network. Report of the third meeting, Sarvar, Hungary, 5-7 October 1996, IPGRI, Rome, pp 46-52.
10. Dickmann D, Kuzovkina J (2014) Poplars and Willows in the World, With Emphasis on Silviculturally Important Species. In: Isebrands JG, Richardson J (eds) *Poplars and Willows: Trees for Society and the Environment*. FAO UN, CABI, Rome, pp 8-91. <http://dx.doi.org/10.1079/9781780641089.0008>
11. de Rigo D, Enescu CM, Houston Durrant T, Caudullo G (2016) *Populus nigra* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: San-Miguel-Ayanz J, de Rigo D, Caudullo G, Houston Durrant T, Mauri A (eds) *European Atlas of Forest Tree Species*. Publ. Off. EU, Luxembourg, pp 136-137. DOI: 10.2788/4251
12. Fitschen JB (2002) *Gehölzflora*. Quelle & Meyer Verlag, Wiebelsheim, pp 45-1; 45–7
13. Roloff A, Bärtels A (2006) *Flora der Gehölze*. Eugen UlmerKG, Stuttgart, pp 457–464
14. Vanden Broeck A (2003) Technical guidelines for genetic conservation and use of European Black Poplar (*Populus nigra* L.). International Plant Genetic Resources Institute, Rome
15. Braatne JH, Rood SB, Heilman PE (1996) Life history, ecology, and conservation of riparian cottonwoods in North America. In: Stettler RF, Bradshaw HD, Heilman PE, Hinckley TM (eds.) *Biology of Populus and its Implications for Management and Conservation*. NRC Research Press, Ottawa, pp 57–80. <https://doi.org/10.1139/9780660165066>
16. Mahoney JM, Rood SB (1998) Streamflow requirements for cottonwood seedling recruitment—an integrative model. *Wetlands* 18:634–645. <https://doi.org/10.1007/BF03161678>
17. Barsoum N (2001) Regeneration requirements and promotion measures. In: Lefevre F, Barsoum N, Heinze B, Kajba D, Rotach P, de Vries SMG, Turok J (eds) EUFORGEN technical bulletin: insitu conservation of *Populus nigra*. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, pp 16–24
18. Guilloy-Froget H, Muller E, Barsoum N, Hughes FMR (2002) Dispersal, germination, and survival of *Populus nigra* L. (*Salicaceae*) in changing hydrologic conditions. *Wetlands* 22:478–488. [https://doi.org/10.1672/0277-5212\(2002\)022\[0478:DGASOP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1672/0277-5212(2002)022[0478:DGASOP]2.0.CO;2)
19. Rihardson J, Isebrands JG, Ball JB (2014) Ecology and Physiology of *Populus* and Willows. In: Isebrands JG, Richardson J (eds) *Poplars and Willows: Trees for Society and the Environment*. CAB International, Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), pp 92-123. <http://dx.doi.org/10.1079/9781780641089.0008>
20. Zsuffa L (1974) The genetics of *Populus nigra* L. *Annales Forestales* 6:29–53

21. Ballian D (2017) Varijabilnost crne topole (*Populus nigra* L.) i njeno očuvanje u Bosni i Hercegovini. (Variability of Black poplar (*Populus nigra* L.) and its preservation in Bosnia and Herzegovina). Forestry Faculty of the University of Sarajevo/Silva Slovenica – Slovenian Forestry Institute Publishing Centre, Sarajevo/Ljubljana.
22. Lefèvre F, Légionnet A, de Vries S, Turok J (1998) Strategies for the conservation of a pioneer tree species, *Populus nigra* L., in Europe. *Genet Sel Evol* 30:S181 <https://doi.org/10.1186/1297-9686-30-S1-S181>
23. Bordács S, Bach I (2014) Restoration and afforestation with *Populus nigra* in Hungary. In: Bozzano M, Jalonen R, Thomas E, Boshier D, Gallo L, Cavers S, Bordács S, Smith P, Loo J (eds) Genetic considerations in ecosystem restoration using native tree species: State of the World's Forest Genetic Resources. Thematic study, Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), pp 233-235. <http://www.fao.org/3/a-i3938e.pdf>. Accessed 10 August 2020
24. EUFORGEN Identification Sheet of *Populus nigra* L. http://www.euforgen.org/fileadmin/templates/euforgen.org/upload/Publications/Other_PDFs/Pop_nigra_IdSheets/English.pdf. Accessed 10 August 2020

Για την επιστημονική ονομασία των ειδών που εξετάζονται ή αναφέρονται στο παρόν έγγραφο, ακολουθείται η τρέχουσα (Δεκέμβριος 2020), κοινώς αποδεκτή ονοματολογία όπως αναφέρεται στις παρακάτω πηγές:

- a. CABI (2020) Invasive Species Compendium. CAB International, Wallingford, UK. www.cabi.org/isc. Accessed 15 December 2020
- b. EPPO (2020) EPPO Global Database (available online). <https://gd.eppo.int>. Accessed 15 December 2020
- c. GBIF (2020) Global Biodiversity Information Facility. <https://www.gbif.org> Accessed 15 December 2020
- d. IPNI (2020) International Plant Names Index. The Royal Botanic Gardens, Kew, Harvard University Herbaria & Libraries & Australian National Botanic Gardens. <http://www.ipni.org>, Accessed 10 December 2020
- e. National Center for Biotechnology Information (NCBI) (1998) National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information, Bethesda (MD). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Accessed 15 December 2020
- f. Stevens PF (2001) Angiosperm Phylogeny Website, Version 14. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Accessed 15 December 2020
- g. The Plant List (2013) Version 1.1. <http://www.theplantlist.org/>. Accessed 12 December 2020
- h. Tropicos.org (2020) Missouri Botanical Garden. <http://www.tropicos.org>. Accessed 15 December 2020
- i. WFO (2020) World Flora Online. <http://www.worldfloraonline.org>. Accessed 15 December 2020

Κατευθυντήριες οδηγίες για τη γενετική παρακολούθηση της

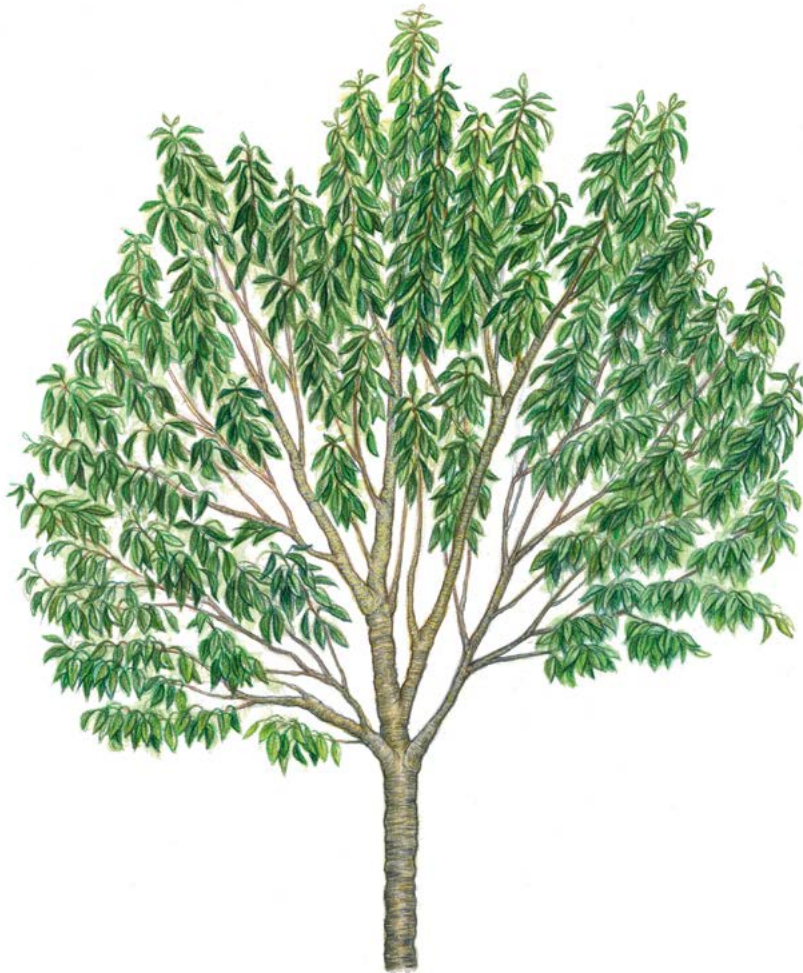
9.2.6 Αγριοκερασιάς (*Prunus avium* (L.) L.)

Darius KAVALIAUSKAS¹, Barbara FUSSI¹, Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ², Παρασκευή ΑΛΙΖΩΤΗ², Dalibor BALLIAN^{3,4}, Νίκος ΤΟΥΡΒΑΣ², Gregor BOŽIČ³, Ευάγγελος ΜΠΑΡΜΠΑΣ², Marjana WESTERGREN³, Marko BAJC³, Rok DAMJANIČ³, Hojka KRAIGHER³

Απόδοση στα ελληνικά

Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ, Μαρίτα ΠΑΠΑΓΙΑΝΝΗ, Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ

Εικονογράφηση Teja Milavec



Βιβλιογραφική παράθεση: Kavaliauskas κ.α. (2020) Κατευθυντήριες Οδηγίες για τη Γενετική Παρακολούθηση της Αγριοκερασιάς (*Prunus avium* (L.) L.). Στο: Βαϊς κ. ά. (Επιμ.) Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών. Ινστιτούτο Δασών Σλοβενίας: Silva Slovenica Publishing Centre, Λιουμπλιάνα, σσ. 279-295. <http://dx.doi.org/10.20315/SFS.167>

Φορείς:

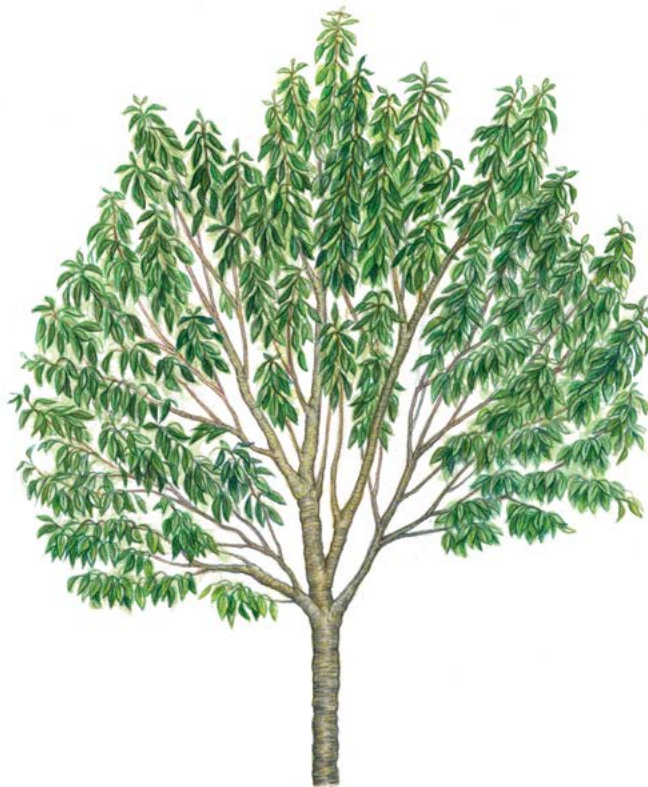
1. Βαυαρικό Γραφείο Δασικής Γενετικής (AWG), Γερμανία
2. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), Ελλάδα
3. Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας (SFI), Σλοβενία
4. Πανεπιστήμιο του Σαράγεβο, Τμήμα Δασολογίας, Βοσνία Ερζεγοβίνη

1 Περίληψη

Η αγριοκερασιά (*Prunus avium* (L.) L.), είναι ένα μεσαίου μεγέθους, ταχέως αναπτυσσόμενο και σχετικά βραχύβιο φυλλοβόλο δέντρο, με μεγάλο εύρος φυσικής εξάπλωσης, το οποίο περιλαμβάνει τη δυτική Ευρασία και το βόρειο τμήμα της Αφρικής [1]. Είναι πρόσκοπο είδος, που αναπτύσσεται σε ένα ευρύ φάσμα οικοτόπων. Ωστόσο, έχει κατακερματισμένη κατανομή στο εύρος εξάπλωσής του, απαιτεί φωτεινές θέσεις και δεν είναι ιδιαίτερα ανταγωνιστικό είδος. Οι φυσικοί πληθυσμοί που σχηματίζει έχουν μικρό μέγεθος και δημιουργούν μικρές ομάδες ή αποτελούνται από μεμονωμένα δέντρα, που αναπτύσσονται στις άκρες και στα διάκενα των δασικών συστάδων. Η αγριοκερασιά είναι σημαντικό δασικό είδος από οικολογική άποψη (αποτελεί ζωτικής σημασίας πηγή τροφής για πολλά είδη πουλιών και εντόμων) και οικονομική άποψη (το ξύλο της είναι πολύτιμο λόγω της υψηλής ποιότητας και μεγάλης ευχρηστίας, ως εκ τούτου, χρησιμοποιείται συχνά για την παραγωγή ξυλοφύλλων και επίπλων κ.λπ.). Οι συγκεκριμένες οδηγίες δίνουν μια συνοπτική περιγραφή της αγριοκερασιάς, της αναπαραγωγής της, των εξειδικευμένων απαιτήσεων του είδους και των απειλών που υφίσταται. Παρέχεται επίσης καθοδήγηση σχετικά με την ίδρυση επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης δασών (ΓΠΔ) για αγριοκερασιά και την καταγραφή όλων των επαληθευτών στο πεδίο.

2 Περιγραφή είδους

Η αγριοκερασιά (Εικόνα 1) είναι φυλλοβόλο δέντρο, μεσαίου μεγέθους, ταχυαυξές και σχετικά βραχύβιο είδος, φθάνει σε ύψος τα 15-30 μ. (έως 35 μ.) και έχει στηθαία διάμετρο (DBH) 90-120 εκ. [3, 4, 5, 16, 19 και αναφορές εντός]. Η αγριοκερασιά έχει έντονη επικόρυφη ανάπτυξη και τα περισσότερα από τα πλευρικά κλαδιά αναπτύσσονται ετησίως σε σπειροειδή διάταξη. Η κόμη είναι πλατιά, κωνική και ο κορμός ευθυτενής. Ο φλοιός είναι λείος, λαμπερός με μεγάλα στρογγυλεμένα στίγματα και ξεφλουδίζεται σε οριζόντιες λωρίδες [16, 19]. Τα φύλλα είναι χρώμα ανοιχτό πράσινο την άνοιξη, σκούρο πράσινο το καλοκαίρι και κίτρινο, πορτοκαλί ή κοκκινοκαφέ το φθινόπωρο. Η διάταξή τους είναι κατ' εναλλαγή και είναι ακέραια, ελλειψοειδώς ωοειδή έως αντιωοειδή, με οξύληκτη κορυφή, ενώ οι παρυφές τους είναι πριονωτές. Διακρίνεται ζεύγος σκούρων κόκκινων αδένων στο μίσχο του ελάσματος ο οποίος φτάνει σε μήκος τα 2-3,5 εκ. [19].



Εικόνα 1. Φαινολογία της κόμης της αγριοκερασιάς (*Prunus avium*).

3 Αναπαραγωγή

Η αγριοκερασιά χαρακτηρίζεται από δύο τρόπους αναπαραγωγής, εγγενώς και αγενώς, με ριζοβλαστήματα. Το είδος είναι μόνοικο, με άνθη συνήθως πενταμερή, με λευκά πέταλα και ποδίσκο που αναπτύσσονται σε ομάδες τριών έως δέκα ή περισσότερων βραχυβλαστών [3,9]. Η επικονίαση των ανθέων γίνεται από έντομα, κυρίως από μελιτοφόρες μέλισσες, άγριες μέλισσες και βομβίνους [2, 3, 5, 16, 19]. Η ανθοφορία και η καρποφορία του είδους ξεκινούν από την ηλικία των 4-6 ετών, σε ιδανικές συνθήκες. Είναι ένα από τα πρώτα είδη που ανθίζουν την άνοιξη και παράγουν μεγάλες ποσότητες λευκών ανθέων. Οι μικροί κόκκινοι ή μαύροι καρποί της, είναι βρώσιμοι (Εικόνα 2) [2, 6]. Τα σπέρματα διασπείρονται από πουλιά και μικρά θηλαστικά [5, 16, 19]. Ο λήθαργος των σπερμάτων διαρκεί έναν έως δύο χειμώνες. Ένας συνδυασμός θερμής και ψυχρής στρωμάτωσης εφαρμόζεται για τη φύτευση των αποθηκευμένων σπερμάτων σε εργαστηριακές ή φυτωριακές συνθήκες [16].



Εικόνα 2. Ανάπτυξη του καρπού της αγριοκερασιάς (*Prunus avium*).

Η γονιμοποίηση ελέγχεται από τις πολυαλληλομορφικές γονιδιακές θέσεις των γονιδίων αυτο-ασυμβίβαστου S, με γαμετοφυτική έκφραση, γεγονός που ευνοεί τη σταυρογονιμοποίηση και αποτρέπει την αυτογονιμοποίηση [6, 11, 12, 15, 16, 17, 9 και αναφορές εντός]. Είναι δυνατόν να υπάρξει υβριδισμός με άλλα είδη κερασιάς, ειδικά όταν η φυσική τους κατανομή συμπίπτει, π.χ. με τη βυσσινιά (*Prunus cerasus* L.), με την ευρωπαϊκή νανώδη κερασιά (*Prunus fruticosa* Pall.) [7, 14, 16, 18], ή όταν το είδος αναπτύσσεται σε περιοχές κοντά σε οπωρώνες κερασιάς που περιέχουν καλλιεργούμενες ποικιλίες.

Όσον αφορά τις τοπικές στρατηγικές εγκατάστασης του είδους σε σχέση με το μικτό αναπαραγωγικό του σύστημα, θεωρείται ότι η δημιουργία νέων θέσεων επιτυγχάνεται μέσω της εγκατάστασης φυταρίων, η οποία, εάν είναι επιτυχής, ακολουθείται από την αναπαραγωγή αγενώς με ριζοβλαστήματα [13].

4 Περιβάλλον- Οικολογία

Η αγριοκερασιά είναι πρόσκοπο είδος που αναπτύσσεται σε ένα ευρύ φάσμα οικοτόπων, ωστόσο η κατανομή της είναι τυπικά διάσπαρτη, λόγω της χαμηλής ανταγωνιστικής ικανότητας και των υψηλών απαιτήσεων που έχει σε φως. Οι φυσικοί πληθυσμοί αγριοκερασιάς είναι περιορισμένοι και απαντώνται υπό μορφή μικρών ομάδων ή αποτελούνται από μεμονωμένα δέντρα που αναπτύσσονται στις παρυφές και στα διάκενα των δασικών συστάδων [16]. Το είδος μπορεί γρήγορα να εγκατασταθεί σε διάκενα με σπέρματα ή ριζοβλαστήματα στα αρχικά στάδια ανάπτυξης μιας συστάδας, αλλά αργότερα στη διαδοχή αντικαθίστανται από άλλα φυλλοβόλα είδη (είδη τελικής φυτοκοινωνίας κλίμακος) [16,19]. Η αγριοκερασιά προτιμά βαθιά, ελαφριά, αργιλοαμμώδη εδάφη (pH 5,5-8,5), γόνιμα με επαρκή υδατοδιαθεσιμότητα (580-1800 χιλ. ανά έτος). Είναι είδος ανθεκτικό στο κρύο κατά τη διάρκεια του χειμώνα, αλλά τα άνθη μπορεί να καταστραφούν από όψιμους παγετούς. Στον πυρήνα της κατανομής του το είδος απαντάται σε μικτά, φυλλοβόλα δάση της ζώνης *Quercus-Fagetea*, όπως δάση σε πλαγιές ή χαράδρες (*Tilio-Acerion*), μεσευρωπαϊκά δάση βελανιδιάς (*Carpinion betuli*), δάση οξιάς σε χαμηλό υψόμετρο (*Fagion*) και υπολειμματικά αλλουβιακά δάση (*Alno-Ulmion*) [19 και αναφορές εντός].

5 Απειλές

Τις τελευταίες δεκαετίες στη δασική διαχείριση, έχει επικρατήσει η αναγωγή του είδους σε υψηλά δάση και οι μεγάλοι περίτροποι χρόνοι, εντούτοις οι συνθήκες αυτές δεν είναι οι πλέον ευνοϊκές για την αγριοκερασιά. Τελευταία, ωστόσο, αναγνωρίζεται ο ρόλος της κερασιάς ως είδος το οποίο συνεισφέρει στη βελτίωση της βιοποικιλότητας των δασικών οικοσυστημάτων και τόσο οι δασικές υπηρεσίες όσο και οι δασοκτήμονες υποστηρίζουν την παρουσία της στα διαχειριζόμενα δάση [9]. Είναι είδος σχετικά ευαίσθητο στην περιβαλλοντική καταπόνηση (π.χ. ξηρασία) και επηρεάζεται εύκολα από ασθένειες και παράσιτα όταν βρίσκεται σε δυσμενείς συνθήκες. Επιπλέον, είναι επιπολαιόριζο είδος και το ριζικό του σύστημα χαρακτηρίζεται από εκτεταμένες, πλευρικές ρίζες στους επιφανειακούς εδαφικούς ορίζοντες, κάτι που το καθιστά ευάλωτο σε ισχυρούς ανέμους. Οι ρίζες μπορεί να προσβληθούν από ποντίκια και αρουραίους, ενώ η φυσική αναγέννηση της αγριοκερασιάς είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη στην βόσκηση. Τα φύλλα μπορούν να καταστραφούν από κάμπιες, όπως αυτές του χειμωνιάτικου σκώρου (*Operophtera brumata* L.) και του σκώρου *Lymantria dispar* L. Οι καρποί μπορούν να προσβληθούν από την ευρωπαϊκή μύγα του κερασιού (*Rhagoletis cerasi* L.) και από το σκαθάρι *Anthonomus rectirostris* L. Η αγριοκερασιά μπορεί επίσης να προσβληθεί από βακτηριακά παθογόνα που προκαλούν καρκινώματα, όπως τα *Pseudomonas syringae* Van Hall και *Erwinia amylovora* Burrill, τον ιό των φύλλων της κερασιάς (CLRV) και άλλους παθογόνους μύκητες (*Ariogmonia erythrostoma* Höhnelt, *Blumeriella jaapi* (Rehm) Arx) [19 και αναφορές εντός].

6 Ίδρυση και συντήρηση επιφανειών γενετικής παρακολούθησης

Η κάθε επιφάνεια γενετικής παρακολούθησης αποτελείται από 50 ώριμα άτομα, με την απόσταση μεταξύ δύο δέντρων να είναι τουλάχιστον 30 μέτρα. Κάθε δέντρο που έχει περάσει στο στάδιο της ανθοφορίας θεωρείται ώριμο άτομο. Η στηθαία διάμετρος και οι κλάσεις διαμέτρου κορμού μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μέτρα εκτίμησης της ωριμότητας των ατόμων αν η επιφάνεια ιδρύεται εκτός της περιόδου ανθοφορίας, με τη βοήθεια των τοπικών δασικών υπαλλήλων. Κατά την ίδρυση της επιφάνειας γίνεται η σήμανση των δέντρων και καταγράφονται οι συντεταγμένες τους. Συγχρόνως μπορεί να μετρηθεί η στηθαία διάμετρος και να ληφθούν δείγματα για απομόνωση γενετικού υλικού.

Λόγω του έντονου υβριδισμού μεταξύ της *Prunus avium* και καλλιεργούμενων ποικιλιών κερασιάς, συστήνεται οι επιφάνειες γενετικής παρακολούθησης να επιλέγονται και να εγκαθίστανται σε μία απόσταση ασφαλείας (8-10 χλμ.) από τυχόν καλλιέργειες εμπορικών ποικιλιών κερασιάς.

Καθώς η αγριοκερασιά είναι είδος που εμφανίζει διάσπαρτη εξάπλωση και περιορισμένους πληθυσμούς εντός φυσικών δασοσυστάδων, απαιτείται μια προκαταρκτική μελέτη στο πεδίο, ώστε το μέγεθος και το σχήμα της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης να προσαρμοστεί ανάλογα για να περιλαμβάνει 50 ώριμα δέντρα. Επιπλέον, η φυσική αναγέννηση (είτε σε ομάδες, είτε σε μεμονωμένα φυτάρια) πρέπει να περιλαμβάνεται στην επιφάνεια. Συστήνεται, ωστόσο, το μέγεθος της επιφάνειας να μην ξεπερνά τα 10 Ha, ειδάλλως όλες οι μετρήσεις που γίνονται σε αυτή (δειγματοληψία, φαινολογικές παρατηρήσεις κ.τ.λ.) δυσχεραίνουν σημαντικά.

Κατά τη διαδικασία της επιλογής ατόμων αγριοκερασιάς, είναι σημαντικό να μην περιληφθούν πιθανοί κλώνοι. Έτσι, αν μία ομάδα δέντρων αγριοκερασιάς έχει προκύψει από ένα μόνο άτομο, οπότε έχουν τον ίδιο γενότυπο, τότε μόνο ένα δέντρο εξ αυτών επιλέγεται για την επιφάνεια γενετικής παρακολούθησης.

Απαραίτητος εξοπλισμός:

- Αποστασιόμετρο (συστήνονται επίσης ειδικά κιάλια για μέτρηση απόστασης)
- Πυξίδα
- Πινέλο και μπογιά ή μπογιά σε σπρέι για τη σήμανση των δέντρων
- Παχύμετρο για τον υπολογισμό της στηθαίας διαμέτρου
- Συσκευή GPS υψηλής ακριβείας με δυνατότητα αποθήκευσης συντεταγμένων των δέντρων

6.1 Ίδρυση επιφάνειας

6.1.1 Επιλογή επιφάνειας

Για την ίδρυση μιας επιφάνειας παρακολούθησης της αγριοκερασιάς, οι προκαταρκτικές εργασίες θα πρέπει ιδανικά να πραγματοποιηθούν την άνοιξη, όσο τα δέντρα βρίσκονται σε ανθοφορία. Οι αγριοκερασιές διακρίνονται εύκολα από άλλα είδη στην περιοχή λόγω των χαρακτηριστικών, λευκών ανθέων. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν ακόμη φωτογραφίες της περιοχής, είτε αποκλειστικά, είτε επικουρικά με μία αξιολόγηση στο πεδίο ώστε να προσδιοριστεί ο αριθμός, η πυκνότητα και η κατανομή των ώριμων ατόμων αγριοκερασιάς στην επιλεγμένη περιοχή. Σε περιπτώσεις όπου φύονται και άλλα είδη με ανάλογα λευκά άνθη στην περιοχή, συστήνεται να δοθεί προτεραιότητα στην αξιολόγηση στο πεδίο.

Σε αυτό το σημείο, όλα τα άτομα αγριοκερασιάς της συστάδας θα πρέπει να χαρτογραφηθούν χρησιμοποιώντας συσκευή GPS. Επιλέγονται τυχαία πενήντα (50) σημεία τα οποία αντιπροσωπεύουν δέντρα, με ελάχιστη απόσταση μεταξύ τους τα 30 μ. Κατά την ίδρυση της επιφάνειας, αυτά τα προεπιλεγμένα άτομα πρέπει να εντοπιστούν και να σημειωθούν στο πεδίο.

6.1.2 Ίδρυση επιφάνειας στο πεδίο

Χρησιμοποιώντας το GPS, εντοπίζονται στη συστάδα τα άτομα που επιλέχθηκαν τυχαία στο γραφείο και σημαίνονται. Ελέγχεται ξανά αν τηρείται η προϋπόθεση της ελάχιστης απόστασης των 30μ. μεταξύ των ατόμων που επιλέχθηκαν.

6.1.3 Σήμανση των δέντρων

Κάθε επιλεγμένο δέντρο αριθμείται με έναν χαρακτηριστικό αριθμό, από το 1 ως το 50 και συμπληρωματικά με μία γραμμή περιμετρικά του κορμού ώστε να είναι ορατό από κάθε πλευρά (Εικόνα 3β).



Εικόνα 3: (α) Όλα τα αναπαραγωγικά ώριμα άτομα αγριοκερασιάς εντός της επιλεγμένης συστάδας καταγράφονται αρχικά χρησιμοποιώντας μία συσκευή GPS. Πενήντα δέντρα, με ελάχιστη απόσταση μεταξύ τους 30 μ, επιλέγονται τυχαία για τη διενέργεια της ΓΠΔ, (β) Τα επιλεγμένα δέντρα επισημαίνονται με τους αντίστοιχους αριθμούς τους, ώστε να είναι ορατά από όλες τις κατευθύνσεις (οι φωτογραφίες δίνονται ως παράδειγμα για τη σήμανση, εδώ όπως εφαρμόστηκε σε επιφάνεια γενετικής παρακολούθησης δασικής οξιάς).

6.2 Ίδρυση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης (ΦΑ)

Η ΦΑ που προκύπτει από την πιο πρόσφατη περίοδο πληροκαρπίας, αξιολογείται στο πεδίο και καταγράφονται οι θέσεις στις οποίες βρίσκεται (συντεταγμένες με GPS, αριθμός κοντινότερου δέντρου στο σημείο όπου παρατηρείται ΦΑ). Λόγω του ληθάργου των σπερμάτων της αγριοκερασιάς, η ΦΑ που θα προκύψει από ένα έτος πληροκαρπίας (έτος με μαζική καρποφορία/ παραγωγή σπερμάτων) μπορεί να εμφανιστεί μονάχα έπειτα από ένα ή δύο έτη, ενώ αρτίφυτα που προέρχονται από την ίδια καρποφορία μπορεί να βλαστήσουν σε διαφορετικές χρονιές. Από όλες τις καταγεγραμμένες θέσεις με ΦΑ, επιλέγονται τυχαία 20 για την ίδρυση των σχετικών υποεπιφανειών. Εάν έχουν καταγραφεί 20 ή και λιγότερες θέσεις ΦΑ, τότε συμπεριλαμβάνονται όλες. Εντός κάθε κέντρου ΦΑ ορίζεται και οριοθετείται με μεταλλικές ράβδους μία επιφάνεια 1τμ. Οι μεταλλικές ράβδοι τοποθετούνται στο έδαφος σε κάθε γωνία της υποεπιφάνειας σε όσο το δυνατόν μεγαλύτερο βάθος ώστε να αποτραπεί η αφαίρεσή τους από ζώα. Οι άκρες των ράβδων βάφονται με κάποιο εύκολα διακριτό χρώμα.

6.3 Συντήρηση επιφανειών

6.3.1 Γενική συντήρηση

Οι σημάνσεις και οι αριθμήσεις των δέντρων πρέπει να ελέγχονται περιοδικά (κάθε 2 χρόνια) και να επιδιορθώνονται όπου κρίνεται απαραίτητο.

6.3.2 Αντικατάσταση δέντρων

Εάν κάποιο επιλεγμένο για γενετική παρακολούθηση άτομο νεκρωθεί ή αφαιρεθεί στα πλαίσια της διαχείρισης του δάσους, τότε πρέπει να αντικατασταθεί. Επιλέγεται το κοντινότερο κατάλληλο δέντρο, λαμβάνοντας υπόψη ότι πρέπει να πληρείται η συνθήκη απόστασης 30μ από το εγγύτερο παρακολουθούμενο δέντρο. Το δέντρο αντικατάστασης λαμβάνει τον επόμενο διαθέσιμο αριθμό μετά το 50 λ.χ. 51, 52, 53 κ.ο.κ. ώστε να διαφοροποιείται από τα αρχικά επιλεγμένα 50 άτομα.

Σε περίπτωση καταστροφής της κόμης του δέντρου λ.χ. καταστροφή από άνεμο, χιόνι ή παγετό χωρίς όμως να επηρεάζεται η ικανότητα καρποφορίας του, το δέντρο συνεχίζει να παρακολουθείται. Εάν η καταστροφή είναι πολύ έντονη και εκτεταμένη, σε σημείο που επηρεάζει την καρποφορία, το επιλεγμένο δέντρο πρέπει να αντικατασταθεί.

7 Καταγραφή των επαληθευτών και των επιπλέον πληροφοριών

Οι επαληθευτές και οι επιπλέον πληροφορίες καταγράφονται συστηματικά στην επιφάνεια γενετικής παρακολούθησης. Οι επαληθευτές χρησιμοποιούνται για την παρακολούθηση των γενετικών δεικτών του πληθυσμού καθώς και για την παρακολούθηση της προσαρμογής του σε περιβαλλοντικές αλλαγές ή / και διαχειριστικές μεθόδους, ενώ οι επιπλέον πληροφορίες καταγράφονται ώστε να βοηθήσουν στην ερμηνεία των επαληθευτών. Οι επαληθευτές διακρίνονται σε σχέση με τη χρήση τους στα τρία επίπεδα ΓΠΔ (βασικό, τυπικό και προχωρημένο) ανάλογα με το πόσο εντατικές παρατηρήσεις περιλαμβάνουν.

Υψηλότερου επιπέδου επαληθευτές (τυπικοί, προχωρημένου επιπέδου) πρέπει να περιλαμβάνουν καταγραφή των επαληθευτών και από τις χαμηλότερες κατηγορίες (βασικοί, τυπικοί). Δεν είναι απαραίτητη η καταγραφή άλλων επιπλέον πληροφοριών.

Πίνακας 1: Κατάλογος επαληθευτών και επιπλέον πληροφοριών με σύντομες περιγραφές και συχνότητα παρατήρησης κατά τη διάρκεια εργασιών πεδίου σε επιφάνειες γενετικής παρακολούθησης αγριοκερασιάς.

Όνομα	Βασικό επίπεδο	Τυπικό επίπεδο	Προχωρημένο επίπεδο	
Θνησιμότητα / επιβίωση	Ενήλικα άτομα: Μέτρηση υφιστάμενων επιλεγμένων δέντρων κάθε 10 χρόνια, καθώς και μετά από ισχυρή κακοκαιρία/ έντονα καιρικά φαινόμενα	Όπως στο βασικό επίπεδο	Όπως στο βασικό επίπεδο	
	Φυσική αναγέννηση: /	Καταμέτρηση υφιστάμενων φυταρίων στις υποεπιφάνειες φυσικής αναγέννησης, δύο φορές ανά δεκαετία	Όπως στο τυπικό επίπεδο	
Επαληθευτές	Ανθοφορία	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας σε ετήσια βάση	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κατά τη διάρκεια δύο περιόδων μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία, ιδανικά ισαπέχουσες μεταξύ τους*	
	Καρποφορία	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας σε ετήσια βάση	Καταμέτρηση καρπών τα ίδια έτη αξιολόγησης με την ανθοφορία στο προχωρημένο επίπεδο (ανεξάρτητα από το βαθμό καρποφορίας)* Σε αυτό το επίπεδο, συλλέγονται επίσης σπέρματα για εργαστηριακές αναλύσεις σε κάθε καρποφορία που αξιολογείται στο προχωρημένο επίπεδο	
Αφθονία φυσικής αναγέννησης	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας σε ετήσια βάση	Καταμέτρηση των φυταρίων σύμφωνα με το πρωτόκολλο το 2ο και το 7ο έτος μετά από μία αξιολογημένη πληροκαρπία **	Καταμέτρηση των φυταρίων σύμφωνα με το πρωτόκολλο το 2ο, 7ο, 12ο και 17ο έτος μετά από μία αξιολογημένη καρποφορία **	
Κατανομή κλάσεων διαμέτρου	/	Μέτρηση κάθε 10 έτη	Όπως στο τυπικό επίπεδο	
Επιπλέον πληροφορίες	Κατανομή υψομετρικών κλάσεων	/	Μέτρηση κάθε 10 έτη	
	Έκπτωση οφθαλμών	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου κάθε 5 έτη	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, ετησίως
	Φθινοπωρινός μαρασμός	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου κάθε 5 έτη	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, ετησίως
	Συγχρονισμός ανθοφορίας	/	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κατά τη διάρκεια κάθε αξιολογούμενης μαζικής ανθοφορίας

* Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος μαζικής ανθοφορίας πρέπει να αξιολογείται ανά δεκαετία. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δε οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε την επόμενη περίοδο ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου τόσο η ανθοφορία, όσο και η πληροκαρπία, ανεξάρτητα του χρόνου που έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών περιόδων. Το βασικό επίπεδο παρατήρησης χρησιμοποιείται για την αναγνώριση των περιόδων ανθοφορίας και πληροκαρπίας.

** Λόγω του ληθάργου των σπερμάτων της αγριοκερασιάς, η φυσική αναγέννηση που θα προκύψει από ένα έτος πληροκαρπίας (έτος με μαζική καρποφορία/ παραγωγή σπερμάτων) μπορεί να εμφανιστεί μονάχα έπειτα από ένα ή δύο έτη, ενώ αρτίφυτα που προέρχονται από την ίδια καρποφορία μπορεί να βλαστήσουν σε διαφορετικές χρονιές

7.1 Πρωτόκολλα για την καταγραφή των επαληθευτών

7.1.1 Θνησιμότητα / επιβίωση

Η θνησιμότητα είναι δείκτης που χαρακτηρίζει τα ενήλικα άτομα. Από την άλλη, η επιβίωση χαρακτηρίζει τα άτομα εκείνα που έχουν μείνει ζωντανά από την προηγούμενη αξιολόγηση. Η επιβίωση προκύπτει από τη σχέση $\text{Επιβίωση} = (1 - \text{Θνησιμότητα})$.

7.1.1.1 Ενήλικα άτομα: Βασικό, τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής για τη θνησιμότητα ενήλικων ατόμων υπολογίζεται με την καταμέτρηση των ζωντανών αριθμημένων δέντρων κάθε 10 έτη, καθώς και έπειτα από ακραίες καιρικές συνθήκες. Η θνησιμότητα υπολογίζεται ως η διαφορά μεταξύ του αρχικού αριθμού των 50 επιλεγμένων δέντρων, μείον τον τελικό αριθμό των ζωντανών επιλεγμένων δέντρων.

7.1.1.2 Φυσική αναγέννηση: Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Η θνησιμότητα της φυσικής αναγέννησης υπολογίζεται από τον επαληθευτή «αφθονία φυσικής αναγέννησης». Η θνησιμότητα ορίζεται ως η διαφορά μεταξύ του αρχικού αριθμού φυταρίων ΦΑ και των φυτών τα οποία παραμένουν ζωντανά κατά τη στιγμή της επόμενης καταμέτρησης. Για κάθε επαναληπτική αξιολόγηση, η ΦΑ καταμετράται αρχικά κατά το έτος βλάστησης και εκ νέου έπειτα από πέντε έτη στο τυπικό επίπεδο, ενώ στο προχωρημένο επίπεδο πραγματοποιούνται δύο επιπλέον καταμετρήσεις έπειτα από 10 και 15 έτη. Η αξιολόγηση της αφθονίας ΦΑ διεξάγεται δύο φορές ανά δεκαετία, ιδανικά περίπου κάθε πέντε έτη.

7.1.2 Ανθοφορία

Ο συγκεκριμένος επαληθευτής περιγράφει την ένταση της ανθοφορίας καθώς και το ποσοστό των δέντρων που βρίσκονται σε κατάσταση ανθοφορίας. Η ανθοφορία στην *P. avium* καταγράφεται συνήθως από τον Μάρτιο έως τον Μάιο στην κεντρική Ευρώπη και ενδεχομένως νωρίτερα στη νότια Ευρώπη. Η ανθοφορία παρατηρείται νωρίτερα όταν προηγείται θερμός χειμώνας. Η αγριοκερασιά συνήθως ανθοφορεί ανά δύο έτη.

7.1.2.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κάθε έτος σε επίπεδο συστάδας, ωστόσο λόγω της κατακερματισμένης κατανομής της αγριοκερασιάς, θα πρέπει να αξιολογηθεί το σύνολο των 50 παρακολουθούμενων ατόμων, ώστε να εξαχθεί ένα γενικό συμπέρασμα για όλη τη συστάδα. Η καταγραφή γίνεται όταν η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη. Ο υπολογισμός της μέσης κατάστασης πραγματοποιείται μετά από αυτοψία στην επιφάνεια παρακολούθησης. Δίνονται δύο τιμές, η μία για την ένταση της ανθοφορίας και η άλλη για την αναλογία των ατόμων σε στάδιο ανθοφορίας στη συστάδα.

Κωδικός	Ένταση ανθοφορίας σε επίπεδο συστάδας	Μέση αναλογία ανθοφορίας κόμης (%)
1	Χωρίς ανθοφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση ανθέων στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης ανθοφορία: Μερικά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης ανθοφορία: Αρκετά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης ανθοφορία: Αφθονα άνθη στα δέντρα	> 60 – 90
5	Μαζική ανθοφορία: Τεράστιος αριθμός ανθέων στα δέντρα	> 90

Κωδικός	Αναλογία δέντρων της συστάδας σε κάθε στάδιο έντασης ανθοφορίας(%)
1	0 – 10

2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

7.1.2.2 Τυπικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κατά τη διάρκεια δύο μαζικών περιόδων ανθοφορίας ανά δεκαετία, οι οποίες ιδανικά, ισαπέχουν χρονικά μεταξύ τους. Καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου σε κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα άτομα. Ως στάδιο μαζικής ανθοφορίας θεωρείται η ανθοφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική ανθοφορία (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση ανθοφορίας είναι σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5). Η καταγραφή γίνεται όταν η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη. Για κάθε δέντρο δίνεται μία τιμή.

Κωδικός	Περιγραφή	Αναλογία ανθοφορίας κόμης(%)
1	Χωρίς ανθοφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση ανθέων στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης ανθοφορία: Μερικά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης ανθοφορία: Αρκετά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης ανθοφορία: Άφθονα άνθη στα δέντρα	> 60 – 90
5	Μαζική ανθοφορία: Τεράστιος αριθμός ανθέων στα δέντρα	> 90

7.1.2.3 Προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κατά τη διάρκεια δύο μαζικών περιόδων ανθοφορίας ανά δεκαετία, οι οποίες ιδανικά, ισαπέχουν χρονικά μεταξύ τους. Καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου σε κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα άτομα. Ως στάδιο μαζικής ανθοφορίας θεωρείται η ανθοφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση ανθοφορίας είναι σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5). Χρειάζονται περίπου δύο επισκέψεις στην επιφάνεια παρακολούθησης, η πρώτη αρκετά νωρίς ώστε να παρατηρηθούν τα πρώιμα στάδια της ανθοφορίας και η δεύτερη όταν πλέον η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη [8]. Για τη γραφική απεικόνιση των σταδίων ανθοφορίας, ανατρέξτε στην Εικόνα 4.

Κλίμακα	Φαινολογικό στάδιο ανθοφορίας
1	Οφθαλμοί ανενεργοί, λέπια κλειστά με καφετί χρώμα
2	Αύξηση μεγέθους οφθαλμών, τα λέπια αρχίζουν να διαχωρίζονται και να ξεπροβάλλουν οι παρυφές των ανθέων
3	Ο οφθαλμός έχει διαρραγεί πλήρως, πέταλα του άνθους ακόμη κλειστά, επιμήκυνση του μίσχου
4	Τα πέταλα του άνθους έχουν ξεδιπλωθεί πλήρως, το στίγμα είναι δεκτικό σε γύρη και οι ανθήρες απελευθερώνουν γυρεόκοκκους.

Κλίμακα	Ένταση ανθοφορίας	Ποσοστό ανθοφορίας κόμης (%)
1	Χωρίς ανθοφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση ανθέων στα δέντρα	0-10
2	Μικρής έντασης ανθοφορία: Μερικά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	>10-30
3	Μέτριας έντασης ανθοφορία: Αρκετά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	>30-60
4	Ισχυρής έντασης ανθοφορία: Άφθονα άνθη στα δέντρα	>60-90
5	Μαζική ανθοφορία: Τεράστιες ποσότητες ανθέων στα δέντρα	>90



Εικόνα 4: Οδηγός για την περιγραφή των φαινολογικών σταδίων ανθοφορίας για το προχωρημένο επίπεδο του επαληθευτή Ανθοφορία.

7.1.3 Καρποφορία

Ο επαληθευτής περιγράφει την παρουσία καρπών και την αφθονία τους. Δεδομένα για αυτόν τον επαληθευτή συλλέγονται κατά τη διάρκεια της καρποφορίας, αργά την άνοιξη έως το μέσο ή το τέλος του καλοκαιριού στην κεντρική Ευρώπη και συνήθως καθόλη τη διάρκεια του θέρους στη νότια Ευρώπη. Η αγριοκερασιά συνήθως καρποφορεί ανά δύο έτη.

7.1.3.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται στο επίπεδο της συστάδας σε ετήσια βάση. Ωστόσο λόγω της διάσπαρτης κατανομής της αγριοκερασιάς, το σύνολο των 50 υπό παρακολούθηση δέντρων θα πρέπει να αξιολογούνται για μία καλή εκτίμηση των μέσων συνθηκών στη συστάδα. Δίνονται δύο τιμές, η μία για την ένταση της καρποφορίας και η άλλη για την αναλογία των ατόμων σε στάδιο καρποφορίας στη συστάδα.

Κωδικός	Ένταση καρποφορίας	Μέση αναλογία κόμης σε καρποφορία (%)
1	Χωρίς καρποφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση καρπών στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης καρποφορία: Μερικοί καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης καρποφορία: Αρκετοί καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης καρποφορία: Άφθονοι καρποί στα δέντρα	> 60 – 90
5	Πληροκαρπία: Τεράστιες ποσότητες καρπών στα δέντρα	> 90

Κωδικός	Αναλογία δέντρων στη συστάδα σε κάθε στάδιο έντασης καρποφορίας (%)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

7.1.3.2 Τυπικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται τις ίδιες χρονιές όπου αξιολογείται και η ανθοφορία στο τυπικό επίπεδο (ανεξάρτητα από την ένταση της καρποφορίας). Η καταγραφή γίνεται σε επίπεδο δέντρου για το σύνολο των 50 παρακολουθούμενων δέντρων. Η καταγραφή γίνεται προτού πέσουν οι καρποί ή φαγωθούν από πουλιά. Για κάθε δέντρο δίνεται μία τιμή.

Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος πληροκαρπίας πρέπει να αξιολογείται μετά από μία περίοδο μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δε οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε την επόμενη περίοδο ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου τόσο η ανθοφορία, όσο και η πληροκαρπία, ανεξάρτητα του χρόνου που έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών περιόδων. Οι παρατηρήσεις στο βασικό επίπεδο χρησιμοποιούνται ώστε να προσδιοριστεί πότε υπάρχει πληροκαρπία. Ως στάδιο πληροκαρπίας θεωρείται καρποφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση καρποφορίας είναι σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5).

Κωδικός	Ένταση καρποφορίας	Αναλογία καρποφορίας στην κόμη (%)
1	Χωρίς καρποφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση καρπών στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης καρποφορία: Μερικοί καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης καρποφορία: Αρκετοί καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης καρποφορία: Άφθονοι καρποί στα δέντρα	> 60 – 90
5	Πληροκαρπία: Τεράστιες ποσότητες καρπών στα δέντρα	> 90

7.1.3.3 Προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου στο σύνολο των 50 παρακολουθούμενων δέντρων αγριοκερασιάς τις ίδιες χρονιές όπου αξιολογείται η ανθοφορία στο προχωρημένο επίπεδο, ανεξάρτητα από την ένταση της καρποφορίας. Η καταγραφή γίνεται πριν την πτώση των καρπών. Για κάθε δέντρο δίνεται μία τιμή. Παράλληλα συλλέγονται σπέρματα για γενετικές και άλλες αναλύσεις καθώς και για την καταγραφή επιπλέον πληροφοριών σε αυτό το επίπεδο.

Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος πληροκαρπίας πρέπει να αξιολογείται μετά από μία περίοδο μαζικής ανθοφορίας. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δε οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε την επόμενη περίοδο ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου τόσο η ανθοφορία όσο και η καρποφορία ανεξάρτητα του χρόνου που έχει μεσολαβήσει μεταξύ δύο διαδοχικών περιόδων. Κατά το βασικό επίπεδο παρατήρησης καταγράφονται οι περίοδοι πληροκαρπίας. Ως στάδιο πληροκαρπίας θεωρείται η καρποφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική καρποφορία (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση καρποφορίας είναι σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5).

Ο επαληθευτής καταγράφεται μετά από μέτρηση των καρπών χρησιμοποιώντας κιάλια. Σημειώνεται ο μέσος όρος που προκύπτει από τρεις διαδοχικές μετρήσεις. Στον κάθε μέτρηση καταγράφεται ο αριθμός καρπών που ο παρατηρητής μετράει σε 30 δευτερόλεπτα. Για όλα τα δέντρα εξετάζεται το ίδιο μέρος της κόμης. Μόλις επιλεγεί το συγκεκριμένο κομμάτι της κόμης, ο παρατηρητής πρέπει να εστιάσει σε αυτό και για κάθε επόμενη μέτρηση που θα πραγματοποιήσει. Προτείνεται για την καταμέτρηση να εξεταστεί το ανώτερο τρίτο της κόμης σε σχέση με το ενδιάμεσο ή το κατώτερο.

Σημειώνεται ο αριθμός των καρπών και το μέρος της κόμης που εξετάστηκε.

Αριθμός καταμετρημένων καρπών σε 30 δευτερόλεπτα (μέσος όρος τριών μετρήσεων)

X

Κωδικός Μέρος της κόμης που εξετάστηκε

1 Κατώτερο

2 Ενδιάμεσο

3 Ανώτερο

7.1.4 Αφθονία φυσικής αναγέννησης

Ο επαληθευτής περιγράφει την παρουσία και την αφθονία της ΦΑ στην επιφάνεια παρακολούθησης. Στο βασικό επίπεδο καταγράφεται ετησίως, έπειτα από εκτίμηση των τοπικών δασολόγων. Ο λήθαργος των σπερμάτων της αγριοκερασιάς μπορεί να διαρκέσει έναν με δύο χειμώνες, οπότε τα πρώτα αρτίφυτα μπορεί να εμφανιστούν 1.5- 2.5 χρόνια μετά τη καρποφορία.

7.1.4.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται σε ετήσια βάση, το φθινόπωρο, σε επίπεδο συστάδας ελέγχοντας τις περιοχές όπου προϋπάρχουν αγριοκερασιές σε ανθοφορία και ανοιχτές θέσεις κατάλληλες για εγκατάσταση της νέας ΦΑ. Για την εκτίμηση της ΦΑ σε όλη την επιφάνεια συνιστάται η συμβουλή τοπικού δασολόγου. Καταγράφονται δύο τιμές, μία για την νέα ΦΑ (αρτίφυτα της τρέχουσας χρονιάς) και μία για την ήδη εγκατεστημένη αναγέννηση (φυτάρια γηραιότερα του ενός έτους). Καθώς το φως είναι καθοριστικός παράγοντας για την εγκατάσταση της ΦΑ της αγριοκερασιάς, πρέπει να δίδεται έμφαση στα διάκενα των συστάδων και τις παρυφές του δάσους. Η αφθονία της φυσικής αναγέννησης στην αγριοκερασιά είναι συνήθως μικρή, οπότε εφαρμόζονται μόνο δύο στάδια αξιολόγησης της.

Κωδικός Περιγραφή: νέα φυσική αναγέννηση (αρτίφυτα της τρέχουσας χρονιάς)	
1a	Καθόλου ή ελάχιστη νέα φυσική αναγέννηση στην επιφάνεια παρακολούθησης
2a	Η νέα φυσική αναγέννηση υπάρχει και αντιπροσωπεύεται από επαρκή αριθμό ατόμων στην επιφάνεια παρακολούθησης
Κωδικός Περιγραφή: εγκατεστημένη φυσική αναγέννηση (φυτάρια, γηραιότερα του ενός έτους)	
1b	Καθόλου ή ελάχιστη νέα φυσική αναγέννηση στην επιφάνεια παρακολούθησης
2b	Εγκατεστημένη φυσική αναγέννηση σε ικανό αριθμό ατόμων στην επιφάνεια παρακολούθησης

7.1.4.2 Τυπικό επίπεδο

Ο λήθαργος των σπερμάτων της αγριοκερασιάς μπορεί να διαρκέσει έναν με δύο χειμώνες, οπότε τα πρώτα αρτίφυτα μπορεί να εμφανιστούν 1,5- 2,5 χρόνια μετά τη καρποφορία. Η ίδρυση των επιφανειών ΦΑ και η έναρξη των παρατηρήσεων αφθονίας ΦΑ προσαρμόζονται στη διάρκεια του ληθάργου των σπερμάτων στην επιφάνεια παρακολούθησης.

Ο επαληθευτής καταγράφεται με την καταμέτρηση φυταρίων/φυταρίων δύο έτη μετά από κάθε αξιολογημένη περίοδο καρποφορίας (το έτος με καρποφορία θεωρείται το έτος 0). Η συχνότητα καταμέτρησης μετά από αυτό είναι: το 2^ο και το 7^ο έτος μετά την αξιολογημένη καρποφορία.

Ιδανικά, είκοσι (20) νέες υποεπιφάνειες ΦΑ αγριοκερασιάς πρέπει να εγκατασταθούν μετά την επόμενη αξιολογημένη πληροκαρπία, περίπου πέντε χρόνια μετά.

Αριθμός φυταρίων ανά υποεπιφάνεια
X

Για την ίδρυση υποεπιφανειών, βλ. Κεφ. 6.2 Ίδρυση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης.

7.1.4.3 Προχωρημένο επίπεδο

Ο λήθαργος των σπερμάτων της αγριοκερασιάς μπορεί να διαρκέσει έναν με δύο χειμώνες, οπότε τα πρώτα αρτίφυτα μπορεί να εμφανιστούν 1,5- 2,5 χρόνια μετά τη καρποφορία. Η ίδρυση των υποεπιφανειών ΦΑ και η έναρξη των παρατηρήσεων αφθονίας ΦΑ προσαρμόζονται στη διάρκεια του ληθάργου των σπερμάτων στην επιφάνεια παρακολούθησης. Ο επαληθευτής καταγράφεται με την καταμέτρηση φυταρίων το 2^ο, 7^ο 12^ο

και 17^ο έτος μετά την αξιολογημένη καρποφορία. Είκοσι (20) νέες υποεπιφάνειες ΦΑ αγριοκερασιάς πρέπει να εγκατασταθούν μετά την επόμενη αξιολογημένη πληροκαρπία. Όταν μια περίοδος πληροκαρπίας συμβαίνει κάθε έτος, ή ανά δύο έτη, τότε πρέπει να μεσολαβήσουν περίπου πέντε έτη μεταξύ δύο διαδοχικών αξιολογήσεων πληροκαρπιών.

Πίνακας 2: Χρονοδιάγραμμα για την αξιολόγηση της φυσικής αναγέννησης (ΦΑ). Στο υπόδειγμα, η πρώτη αξιολόγηση καρποφορίας συμβαίνει το 2^ο έτος της δεκαετίας όπου εφαρμόζεται η γενετική παρακολούθηση και λαμβάνοντας υπόψη το λήθαργο των σπερμάτων της αγριοκερασιάς για έναν ή δύο χειμώνες, 20 νέες υποεπιφάνειες ΦΑ εγκαθίστανται το 4^ο έτος της δεκαετίας γενετικής παρακολούθησης. Η επόμενη αξιολόγηση της καρποφορίας εφαρμόζεται το 8^ο έτος της δεκαετίας γενετικής παρακολούθησης. Λαμβάνοντας υπόψη το λήθαργο των σπερμάτων της αγριοκερασιάς, 20 νέες υποεπιφάνειες ΦΑ εγκαθίστανται το 10^ο έτος της δεκαετίας γενετικής παρακολούθησης. Είκοσι νέες υποεπιφάνειες ΦΑ εγκαθίστανται μετά από κάθε αξιολογημένη καρποφορία. Η παρακολούθηση της αφθονίας της φυσικής αναγέννησης σε κάθε ομάδα 20 υποεπιφανειών γίνεται κάθε πέντε έτη. Η περίοδος καρποφορίας που αντιστοιχεί στην κάθε υποεπιφάνεια ΦΑ υπό αξιολόγηση και το χρονοδιάγραμμα των αξιολογήσεων χρωματίζονται με το ίδιο χρώμα. Μετά τον τελευταίο γύρο καταμέτρησης φυταρίων, η παρακολούθηση της ΦΑ στις καθορισμένες ομάδες σταματάει και οι υποεπιφάνειες απεγκαθίστανται. Τ – Τυπικό επίπεδο, Π– Προχωρημένο επίπεδο.

Έτος παρακολούθησης	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Περίοδος καρποφορίας		•			•	•		•		•		•		•		•	•		•	•		•		•	
Αξιολόγηση ΦΑ από την 1η αξιολογημένη περίοδο καρποφορίας [έτη]	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
Ίδρυση υποεπιφανειών ΦΑ				ΤΠ																					
Καταμέτρηση αφθονίας ΦΑ				ΤΠ				ΤΠ					Π				Π								
Αξιολόγηση ΦΑ από τη 2η αξιολογημένη περίοδο καρποφορίας								0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Ίδρυση υποεπιφανειών ΦΑ										ΤΠ															
Καταμέτρηση αφθονίας ΦΑ										ΤΠ				ΤΠ				Π							Π

Για την ίδρυση υποεπιφανειών, Βλ. Κεφ. 6.2 Ίδρυση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης και για την καταμέτρηση βλ. ενότητα 7.1.4.2 Τυπικό επίπεδο.

7.2 Πρωτόκολλα για την καταγραφή επιπλέον πληροφοριών

7.2.1 Κατανομή κλάσεων στηθιαίας διαμέτρου κορμών

7.2.1.1 Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Η στηθιαία διάμετρος DBH καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου στο σύνολο των 50 παρακολουθούμενων δέντρων κάθε δεκαετία. Η στηθιαία διάμετρος είναι η διάμετρος του κορμού σε ύψος 1,30 μ., δηλαδή περίπου το ύψος του στήθους σε έναν ενήλικα. Εάν το δέντρο έχει παραπάνω από έναν κορμό, προτείνεται να μετρηθούν όλοι και να καταγραφεί ο μέσος όρος τους (ωστόσο, καλύτερα να αποφεύγετε τα δέντρα με πολλαπλούς, μικρούς κορμούς). Εάν το δέντρο γέρνει, τότε μετράτε τη στηθιαία διάμετρο κάθετα στον κορμό. Η στηθιαία διάμετρος μετράται με δύο τρόπους:

- 1) Χρησιμοποιώντας ένα παχύμετρο παίρνετε δύο κάθετες διαμέτρους και υπολογίζετε το μέσο όρο
- 2) Μετράτε την περίμετρο του δέντρου και υπολογίζετε τη διάμετρο με βάση αυτή τη μέτρηση [πχ. Διαιρώντας με το π~ 3,14]

Η στηθιαία διάμετρος αποτυπώνεται σε εκατοστά. Η ίδια μέθοδος εφαρμόζεται για κάθε ακόλουθη μέτρηση.

7.2.2 Κατανομή κλάσεων ύψους

7.2.2.1 Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Το ύψος καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου στο σύνολο των 50 παρακολουθούμενων δέντρων κάθε δεκαετία. Το ύψος μετράται από το έδαφος στο υψηλότερο σημείο της κόμης, χρησιμοποιώντας κλισίμετρο ή υψόμετρο. Το ύψος αποτυπώνεται σε μέτρα και στρογγυλοποιείται σε ένα δεκαδικό ψηφίο.

7.2.3 Έκπτυξη οφθαλμών

Η έκπτυξη των οφθαλμών περιγράφει τη διαδικασία έκπτυξης των ανθέων και του φυλλώματος. Στην αγριοκερασιά αυτά συμβαίνουν ταυτόχρονα. Η έκπτυξη των οφθαλμών καταγράφεται ως επιπλέον πληροφορία μόνο στο τυπικό και στο προχωρημένο επίπεδο. Τα δεδομένα για αυτήν την επιπλέον πληροφορία συλλέγονται Μάρτιο- Μάιο στην κεντρική Ευρώπη. Η έκπτυξη οφθαλμών συμβαίνει νωρίτερα μετά από έναν θερμό χειμώνα.

7.2.3.1 Τυπικό επίπεδο

Στο τυπικό επίπεδο η έκπτυξη των οφθαλμών καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου στο σύνολο των 50 παρακολουθούμενων δέντρων ανά πενταετία. Αναζητείται η έναρξη της έκπτυξης των φύλλων (στάδιο 2) και η ολοκλήρωση της διαδικασίας (στάδιο 4). Οι παρατηρήσεις ολοκληρώνονται όταν όλα τα δέντρα έχουν φτάσει στο στάδιο 4. Συνήθως απαιτούνται έξι επισκέψεις στο πεδίο. Για κάθε δέντρο δίνονται δύο εκτιμήσεις: το στάδιο έκπτυξης οφθαλμών και η αναλογία έκπτυξης οφθαλμών στην κόμη. Για τη γραφική απεικόνιση των σταδίων έκπτυξης οφθαλμών, ανατρέξτε στην Εικόνα 5.

Κωδικός	Στάδιο έκπτυξης οφθαλμών
1	Οφθαλμοί διογκωμένοι, μερικά διαχωρισμένα λέπια, εμφανείς παρυφές των πρώτων φυλλαρίων
2	Μήκος φυλλαρίων όσο οι οφθαλμοί, αρχίζουν να ξεδιπλώνονται
3	Τα φύλλα επιμηκύνονται αλλά παραμένουν μερικώς αναδιπλωμένα
4	Φύλλα απελευθερωμένα, έλασμα εμφανώς ανεπτυγμένο, εμφανής μίσχος που επιτρέπει την περιστροφή του φύλλου προς τα κάτω

Κωδικός	Αναλογία κόμης σε κάθε στάδιο έκπτυξης οφθαλμών (%)
1	> 0 – 33
2	> 33 – 66
3	> 66 – 99
4	100



Εικόνα 5: Οδηγός για την περιγραφή της έκπτυξης οφθαλμών (έκπτυξη φυλλώματος) στο τυπικό και προχωρημένο στάδιο της επιπλέον πληροφορίας «Έκπτυξη οφθαλμών».

7.2.3.2 Προχωρημένο επίπεδο

Σε αυτό το επίπεδο η έκπτυξη οφθαλμών και η αναλογία έκπτυξης οφθαλμών στην κόμη αξιολογούνται ετησίως, σε επίπεδο δέντρου στο σύνολο των 50 παρακολουθούμενων δέντρων με τον ίδιο τρόπο, όπως στο τυπικό επίπεδο. Για λεπτομέρειες μπορείτε να ανατρέξετε στην ενότητα 7.2.3.1 Τυπικό επίπεδο.

7.2.4 Φθινοπωρινός μαρασμός

Ο φθινοπωρινός μαρασμός περιγράφει την διαδικασία ωρίμανσης και πτώσης των φύλλων. Η καταγραφή αυτής της επιπλέον πληροφορίας γίνεται μόνο στο τυπικό και το προχωρημένο επίπεδο.

7.2.4.1 Τυπικό επίπεδο

Στο τυπικό επίπεδο, ο φθινοπωρινός μαρασμός καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου σε κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα άτομα, ανά πενταετία. Αναζητούμε το στάδιο 3, όπου τα φύλλα είναι κίτρινα και δεν φωτοσυνθέτουν πλέον. Οι παρατηρήσεις ολοκληρώνονται όταν όλα τα δέντρα έχουν φτάσει στο στάδιο 3. Συνήθως απαιτούνται δύο (2) επισκέψεις στο πεδίο. Για κάθε άτομο σημειώνονται δύο μετρήσεις: το στάδιο μαρασμού και η αναλογία της κόμης σε μαρασμό. Για τη γραφική απεικόνιση των σταδίων μαρασμού, ανατρέξτε στην Εικόνα 6.

Κωδικός		Στάδιο μαρασμού
1		Φύλλα πράσινα
2		Φύλλα πρασινωπά, προς το κίτρινο (ωχροπράσινα)
3		Φύλλα κίτρινα προς το καφετί (καφεκίτρινα)
4		Φύλλα καφέ/ απόπτωση

Κωδικός	Αναλογία κόμης σε κάθε στάδιο μαρασμού (%)
1	> 0 – 33
2	> 33 – 66
3	> 66 – 99
4	100



Εικόνα 6: Φωτογραφικός οδηγός για την περιγραφή της επιπλέον πληροφορίας Φθινοπωρινός μαρασμός στο τυπικό και προχωρημένο στάδιο

7.2.4.2 Προχωρημένο επίπεδο

Ο φθινοπωρινός μαρασμός και η αναλογία της κόμης σε μαρασμό καταγράφονται σε επίπεδο δέντρου, ετησίως, για κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα δέντρα, με τον ίδιο τρόπο όπως στο τυπικό επίπεδο. Για λεπτομέρειες μπορείτε να ανατρέξετε στην ενότητα 7.2.4.1 Τυπικό επίπεδο

7.2.5 Συγχρονισμός ανθοφορίας

Ο συγχρονισμός ανθοφορίας καταγράφεται μόνο στο προχωρημένο επίπεδο και βασίζεται σε παρατηρήσεις για τον επαληθευτή Ανθοφορία. Χρησιμοποιείται για να προσδιορίσει αν η ανθοφορία συμβαίνει ταυτόχρονα εντός της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης.

7.2.5.1 Προχωρημένο επίπεδο

Ο συγχρονισμός ανθοφορίας καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου, ετησίως, για κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα δέντρα κατά την αξιολόγηση μαζικής ανθοφορίας, τις ίδιες χρονιές κατά τις οποίες πραγματοποιείται η συλλογή σπερμάτων (όπως στον επαληθευτή «ανθοφορία») στο προχωρημένο επίπεδο

Για την ίδρυση επιφάνειας χρησιμοποιήστε το Έντυπο Υπόδειγμα «Περιγραφή επιφάνειας ΓΠΔ»

Για την καταγραφή των επαληθευτών χρησιμοποιήστε το «Έντυπο Υπόδειγμα για την καταγραφή επαληθευτών στο πεδίο, εντός της επιφάνειας ΓΠΔ»

Για τις επιπλέον πληροφορίες χρησιμοποιήστε το «Έντυπο Υπόδειγμα για την καταγραφή επιπλέον πληροφοριών στο πεδίο, εντός της επιφάνειας ΓΠΔ»

8 Βιβλιογραφία

1. EUFORGEN (2009) Distribution map of Wild cherry (*Prunus avium* L.), <http://www.euforgen.org/species/prunus-avium/>. Accessed 25 August 2020
2. Ballian D (2000) Početna istraživanja varijabilnosti morfoloških svojstava sjemena divlje trešnje (*Prunus avium* L.). Šum list 5-6:271–278
3. Ballian D (2002) Variability of characteristics of the wild cherry blossom (*Prunus avium* L.) in the region of central Bosnia, *Annales forestales* 25/2:1–19
4. Ballian D, Bogunić F (2006) Preliminary results of investigation of morphological traits variation of wild cherry (*Prunus avium* L.) in Bosnia and Herzegovina. International Scientific Conference 60 Years of the Institute of Forestry, Belgrade, Serbia, Donji Milanovac 08.-10.11. 2006. PROCEEDINGS pp. 47–51
5. Ballian D, Bogunić F, Čabaravdić A, Pekeč S, Franjić J (2012) Population differentiation in the wild cherry (*Prunus avium* L.) in Bosnia and Herzegovina. *Period Biol* 114(1):43–54
6. Ballian D, Mujagić-Pašić A (2013) Morphological variability of the fruit and seed of wild cherry (*Prunus avium* L.) in a part of its natural distribution in Bosnia and Herzegovina. *Biologica Nyssana* 4(1-2):15-17
7. Buiteveld J (2012) *Prunus avium* L. In: Fussi B, Belle C, Konnert M, Blanc-Jolivet C, Liesebach M, Buiteveld J, Piotti A, Vendramin GG, Wagner S, Petit RJ, Jahn D, Heinze B (ed) Project: Designing Trees for the Future. D7.1 – Report on review of available and tested methods for identification and on new marker development. <http://www.trees4future.eu/publications/deliverables-2.html#wp2> Accessed 09 September 2020
8. Ducci F, De Cuyper B, Pâques LE, Proietti R, Wolf H (2012) Reference protocols for assessment of trait and reference genotypes to be used as standards in international research projects. Ed. CRA SEL - Arezzo, p 82.
9. Ducci F, De Cuyper B, De Rogatis A, Dufour J, Santi F (2013) Wild cherry breeding (*Prunus avium* L.). In: Pâques LE (ed) *Forest Tree Breeding in Europe*. Springer, Dordrecht, pp 463-511. DOI: 10.1007/978-94-007-6146-9
10. FUTMON project. (2009) FUTMON FIELD PROTOCOL PHENOLOGY (D1). <http://www.futmon.org/futmon-field-protocols.html>. Accessed 12 September 2016

11. Ganopoulos I, Aravanopoulos FA, Argiriou A, Kalivas A & A Tsaftaris (2012) Genome and population dynamics under selection and neutrality: an example of S-allele diversity in wild cherry (*Prunus avium* L.). *Tree Genet. Genomes* 8(6):1181–1190. <https://doi.org/10.1007/s11295-012-0504-9>
12. Hedhly A, Wünsch A, Kartar Ö, Herrero M, Hormaza JI (2016) Paternal-specific S-allele transmission in sweet cherry (*Prunus avium* L.): the potential for sexual selection. *J Evol Biol* 29(3):490–501. <https://doi.org/10.1111/jeb.12790>
13. Höltnen AM, Gregorious HR (2006) Detecting local establishment strategies of wild cherry (*Prunus avium* L.). *BMC Ecol* 6(1):13. <https://doi.org/10.1186/1472-6785-6-13>
14. Olden EJ, Nybom N (1968) On the origin of *Prunus cerasus* L. *Hereditas* 59(2-3):327–345. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1968.tb02181.x>
15. Radičević S, Marić S, Cerović R (2015) S-allele Constitution and Flowering Time Synchronization – Preconditions for Effective Fertilization in Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) Orchards. *Romanian Biotechnological Letters* 20(6):10997–11006
16. Russell K (2003) EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for wild cherry (*Prunus avium*). International Plant Genetic Resources Institute, Rome
17. Schuster M, Früh S (2005) Bestimmung der S-Allele in Brennkirschensorten (*Prunus avium* L.). *Erwerbs-Obstbau* 47:40–45. DOI: 10.1007/s10341-004-0051-0
18. Tavaud M, Zanetto A, David JL, Laigret F, Dirlwanger E (2004) Genetic relationships between diploid and allotetraploid cherry species (*Prunus avium*, *Prunus × gondouinii* and *Prunus cerasus*). *Heredity* 93(6):631–638. DOI: 10.1038/sj.hdy.6800589
19. Welk E, de Rigo D, Caudullo G (2016) *Prunus avium* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: San-Miguel-Ayanz J, de Rigo D, Caudullo G, Houston Durrant T, Mauri A (Eds.) *European Atlas of Forest Tree Species*. Publ. Off. EU, Luxembourg, pp e01491d+. https://ies-ows.jrc.ec.europa.eu/efdac/download/Atlas/pdf/Prunus_avium.pdf. Accessed 25 August 2020

Για την επιστημονική ονομασία των ειδών που εξετάζονται ή αναφέρονται στο παρόν έγγραφο, ακολουθείται η τρέχουσα (Δεκέμβριος 2020), κοινώς αποδεκτή ονοματολογία όπως αναφέρεται στις παρακάτω πηγές:

- a) CABI (2020) *Invasive Species Compendium*. CAB International, Wallingford, UK. www.cabi.org/isc. Accessed 15 December 2020
- b) EPPO (2020) *EPPO Global Database* (available online). <https://gd.eppo.int>. Accessed 15 December 2020
- c) GBIF (2020) *Global Biodiversity Information Facility*. <https://www.gbif.org> Accessed 15 December 2020
- d) IPNI (2020) *International Plant Names Index*. The Royal Botanic Gardens, Kew, Harvard University Herbaria & Libraries & Australian National Botanic Gardens. <http://www.ipni.org>, Accessed 10 December 2020
- e) National Center for Biotechnology Information (NCBI) (1998) *National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information, Bethesda (MD)*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Accessed 15 December 2020
- f) Stevens PF (2001) *Angiosperm Phylogeny Website, Version 14*. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Accessed 15 December 2020
- g) The Plant List (2013) *Version 1.1*. <http://www.theplantlist.org/>. Accessed 12 December 2020
- h) Tropicos.org (2020) *Missouri Botanical Garden*. <http://www.tropicos.org>. Accessed 15 December 2020
- i) WFO (2020) *World Flora Online*. <http://www.worldfloraonline.org>. Accessed 15 Dec 2020

9.2.7 Ποδισκοφόρου (*Quercus robur* L.) και της Απόδισκου δρυός (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.)

Kristina SEVER¹, Andrej BREZNIKAR¹, Marko BAJC², Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ³,
Rok DAMJANIĆ², Barbara FUSSI⁴, Darius KAVALIAUSKAS⁴, Marjana WESTERGREN²,
Hojka KRAIGHNER²

Απόδοση στα ελληνικά

Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ, Μαρίτα ΠΑΠΑΓΙΑΝΝΗ, Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ

Εικονογράφηση Eva MARGON



Βιβλιογραφική παράθεση: Sever κ.α. (2020) Κατευθυντήριες Οδηγίες για τη Γενετική Παρακολούθηση της Ποδισκοφόρου (*Quercus robur* L.) και Απόδισκου δρυός (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.). Στο: Bajc κ. ά. (Επιμ.) Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών. Ινστιτούτο Δασών Σλοβενίας; Silva Slovenica Publishing Centre, Λιουμπλιάνα, σσ. 297-317. <http://dx.doi.org/10.20315/SFS.167>

Φορείς:

¹ Δασική Υπηρεσία Σλοβενίας (ZGS), Σλοβενία

² Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας (GIS), Σλοβενία

³ Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), Ελλάδα

⁴ Βαυαρικό Γραφείο Δασικής Γενετικής (AWG), Γερμανία

1 Περίληψη

Μεταξύ των 13 ειδών δρυός που απαντώνται στην Ευρώπη, η ποδισκοφόρος δρυς (*Quercus robur*) και η απόδισκη δρυς (*Q. petraea*) είναι από τα πιο σημαντικά φυλλοβόλα, δασικά είδη, τόσο από οικονομική, όσο και από οικολογική άποψη. Τα δύο είδη έχουν ευρεία εξάπλωση στην Ευρωπαϊκή ήπειρο, από τη βόρεια Ισπανία έως τη νότια Σκανδιναβία και από την Ιρλανδία έως την Ανατολική Ευρώπη και την Ελλάδα. Επιπλέον, τα δύο είδη είναι συγγενικά, απαντώνται σε μίξη, ανταγωνίζονται το ένα το άλλο και εμφανίζουν φυσικό υβριδισμό τόσο μεταξύ τους όσο και με άλλα είδη δρυός [2, 3, 5, 8].

Οι δρύες συγκαταλέγονται ανάμεσα στα δασικά είδη με την μεγαλύτερη γενετική ποικιλότητα. Αυτά τα υψηλά επίπεδα γενετικής ποικιλότητας συνδέονται με το μεγάλο μέγεθος των πληθυσμών που σχηματίζουν, την αλληλοεπικάλυψη μεταξύ οικολογικών θέσεων, τη ροή γονιδίων σε μεγάλες αποστάσεις και την δυνατότητα διασταυρώσεων μεταξύ ειδών. Η ανθρώπινη επίδραση στους πληθυσμούς δρυός είναι πολύ έντονη, καθώς τα περισσότερα δρυοδάση βρίσκονται υπό διαχείριση. Παρθένα δάση όπως το Białowieża στην Πολωνία και τη Λευκορωσία είναι πολύ σπάνια. Οι γενετικοί πόροι των ειδών της δρυός βρίσκονται σε κίνδυνο, όχι μόνο εξαιτίας της υποβάθμισης των φυσικών οικοσυστημάτων και της περιορισμένης παραγωγής σπερμάτων αλλά επίσης λόγω της μακροχρόνιας επίδρασης της ατμοσφαιρικής ρύπανσης και της κλιματικής αλλαγής σε μακροπρόθεσμη κλίμακα [3].

Οι παρούσες οδηγίες, περιγράφουν συνοπτικά την ποδισκοφόρο και την απόδισκη δρυ, την αναπαραγωγή τους, την οικολογία τους, τη σημασία τους ως είδη, την εξάπλωση και τις απειλές που υφίστανται. Παρέχονται επίσης οδηγίες για την εγκατάσταση επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης δασών (ΓΠΔ), όσον αφορά το σύμπλεγμα *Quercus robur/petraea* και την καταγραφή επαληθευτών στο πεδίο.

2 Περιγραφή ειδών

Η ποδισκοφόρος (*Quercus robur*) και η απόδισκη δρυς (*Q. petraea*) είναι μεγάλου μεγέθους, φυλλοβόλα δέντρα, που φτάνουν σε ύψος τα 30-40 μέτρα και σε ηλικία τα 800 ή και παραπάνω έτη. Τα δύο αυτά είδη, όπως και άλλα είδη δρυός παρουσιάζουν μεγάλη μορφολογική παραλλακτικότητα και παρουσιάζουν φυσικοί υβριδισμό, δημιουργώντας απογόνους με ενδιάμεσα μορφολογικά γνωρίσματα ή με κυρίαρχη τη μορφολογία του ενός είδους, γεγονός το οποίο δυσχεραίνει την ταυτοποίησή τους αποκλειστικά με βάση τη μορφολογική παρατήρηση [1, 2, 3, 5].

Και τα δύο είδη έχουν εκτεταμένη και στο μεγαλύτερο μέρος της αλληλεπικαλυπτόμενη φυσική εξάπλωση, σχεδόν σε όλη την Ευρώπη. Η φυσική τους κατανομή εκτείνεται από την Ιρλανδία και το βορειοδυτικό τμήμα των Πυρηναίων στα δυτικά, ως την ανατολική Ευρώπη στα ανατολικά, το νότιο τμήμα της Σκανδιναβίας στο Βορρά, ενώ το νότιο όριο της εξάπλωσής τους είναι δύσκολο να προσδιοριστεί αλλά οπωσδήποτε φτάνει μέχρι την Ελλάδα, καθώς τα δύο είδη συνυπάρχουν, ανταγωνίζονται και υβριδίζουν, έστω και σε μικρό ποσοστό, με άλλα Μεσογειακά είδη δρυός, όπως η *Quercus pubescens* Willd. και η *Quercus frainetto* Ten [3, 5]. Το ανατολικό όριο εξάπλωσης της ποδισκοφόρου δρυός είναι πιο εκτεταμένο και φτάνει ως τα Ουράλια Όρη, ενώ το έσχατο της εξάπλωσης της αποδίσκου δρυός καταγράφεται στην Ουκρανία.

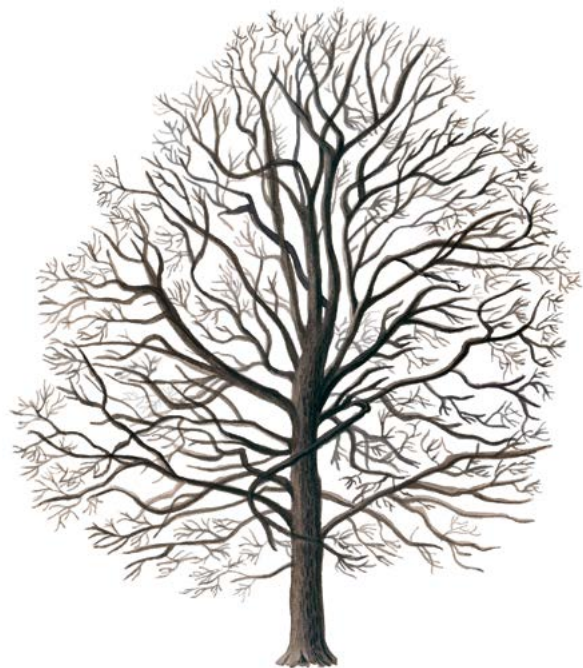
Οι βασικές διαφορές μεταξύ της ποδισκοφόρου και της αποδίσκου δρυός εντοπίζονται στα φύλλα, τους καρπούς και τον κορμό.

Ο κύριος κορμός της *Q. robur* τείνει να καλύπτεται πλήρως από την κόμη και αναπτύσσει ακανόνιστα κλαδιά που περιστρέφονται (Εικόνα 1), ενώ η *Q. petraea* συνήθως αναπτύσσει έναν κύριο κορμό, με κλαδιά που σταδιακά ελαττώνονται σε μέγεθος (Εικόνα 2) [1, 2, 3, 5]. Ο φλοιός και στα δύο είδη είναι χρώματος γκρι, με ραγαδώσεις και ξηρόφλοιο, μεγαλύτερου πάχους στην *Q. robur*, ενώ στην *Q. petraea* συνήθως ξεφλουδίζει.

Τα φύλλα είναι απλά, ωοειδή έως ελλειψοειδή, με βαθιές και ακανόνιστες εγκολπώσεις, κοντό μίσχο (2-7 mm) στη *Q. robur* και μακρύ μίσχο (13-25 mm) στην *Q. petraea* (Εικόνα 3) [1, 2, 3, 5].



Εικόνα 1: Ποδισκοφόρος δρυς (*Quercus robur*) το καλοκαίρι και το χειμώνα



Εικόνα 2: Απόδισκη δρυς (*Quercus petraea*) το καλοκαίρι και το χειμώνα

Οι καρποί είναι κάρυα (βελανίδια), που εμφανίζονται συχνά σε ζεύγη, με κύπελλα που φέρουν λεπιοειδή βράκτια και μακρύ ποδίσκο στην *Q. robur*, κοντό ή καθόλου ποδίσκο στην *Q. petraea*. Οι καρποί ποικίλουν σε μέγεθος και σχήμα, αλλά στην *Q. robur* είναι συνήθως μικρότεροι και πιο στρογγυλεμένοι με λαδοπράσινες, κατά μήκος γραμμώσεις που διακρίνονται όταν είναι φρέσκοι [1, 2, 3, 5].

Η ταυτοποίηση ενδέχεται να είναι δύσκολη εάν πραγματοποιηθεί αποκλειστικά με φαινολογικά κριτήρια. Οι μοριακές τεχνικές ταυτοποίησης αποτελούν το πλέον αξιόπιστο εργαλείο για την διάκριση των ειδών και των



Εικόνα 3: Φύλλα και καρποί της *Quercus robur* (αριστερά) και της *Quercus petraea* (δεξιά).

υβριδίων τους. Ωστόσο, στο πεδίο, τα φύλλα και οι καρποί αποτελούν τα βασικά γνωρίσματα για την ταυτοποίηση των ειδών και την αναγνώριση του βαθμού υβριδισμού μεταξύ της ποδισκοφόρου και της αποδίσκου δρυός σε πληθυσμούς όπου απαντώνται και τα δύο είδη. Το βασικό κριτήριο για τη συστηματική αναγνώριση ενδιάμεσων μορφών υβριδίων μεταξύ ποδισκοφόρου και αποδίσκου δρυός είναι οι μορφολογικοί χαρακτήρες οι οποίοι στα υβρίδια παρουσιάζουν ενδιάμεσες τιμές. Τα κύρια χαρακτηριστικά που διαφοροποιούν τα δύο είδη είναι ο μίσχος των φύλλων (απόδισκη- μακρύς, ποδισκοφόρος- κοντός), το μήκος του ποδίσκου στους καρπούς (απόδισκη- κοντός, ποδισκοφόρος- μακρύς), οι λοβοί στα φύλλα (απόδισκη- αβαθείς, ποδισκοφόρος- βαθείς), οι νευρώσεις των φύλλων που αντιστοιχούν σε εγκολπώσεις (απόδισκη- απουσιάζουν, ποδισκοφόρος- συνήθως υπάρχουν), η βάση του φύλλου (απόδισκη-αμβλεία, ποδισκοφόρος- καρδιοειδής, έντονα λοβωτή) και το πύλημα στην κάτω επιφάνεια του φύλλου (απόδισκη- αστερόμορφες τρίχες, ποδισκοφόρος- γυμνή) [1, 2, 3, 5].

3 Αναπαραγωγή

Τα παραπάνω είδη δρυός είναι μόνοικα και ανεμογαμή, με διακριτά θηλυκά και αρσενικά άνθη που φύονται σε δύο τύπους ταξιανθιών [1, 2, 3, 5].

Αρσενικά άνθη **σε ίουλους, μήκους περίπου 5εκ., αναπτύσσονται στη βάση των ετήσιων βλαστών.** Και τα δύο είδη ανθίζουν αργά την άνοιξη (τέλος Απριλίου και Μάιο) μαζί με την έκπτυξη των φύλλων (στην *Q. robur* δύο εβδομάδες νωρίτερα από ότι στην *Q. petraea*). Για κάθε άτομο, αν οι συνθήκες το επιτρέπουν, η ανάπτυξη των ίουλων πραγματοποιείται 1-2 εβδομάδες μετά την έκπτυξη των οφθαλμών και η επικονίαση ολοκληρώνεται σε 2-4 ημέρες [1, 2, 3, 5].

Θηλυκά άνθη σε σταχυόμορφα κεφάλια, μεγέθους 1 χλστ. σε επάκριους βλαστούς, εμφανίζονται μόλις μετά την εμφάνιση των πρώτων φύλλων (και αρσενικών ανθέων) και είναι δυσδιάκριτα, λόγω του πολύ μικρού μεγέθους τους. Όταν είναι έτοιμα να γονιμοποιηθούν, γίνονται κοκκινωπά και κολλώδη. Στην *Q. robur* βρίσκονται μεμονωμένα ή σε ομάδες στην άκρη μακρών ποδίσκων, ενώ στην *Q. petraea* αναπτύσσονται απόδισκα σε ομάδες των 2 – 5 [1, 2, 3, 5].

Η σταυρογονιμοποίηση εξασφαλίζεται με διάφορους μηχανισμούς, όπως η διαφορετική περίοδος αρσενικής και θηλυκής ανθοφορίας στο ίδιο άτομο, η υπεροχή γυρεόκοκκων από διαφορετικά άτομα στη συστάδα και το γεγονός ότι το κάθε δέντρο δεν ανθοφορεί / καρποφορεί κάθε έτος κτλ. [3].

Μετά την γονιμοποίηση, οι καρποί ωριμάζουν μέσα σε περίπου τρεις μήνες και μετά πέφτουν από το δέντρο. Οι καρποί της *Q. robur* ωριμάζουν στο τέλος Σεπτεμβρίου- αρχές Οκτωβρίου, ενώ οι καρποί της *Q. petraea* εντός του Οκτωβρίου [1, 2, 3, 5]. Τα δέντρα προσεγγίζουν το στάδιο της αναπαραγωγικής ωριμότητας περί τα 40-100 έτη, ενώ σε πρεμνοφυείς συστάδες περίπου στα 20 έτη. Περίοδοι πληροκαρπίας παρουσιάζονται κάθε 5-7 έτη και διαφοροποιούνται ανάλογα με το κάθε άτομο, τον πληθυσμό, την περιοχή, τη χρονιά και την πυκνότητα που φύονται τα δέντρα (για αραιή συστάδα ευνοεί την πρόωγη ωρίμανση)[3].

Η αναπαραγωγή στις δρύες γίνεται κυρίως με σπέρματα. Τα θηλαστικά και τα πτηνά παίζουν σημαντικό ρόλο στη διασπορά των σπερμάτων και ιδιαίτερα η κίτσα (*Garrulus glandarius* L.) η οποία μπορεί να θεωρηθεί βασικός παράγοντας για τη διασπορά των σπερμάτων τα οποία μπορεί να διασκορπίσει σε ακτίνα 5 χιλιομέτρων. Η ικανότητα των πρέμνων να πρεμνοβλαστώνουν κατά τη νεαρή ηλικία, αν και φθίνει με το πέρασμα του χρόνου, βοηθάει σημαντικά τις δρύες να διατηρήσουν το μέγεθος των πληθυσμών τους, ακόμα και με έλλειψη παραγωγής βελανιδιών. Σε αντίθεση με τη διασπορά γύρης και καρπών, η βλαστική αναπαραγωγή δεν συνεισφέρει στη ροή γονιδίων. Μπορεί ωστόσο να συνδράμει στη διατήρηση της αρχικής γενετικής ποικιλότητας εντός πληθυσμού [2, 3, 4, 5].

4 Περιβάλλον- Οικολογία

Η *Q. robur* και η *Q. petraea* συνυπάρχουν σε πολλές θέσεις και είναι βασικά συνθετικά στοιχεία των μικτών δασών φυλλοβόλων της εύκρατης ζώνης, ενώ μοιράζονται πολλά κοινά χαρακτηριστικά. Οι δρύες είναι επιβλητικά δέντρα, με μεγάλη πλαστικότητα στην οικολογία τους, αν και προτιμούν γόνιμα, υγρά εδάφη και έχουν ικανότητα μεγάλης εξάπλωσης σε έκταση και αριθμό, κυριαρχώντας με αυτό τον τρόπο σε θέσεις με χαμηλό και μέτριο υψόμετρο. Και τα δύο είδη λειτουργούν ως πρόσκοπα είδη, δεν προσβάλλονται εύκολα από όψιμους παγετούς καθώς η έκπτυξη του φυλλώματος λαμβάνει χώρα αργά την άνοιξη, έχουν ισχυρή αναβλαστική ικανότητα και είναι κατάλληλα τόσο για πρεμνοφυή, όσο και για σπερμοφυή διαχείριση. Το βαθύ και ισχυρό ριζικό τους σύστημα (πιο ανεπτυγμένο και εκτενές στην *Q. petraea*), προσφέρει σταθερότητα και αποτρέπει τις ανεμοριψίδες και την εκρίζωσή τους, ενώ επιτυγχάνεται και η ανοχή σε ξηρασία καθώς οι ρίζες έχουν την ικανότητα πρόσβασης σε βαθύτερα αποθέματα εδαφικού νερού. Σε μη ιδανικές συνθήκες, τα δύο είδη παρουσιάζουν διαφορές στην οικολογία τους. Η *Q. robur* έχει μία τάση να αναπτύσσεται σε βαρύτερα εδάφη σε πιο ηπειρωτικά κλίματα. Σε χαμηλά υψόμετρα με υγρασία αναπτύσσεται σε πιο υγρές θέσεις, κοντά σε ποτάμια και χειμάρρους, οι οποίες μπορεί να πλημμυρίζουν περιστασιακά. Η *Q. petraea* είναι πιο ανθεκτική από την ποδισκοφόρο δρυ στην ξηρασία και τα φτωχά εδάφη, αλλά παρουσιάζει μεγαλύτερη ευαισθησία σε βαριά εδάφη. Προτιμά να αναπτύσσεται σε ελαφριά και καλά αποστραγγιζόμενα, πετρώδη εδάφη, ενώ γενικά απαντάται σε επικλινείς πλαγιές και κορυφές, προτιμώντας τα όξινα εδάφη. Και τα δύο είδη είναι φωτόφιλα (η *Q. robur* περισσότερο από την *Q. petraea*) και οι κόμες τους επιτρέπουν τη διάχυση του φωτός στον υπόροφο, υποστηρίζοντας την αναγέννηση πολλών άλλων δασικών ειδών τα οποία ενισχύουν τη δασική βιοποικιλότητα. Οι συγκεκριμένες δρύες σπάνια σχηματίζουν αμιγή δάση. Σε ανοιχτές θέσεις, η ποδισκοφόρος δρυς είναι πρόσκοπο είδος και η απόδισκη δρυς εμφανίζεται αργότερα κατά τη διαδοχή. Η απόδισκη δρυς μπορεί να αποτελέσει είδος της τελικής φυτοκοινωνίας κλίμακος, αν τα καλοκαίρια είναι γενικά πολύ ξηρά. Σε κοιλάδες και θέσεις όπου υπάρχουν πλημμύρες, η ποδισκοφόρος δρυς αποτελεί είδος που εμφανίζεται αργά στη διαδοχή και σχηματίζει τελικές φυτοκοινωνίες κλίμακος με πλάτανο, σφένδαμο, φράξο και φτελιά [2, 3, 5].

5 Απειλές

Οι πληθυσμοί δρυός βρίσκονται σε κίνδυνο λόγω της κλιματικής αλλαγής, του κατακερματισμού των οικοτόπων τους (ειδικά της *Q. robur* σε χαμηλότερα υψόμετρα), των αλλαγών στα αποθέματα υπογείων υδάτων και της υπερκεμετάλλευσης των ώριμων δέντρων [2].

Η εισαγωγή ξενικών γενοτύπων για χρήση σε φυτείες αποτελεί τη μεγαλύτερη απειλή για τη γενετική ποικιλότητα των δρυών. Πληθυσμοί δρυών που αναπτύσσονται σε ακραία περιβάλλοντα βρίσκονται αντιμέτωποι με μεγαλύτερο κίνδυνο αφανισμού, καθώς αποτελούνται από μικρό αριθμό ατόμων, σε ασταθείς οικοτόπους, όπου συχνά η ανθρωπογενής επίδραση είναι έντονη [3].

Εξαιτίας της άνισης κατανομής που υπάρχει στα στάδια ανάπτυξης της δρυός, η υπεραφθονία θηραματοπανίδας ή οι αυξομειώσεις στη διαθεσιμότητα υπογείων υδάτων μπορούν να περιορίσουν την φυσική αναγέννηση. Σε πολλές περιπτώσεις τα αρτίφυτα νεκρώνονται μερικές εβδομάδες μετά την βλάστησή τους [1, 2].

Μία ακόμα απειλή που αντιμετωπίζουν οι δρύες είναι τα παράσιτα και τα παθογόνα. Το ωίδιο της δρυός (*Erysiphe alphitoides* (Griffon & Maubl.) U. Braun & S. Takam) αποτελεί το πιο κοινό παθογόνο στις δρύες. Η οξεία κατάπτωση (βιολογικός μαρασμός) των δρυών είναι ένα νέο σύνδρομο που επηρεάζει κατά κύριο λόγο τις ποδισκοφόρες και τις απόδισκες δρύες και χαρακτηρίζεται από μείωση της πυκνότητας της κόμης, εμφάνιση σκούρων, υγρών πληγών (έλκη) στον κορμό και σε πολλές περιπτώσεις από την παρουσία του σκαθαριού *Agrilus biguttatus* Fabricius [3].

Η πτώση του πρώτου φυλλώματος οφείλεται συνήθως στην παρουσία διάφορων ειδών κάμπιας, όπως των *Tortrix viridana* L., *Lymantria dispar* L., *Operophtera brumata* L. και του σκώρου *Thaumetopoea processionea* L. Ακόμα, η σφήκα *Andricus quercuscalicis* Burgsdorf μπορεί να προκαλέσει ζημιές στην παραγωγή βελανιδιών [3].

6 Εγκατάσταση επιφανειών και συντήρηση

Καθώς οι δρύες σχηματίζουν αμιγείς ή μεικτές συστάδες με άλλα δασικά είδη από χαμηλότερα υψόμετρα, ακολουθείται η διαδικασία εγκατάστασης μιας σταθερής επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης η οποία θα περιλαμβάνει 50 ώριμα άτομα, όπως και στα υπόλοιπα είδη που σχηματίζουν συστάδες. Τα παρακολουθούμενα δέντρα πρέπει να είναι κυρίαρχα ή συγκυρίαρχα άτομα, να διαθέτουν τον κατάλληλο φαινότυπο και να έχουν απόσταση μεταξύ τους τουλάχιστον 30 μ. Από αυτά τα άτομα θα προκύψει η νέα γενιά. Αν ένα άτομο βρίσκεται σε ανθοφορία θεωρείται αναπαραγωγικά.

Η καταλληλότερη στιγμή για την εγκατάσταση της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης και την επιλογή ατόμων είναι η άνοιξη, καθώς τότε τα ώριμα δέντρα βρίσκονται σε ανθοφορία και μπορούν επίσης να συλλεχθούν φύλλα και καρποί από το έδαφος για αναγνώριση ειδών και υβριδίων. Σε περίπτωση που δεν είναι δυνατόν να εγκατασταθεί η επιφάνεια κατά την περίοδο ανθοφορίας, η στηθαία διάμετρος και η φυτοκοινωνιολογική τάξη μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον προσδιορισμό των ώριμων ατόμων, ανάλογα πάντα και με την εμπειρία του παρατηρητή-δασολόγου. Κατά την ίδρυση της επιφάνειας, γίνεται η σήμανση και η λήψη συντεταγμένων για όλα τα δέντρα. Ταυτόχρονα μπορεί να γίνει μέτρηση της στηθιαίας διαμέτρου και η λήψη των δειγμάτων για απομόνωση DNA.

Λόγω του φυσικού υβριδισμού που συμβαίνει με τις δρύες, συστήνεται η μορφομετρική ανάλυση να γίνεται σε φύλλα και βελανίδια ώστε να προσδιοριστεί το είδος και να πραγματοποιηθεί η συστηματική ταξινόμηση της συστάδας προτού εγκατασταθεί η επιφάνεια γενετικής παρακολούθησης. Τα βασικά κριτήρια για τον ταξονομικό προσδιορισμό των υβριδίων της δρυός περιγράφονται στην ενότητα της περιγραφής του είδους.

Απαραίτητος εξοπλισμός:

- Συσσκευή μέτρησης απόστασης (συστήνονται κιάλια με ενσωματωμένο μετρητή ακτίνας)
- Πυξίδα
- Πινέλο και μπογιά ή σπρέι για τη σήμανση των δέντρων
- Παχύμετρο για τον υπολογισμό στηθιαίας διαμέτρου
- Συσσκευή GPS ακριβείας με δυνατότητα αποθήκευσης συντεταγμένων.

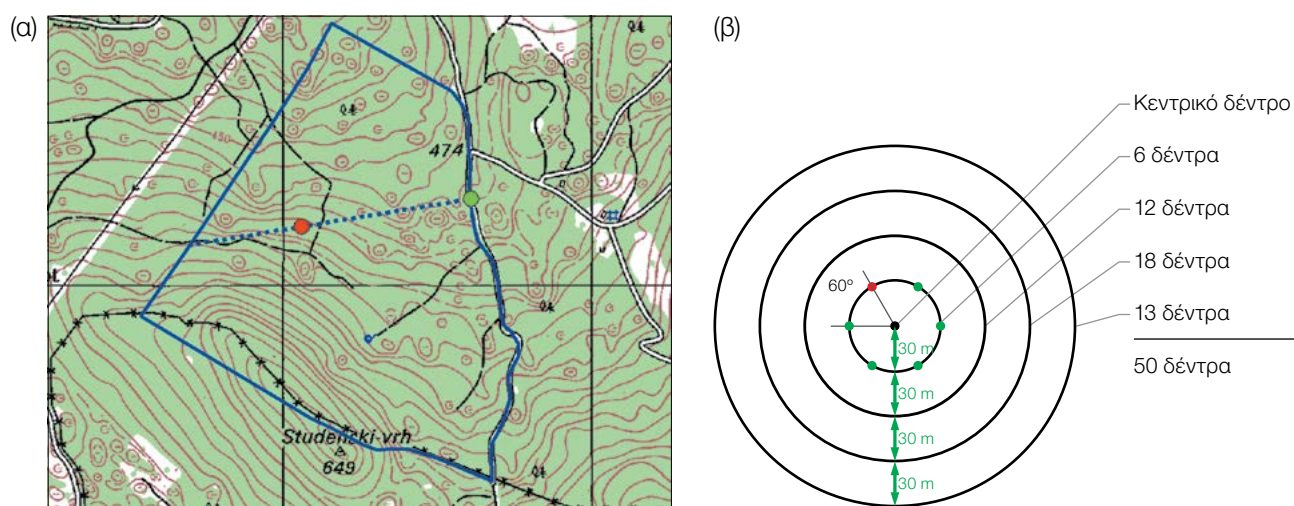
6.1 Εγκατάσταση επιφάνειας

6.1.1 Επιλογή του κέντρου της επιφάνειας

Η διαδικασία για την τυχαία επιλογή επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης περιλαμβάνει τα παρακάτω βήματα (Εικόνα 4a):

- Τυχαία επιλογή ενός σημείου (πράσινη κουκκίδα) στον χάρτη, κατά μήκος ενός δασικού δρόμου ή μονοπατιού που διατρέχει τη συστάδα,
- Σχεδίαση μιας περίπου κάθετης γραμμής από τυχαίο σημείο πάνω στον δρόμο,
- Τυχαία επιλογή ενός σημείου στην κάθετο (κόκκινη κουκκίδα)- αυτό το σημείο θεωρείται το κέντρο της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης.

Η ελάχιστη απόσταση μεταξύ του επιλεγμένου κεντρικού σημείου και του ορίου της συστάδας είναι περίπου 150 μ. Αν το κεντρικό σημείο δεν πληροί αυτό το κριτήριο, τότε πρέπει να οριστεί εκ νέου ένα κεντρικό σημείο ακολουθώντας τα παραπάνω βήματα.



Εικόνα 4: Τυχαία επιλογή του κέντρου της δασικής επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης (α), επιλογή δέντρων σε ομόκεντρους κύκλους, με απόσταση μεταξύ τους 30 μέτρα γύρω από το κεντρικό δέντρο (β).

Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί κατάλληλο λογισμικό GIS το οποίο θα επιλέξει τυχαία σημεία.

Οι συντεταγμένες των επιλεγμένων σημείων αποθηκεύονται σε συσκευή GPS ώστε να χρησιμοποιηθούν στο πεδίο.

6.1.2 Εγκατάσταση επιφάνειας στο πεδίο

Στο πεδίο, το κοντινότερο ώριμο δέντρο στο σημείο που ορίσαμε ως το κέντρο της επιφάνειας και έχουμε αποθηκεύσει τις συντεταγμένες του στο GPS, επιλέγεται ως κεντρικό δέντρο και μαρκάρεται με τον αριθμό 1.

Τα υπόλοιπα δέντρα επιλέγονται με βάση το κεντρικό δέντρο σε ομόκεντρους κύκλους με ακτίνα που για κάθε νέο κύκλο αυξάνεται 30 μέτρα (Εικόνα 4b). Το πρώτο δέντρο σε κάθε κύκλο επιλέγεται τυχαία, είτε χρησιμοποιώντας ένα τυχαίο αζιμούθιο (Πίνακας 1) κοιτάζοντας από το κεντρικό δέντρο, είτε ακολουθώντας την κατεύθυνση του μικρού δείκτη ενός ρολογιού ή κάποια ανάλογη προσέγγιση που διασφαλίζει την τυχαιότητα και την αντικειμενικότητα. Τα υπόλοιπα δέντρα του κύκλου επιλέγονται αυξάνοντας ανάλογα το αζιμούθιο ώστε να πληρείται η συνθήκη της ελάχιστης απόστασης των 30 μέτρων μεταξύ οποιοδήποτε 2 δέντρων:

- +60° για τον πρώτο κύκλο
- +30° για τον δεύτερο κύκλο
- +20° για τον τρίτο κύκλο
- +15° για τον τέταρτο κύκλο

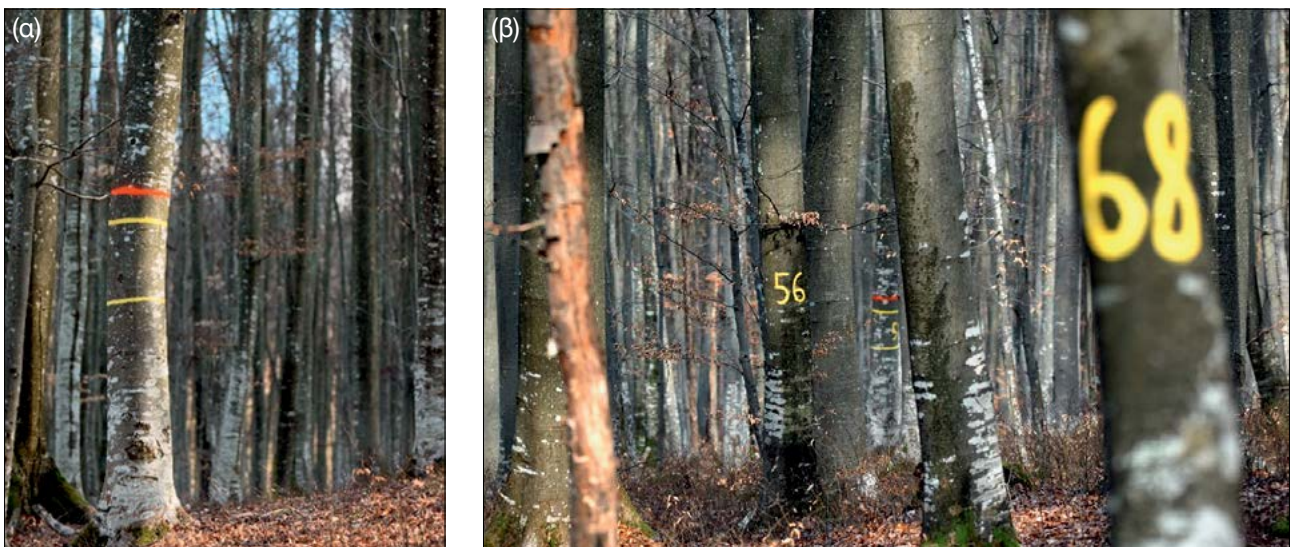
Εάν δεν είναι εφικτή η επιλογή αντίστοιχα 6, 12 και 18 δέντρων σε κάθε έναν από τους 3 εσωτερικούς κύκλους (Εικόνα 4b), μπορούμε να επιλέξουμε πρόσθετα δέντρα σε επιπλέον κύκλους.

Πίνακας 1: Τυχαία αζιμούθια για την επιλογή του πρώτου δέντρου κάθε κύκλου

108	15	186	35	178	29	305	351	44	150
232	23	160	141	112	292	216	83	245	214
63	65	345	234	95	78	279	323	40	236
201	313	275	144	182	68	268	289	185	92
356	177	93	1	145	198	287	251	224	142

6.1.3 Σήμανση δέντρων

Κάθε επιλεγμένο δέντρο αριθμείται με έναν χαρακτηριστικό αριθμό και συμπληρωματικά με μία γραμμή περιμετρικά του κορμού ώστε να είναι ορατό από κάθε πλευρά. Αριθμείται το κεντρικό δέντρο (νούμερο 1) με μία ή περισσότερες γραμμές ώστε αυτό να διαφοροποιείται ανάμεσα στα υπόλοιπα (Εικόνα 5a). Συστήνεται ακόμη να βάλετε τον αριθμό και στην πλαϊνή όψη του κεντρικού δέντρου σε διαφορετική κατεύθυνση από την αρίθμηση των υπόλοιπων επιλεγμένων ατόμων καθώς έτσι διακρίνεται ευκολότερα και από τους εξωτερικούς δακτυλίους της επιφάνειας (Εικόνα 5b).



Εικόνα 5: α) Το κεντρικό δέντρο της επιφάνειας γενετικής παρακολούθησης έχει σημασθεί με πολλαπλές γραμμές ώστε να διακρίνεται ανάμεσα στα άλλα δέντρα, β) Η αρίθμηση στα υπόλοιπα δέντρα σε διαφορετική κατεύθυνση από την αρίθμηση του κεντρικού δέντρου (και οι δύο φωτογραφίες απεικονίζουν επιφάνειες γενετικής παρακολούθησης σε δάσος *F. sylvatica*).

6.2 Ίδρυση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης

Η ίδρυση υποεπιφανειών με φυσική αναγέννηση (ΦΑ) πραγματοποιείται κατά τη διάρκεια της βλαστητικής περιόδου μετά από έτος πληροκαρπίας.

Η φυσική αναγέννηση που προκύπτει από την πιο πρόσφατη περίοδο πληροκαρπίας, αξιολογείται στο πεδίο και καταγράφονται οι θέσεις στις οποίες βρίσκεται (συντεταγμένες με GPS, αριθμός κοντινότερου δέντρου στο σημείο όπου παρατηρείται ΦΑ). Από όλες τις καταγεγραμμένες θέσεις με ΦΑ, επιλέγονται τυχαία 20 για την ίδρυση των υποεπιφανειών. Εάν έχουν καταγραφεί 20 ή και λιγότερες θέσεις φυσικής αναγέννησης, τότε συμπεριλαμβάνονται όλες.

Εντός κάθε κέντρου φυσικής αναγέννησης ορίζεται και οριοθετείται με μεταλλικές ράβδους μία επιφάνεια 1τμ. Οι μεταλλικές ράβδοι τοποθετούνται στο έδαφος σε κάθε γωνία της υποεπιφάνειας σε όσο το δυνατόν μεγαλύτερο βάθος ώστε να αποτραπεί η αφαίρεσή τους από ζώα. Οι άκρες των ράβδων βάζονται με κάποιο εύκολα διακριτό χρώμα.

6.3 Συντήρηση επιφανειών

6.3.1 Γενική συντήρηση

Οι σημάνσεις και οι αριθμήσεις των δέντρων πρέπει να ελέγχονται περιοδικά (κάθε 2 χρόνια) και να ανανεώνονται όπου είναι απαραίτητο.

6.3.2 Αντικατάσταση δέντρων

Εάν κάποιο επιλεγμένο για γενετική παρακολούθηση άτομο πεθάνει ή αφαιρεθεί στα πλαίσια της διαχείρισης του δάσους, τότε πρέπει να αντικατασταθεί. Επιλέγεται το κοντινότερο κατάλληλο δέντρο, λαμβάνοντας υπόψη ότι πρέπει να πληρείται η συνθήκη απόστασης 30μ από το κοντινότερο παρακολουθούμενο δέντρο. Διαφορετικά, επιλέγεται κάποιο άλλο άτομο από την περιφέρεια του εξωτερικού κύκλου στα όρια της επιφάνειας παρακολούθησης. Το δέντρο αντικατάστασης λαμβάνει τον επόμενο διαθέσιμο αριθμό μετά το 50 π.χ. 51, 52, 53 κ.ο.κ. ώστε να διαφοροποιείται από τα αρχικά επιλεγμένα 50 άτομα.

Σε περίπτωση καταστροφής της κόμης του δέντρου π.χ. καταστροφή από άνεμο, χιόνι ή παγετό χωρίς όμως να επηρεάζεται η δυνατότητα καρποφορίας του, το δέντρο συνεχίζει να παρακολουθείται. Εάν η καταστροφή είναι πολύ έντονη και εκτεταμένη σε σημείο που επηρεάζει την καρποφορία, το επιλεγμένο δέντρο πρέπει να αντικατασταθεί. Η αιτία της καταστροφής πρέπει να καταγραφεί, καθώς μπορεί να επηρεάσει τις τιμές των επαληθευτών και των επιπλέον πληροφοριών που καταγράφονται στο πεδίο.

7 Καταγραφή επαληθευτών και επιπλέον πληροφοριών

Πρέπει να καταγράφονται επιπλέον πληροφορίες για την επιφάνεια παρακολούθησης και τους επαληθευτές, σε συστηματική βάση. Οι επαληθευτές χρησιμοποιούνται για την παρακολούθηση των γενετικών δεικτών του πληθυσμού καθώς και για την παρακολούθηση της προσαρμογής του σε περιβαλλοντικές αλλαγές ή/και διαχειριστικές μεθόδους. Παράλληλα, άλλες επιπλέον πληροφορίες για τον πληθυσμό καταγράφονται ώστε να συμβάλλουν στην ερμηνεία των επαληθευτών.

Υψηλότερου επιπέδου επαληθευτές (τυπικοί, προχωρημένου επιπέδου) πρέπει να περιλαμβάνουν καταγραφή των επαληθευτών και από τις χαμηλότερες κατηγορίες (βασικοί, τυπικοί). Δεν είναι απαραίτητη η καταγραφή άλλων επιπλέον πληροφοριών.

Πίνακας 2: Κατάλογος επαληθευτών και επιπλέον πληροφοριών με σύντομες περιγραφές και συχνότητα παρατήρησης κατά τη διάρκεια εργασιών πεδίου σε επιφάνειες γενετικής παρακολούθησης δρυός.

Όνομα	Βασικό επίπεδο	Τυπικό επίπεδο	Προχωρημένο επίπεδο	
Εθνησιμότητα / επιβίωση Φυσική αναγέννηση: /	Μέτρηση υφιστάμενων επιλεγμένων δέντρων κάθε 10 χρόνια, καθώς και μετά από ισχυρή κακοκαιρία/έντονα καιρικά φαινόμενα	Όπως στο βασικό επίπεδο	Όπως στο βασικό επίπεδο	
	Καταμέτρηση υφιστάμενων φυταρίων στις υποεπιφάνειες φυσικής αναγέννησης, δύο φορές ανά δεκαετία	Όπως στο τυπικό επίπεδο		
Επαληθευτές Ανθοφορία	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας σε ετήσια βάση	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κατά τη διάρκεια δύο περιόδων μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία, ιδανικά ισαπέχουσες μεταξύ τους*	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, κατά τη διάρκεια δύο περιόδων μαζικής ανθοφορίας ανά δεκαετία, ιδανικά ισαπέχουσες μεταξύ τους*	
	Καρποφορία	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας σε ετήσια βάση	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, τα ίδια έτη αξιολόγησης με την ανθοφορία στο τυπικό επίπεδο (ανεξάρτητα από το βαθμό καρποφορίας)*	Καταμέτρηση καρπών τα ίδια έτη αξιολόγησης με την ανθοφορία στο προχωρημένο επίπεδο (ανεξάρτητα από το βαθμό καρποφορίας)* Συλλέγονται επίσης σπέρματα για εργαστηριακές αναλύσεις σε κάθε καρποφορία που αξιολογείται στο προχωρημένο επίπεδο
Αφθονία φυσικής αναγέννησης	Εκτίμηση σε επίπεδο συστάδας σε ετήσια βάση	Καταμέτρηση των φυταρίων το 1ο και το 6ο έτος μετά από κάθε αξιολογημένη καρποφορία	Καταμέτρηση των φυταρίων το 1ο, 6ο, 11ο και 16ο έτος μετά από κάθε αξιολογημένη καρποφορία	
Επιπλέον πληροφορίες	Κατανομή κλάσεων διαμέτρου	/	Μέτρηση κάθε 10 έτη	Όπως στο τυπικό επίπεδο
	Κατανομή υψομετρικών κλάσεων	/	Μέτρηση κάθε 10 έτη	Όπως στο τυπικό επίπεδο
	Έκπτυξη οφθαλμών	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου κάθε 5 έτη	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, ετησίως
	Φθινοπωρινός μαρασμός	/	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου κάθε 5 έτη	Παρατήρηση σε επίπεδο δέντρου, ετησίως

* Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος μαζικής ανθοφορίας πρέπει να αξιολογείται ανά δεκαετία. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δε οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε την επόμενη περίοδο ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου, τόσο η ανθοφορία, όσο και η πληροκαρπία, ανεξάρτητα του χρόνου που έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών περιόδων. Το βασικό επίπεδο παρατήρησης χρησιμοποιείται για την αναγνώριση των περιόδων ανθοφορίας και πληροκαρπίας.

7.1 Πρωτόκολλα για την καταγραφή επαληθευτών

7.1.1 Θνησιμότητα / επιβίωση

Η θνησιμότητα είναι δείκτης που χαρακτηρίζει τα ενήλικα άτομα. Από την άλλη, η επιβίωση χαρακτηρίζει τα άτομα εκείνα που έχουν μείνει ζωντανά από την προηγούμενη αξιολόγηση. Η επιβίωση προκύπτει από τη σχέση $\text{Επιβίωση} = (1 - \text{Θνησιμότητα})$.

7.1.1.1 Ενήλικα άτομα: Βασικό, τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Επαληθευτής για τη θνησιμότητα ενήλικων ατόμων. Υπολογίζεται με καταμέτρηση των ζωντανών αριθμημένων δέντρων κάθε 10 έτη, καθώς και έπειτα από ακραίες καιρικές συνθήκες. Η θνησιμότητα υπολογίζεται ως η διαφορά μεταξύ του αρχικού αριθμού των 50 επιλεγμένων δέντρων, μείον τον τελικό αριθμό των ζωντανών επιλεγμένων δέντρων.

7.1.1.2 Φυσική αναγέννηση: Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Η θνησιμότητα της φυσικής αναγέννησης υπολογίζεται από τον επαληθευτή «αφθονία φυσικής αναγέννησης» κατά τη διάρκεια δύο διαδοχικών αξιολογήσεων (πραγματοποιούνται δύο φορές ανά δεκαετία, ιδανικά κάθε 5 έτη).

7.1.2 Ανθοφορία

Αυτός ο επαληθευτής περιγράφει την ένταση της ανθοφορίας καθώς και την αναλογία δέντρων που βρίσκονται σε κατάσταση ανθοφορίας. Καταγράφεται από τον Απρίλιο έως το Μάιο στην κεντρική Ευρώπη και σχετικά νωρίτερα στη νότια Ευρώπη. Η ανθοφορία παρατηρείται νωρίτερα όταν προηγείται θερμός χειμώνας.

Αρσενικά άνθη (Εικόνα 7): Το κριτήριο για τον προσδιορισμό της έναρξης της ανθοφορίας καθορίζεται από την ανάπτυξη των ίουλων. Τα αρσενικά άνθη (ίουλοι) αρχίζουν να αναπτύσσονται αμέσως μετά την εμφάνιση των πρώτων φύλλων και η απελευθέρωση της γύρης ξεκινάει όταν οι ίουλοι επιμηκύνονται και αυξάνονται σε διάμετρο. Το τέλος της αρσενικής ανθοφορίας έρχεται όταν δεν υπάρχουν πλέον αρσενικά άνθη με γύρη στην κόμη. Το χρώμα των ίουλων γίνεται σκούρο καφέ και η συνοχή τους μοιάζει με ιστό αράχνης.

Θηλυκά άνθη (Εικόνα 6): Τα θηλυκά άνθη στις δρύες είναι πολύ μικρά και δυσδιάκριτα. Ως εκ τούτου, η αξιολόγηση όλων των παραμέτρων στηρίζεται κυρίως στα αρσενικά άνθη. Συνεπώς, σε αντίθεση με τα περισσότερα άλλα είδη η επιπλέον πληροφορία «συγχρονισμός ανθοφορίας» δεν καταγράφεται για την ποδισκοφόρο και την απόδισκη δρυ.

7.1.2.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κάθε έτος σε επίπεδο συστάδας. Η καταγραφή γίνεται όταν η ανθοφορία είναι σε πλήρη εξέλιξη. Ο υπολογισμός της μέσης κατάστασης πραγματοποιείται μετά από αυτοψία στην επιφάνεια παρακολούθησης. Δίνονται δύο τιμές, η μία για την ένταση της ανθοφορίας, εκφρασμένη ως ποσοστό της κόμης και η άλλη για την αναλογία των ατόμων της συστάδας σε στάδιο ανθοφορίας.

Κωδικός	Ένταση ανθοφορίας σε επίπεδο συστάδας	Μέση αναλογία ανθοφορίας κόμης (%)
1	Χωρίς ανθοφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση ανθέων στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης ανθοφορία: Μερικά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης ανθοφορία: Αρκετά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης ανθοφορία: Άφθονα άνθη στα δέντρα	> 60 – 90
5	Μαζική ανθοφορία: Τεράστιες ποσότητες ανθέων στα δέντρα	> 90

Κωδικός	Αναλογία δέντρων της συστάδας σε κάθε στάδιο έντασης ανθοφορίας(%)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

7.1.2.2 Τυπικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κατά τη διάρκεια δύο, μαζικών περιόδων ανθοφορίας ανά δεκαετία, οι οποίες ιδανικά, ισαπέχουν χρονικά μεταξύ τους. Καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου σε κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα άτομα. Ως στάδιο μαζικής ανθοφορίας θεωρείται η ανθοφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική ανθοφορία (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση ανθοφορίας είναι σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5). Η καταγραφή γίνεται όταν η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη. Για κάθε δέντρο δίνεται μία τιμή.

Κωδικός	Περιγραφή	Αναλογία ανθοφορίας κόμης(%)
1	Χωρίς ανθοφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση ανθέων στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης ανθοφορία: Μερικά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης ανθοφορία: Αρκετά άνθη εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης ανθοφορία: Άφθονα άνθη στα δέντρα	> 60 – 90
5	Μαζική ανθοφορία: Τεράστιος αριθμός ανθέων στα δέντρα	> 90

7.1.2.3 Προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κατά τη διάρκεια δύο, μαζικών περιόδων ανθοφορίας ανά δεκαετία, οι οποίες ιδανικά, ισαπέχουν χρονικά μεταξύ τους. Καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου σε κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα άτομα. Ως στάδιο μαζικής ανθοφορίας θεωρείται η ανθοφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική ανθοφορίας (κωδικός 4 ή 5). Χρειάζονται περίπου δύο επισκέψεις στην επιφάνεια παρακολούθησης, η πρώτη αρκετά νωρίς ώστε να παρατηρηθούν τα πρώιμα στάδια της ανθοφορίας και η δεύτερη όταν πλέον η ανθοφορία βρίσκεται σε πλήρη εξέλιξη.

Δύο τιμές καταγράφονται για κάθε δέντρο: στάδιο ανθοφορίας αρσενικών ανθέων και αναλογία της κόμης σε ανθοφορία. Επειδή τα θηλυκά άνθη είναι πολύ μικρά και δυσδιάκριτα και στα δύο είδη δρυός, η αξιολόγηση του σταδίου της θηλυκής ανθοφορίας είναι πρακτικά αδύνατο να πραγματοποιηθεί. Η τελευταία τιμή αναφέρεται στη συνολική ποσότητα αρσενικών ανθέων στο δέντρο.

Για την γραφική απεικόνιση των σταδίων ανθοφορίας των θηλυκών και των αρσενικών ταξιανθιών δείτε τις Εικόνες 6 και 7.

Κωδικός Στάδιο ανθοφορίας αρσενικών ανθέων	
1	Επιμήκης ποδίσκος- κλειστό άνθος (πράσινο)
2	Απελευθέρωση γύρης από τους ανθήρες (κίτρινο)
3	Άδειοι ανθήρες (γύρη απελευθερωμένη)(καφετί)

Κωδικός Proportion of the crown flowering (% , male flowers)	
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

(α)



(β)



Εικόνα 6: Θηλυκά άνθη – ποδισκοφόρος δρυς (*Quercus robur*) (α) αριστερά και απόδισκη δρυς (*Q. petraea*) (β).

1



2



3



Εικόνα 7: Εικονογραφημένος οδηγός για την περιγραφή των αρσενικών ανθέων για τον επαληθευτή Ανθοφορία στο προχωρημένο στάδιο για την ποδισκοφόρο και την απόδισκη δρυ.

7.1.3 Καρποφορία

Ο επαληθευτής περιγράφει την παρουσία καρπών και την αφθονία τους. Δεδομένα για αυτόν τον επαληθευτή συλλέγονται κατά τη διάρκεια της καρποφορίας, κατά το διάστημα Αύγουστος- Οκτώβριος στην κεντρική Ευρώπη. Τα βελανίδια της *Q. robur* ωριμάζουν στο τέλος Σεπτεμβρίου ή στις αρχές Οκτωβρίου νωρίτερα από τα βελανίδια της *Q. petraea*, τα οποία ωριμάζουν τον Οκτώβριο.

7.1.3.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται κάθε έτος σε επίπεδο συστάδας. Ο υπολογισμός της μέσης κατάστασης πραγματοποιείται μετά από αυτοψία στην επιφάνεια παρακολούθησης. Δίνονται δύο τιμές, η μία για την ένταση της καρποφορίας και η άλλη για την αναλογία των ατόμων σε στάδιο καρποφορίας στη συστάδα.

Κωδικός	Ένταση καρποφορίας σε επίπεδο συστάδας	Μέση αναλογία κόμης σε καρποφορία (%)
1	Χωρίς καρποφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση καρπών στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης καρποφορία: Μερικοί καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης καρποφορία: Αρκετοί καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης καρποφορία: Άφθονοι καρποί στα δέντρα	> 60 – 90
5	Πληροκαρπία: Τεράστιες ποσότητες καρπών στα δέντρα	> 90

Κωδικός	Αναλογία δέντρων στη συστάδα σε κάθε στάδιο έντασης καρποφορίας (%)
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

7.1.3.2 Τυπικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται τις ίδιες χρονιές όπου αξιολογείται η ανθοφορία στο τυπικό επίπεδο (ανεξάρτητα από την ένταση της καρποφορίας). Γίνεται καταγραφή σε επίπεδο δέντρου στο σύνολο των 50 παρακολουθούμενων δέντρων. Η καταγραφή γίνεται προτού πέσουν οι καρποί. Για κάθε δέντρο δίνεται μία τιμή. Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος πληροκαρπίας πρέπει να αξιολογείται μετά από μία περίοδο μαζικής ανθοφορίας. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δε οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε την επόμενη περίοδο ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου και η ανθοφορία και η πληροκαρπία, ανεξάρτητα του χρόνου που έχει μεσολαβήσει μεταξύ των δύο διαδοχικών περιόδων. Ως στάδιο πληροκαρπίας θεωρείται η καρποφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρή έντασης ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση καρποφορίας είναι σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5).

Κωδικός	Ένταση καρποφορίας	Αναλογία καρποφορίας στην κόμη (%)
1	Χωρίς καρποφορία: Καθόλου ή με περιστασιακή εμφάνιση καρπών στα δέντρα	0 – 10
2	Μικρής έντασης καρποφορία: Μερικοί καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 10 – 30
3	Μέτριας έντασης καρποφορία: Αρκετοί καρποί εμφανίζονται στα δέντρα	> 30 – 60
4	Ισχυρής έντασης καρποφορία: Άφθονοι καρποί στα δέντρα	> 60 – 90
5	Πληροκαρπία: Τεράστιες ποσότητες καρπών στα δέντρα	> 90

7.1.3.2 Προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου στο σύνολο των 50 παρακολουθούμενων δέντρων τις ίδιες χρονιές όπου αξιολογείται η ανθοφορία στο προχωρημένο επίπεδο, ανεξάρτητα από την ένταση της καρποφορίας. Η καταγραφή γίνεται προτού πέσουν οι καρποί. Για κάθε δέντρο δίνεται μία τιμή. Παράλληλα συλλέγονται σπέρματα για γενετικές και άλλες αναλύσεις, καθώς και για την καταγραφή των επιπλέον πληροφοριών σε αυτό το επίπεδο. Ιδανικά, μία τουλάχιστον περίοδος πληροκαρπίας πρέπει να αξιολογείται μετά από μία περίοδο μαζικής ανθοφορίας. Ωστόσο, μία περίοδος ανθοφορίας δε οδηγεί πάντοτε σε πληροκαρπία. Εάν μετά από μια μαζική ανθοφορία η οποία αξιολογήθηκε δεν ακολουθήσει πληροκαρπία, τότε την επόμενη περίοδο ανθοφορίας θα πρέπει να αξιολογηθούν εκ νέου και η ανθοφορία και η περίοδων. Κατά το βασικό επίπεδο παρατήρησης καταγράφονται οι περίοδοι πληροκαρπίας. Ως στάδιο πληροκαρπίας θεωρείται η καρποφορία εκείνη που κατά το βασικό επίπεδο αξιολόγησης έχει χαρακτηριστεί ως ισχυρής έντασης ή μαζική (κωδικός 4 ή 5) και η αναλογία δέντρων με τη δεδομένη ένταση καρποφορίας είναι σε ποσοστό άνω του 60% (κωδικός 4 ή 5).

Αυτός ο επαληθευτής καταγράφεται μετά από μέτρηση των καρπών χρησιμοποιώντας κιάλια. Σημειώνεται ο μέσος όρος που προκύπτει από τρεις διαδοχικές μετρήσεις. Στην κάθε μέτρηση καταγράφεται ο αριθμός καρπών που ο παρατηρητής μετράει σε 30 δευτερόλεπτα. Για όλα τα δέντρα εξετάζεται το ίδιο μέρος της κόμης. Μόλις επιλεγεί το συγκεκριμένο κομμάτι της κόμης, ο παρατηρητής πρέπει να εστιάσει σε αυτό και για κάθε επόμενη μέτρηση που θα πραγματοποιήσει. Προτείνεται για την καταμέτρηση να εξεταστεί το ανώτερο τρίτο της κόμης σε σχέση με το ενδιάμεσο ή το κατώτερο.

Σημειώνονται δύο τιμές, ο αριθμός των καρπών και το μέρος της κόμης που εξετάστηκε

Αριθμός καταμετρημένων καρπών σε 30 δευτερόλεπτα (μέσος όρος τριών μετρήσεων)	
X	
Κωδικός Μέρος της κόμης που εξετάστηκε	
1	Κατώτερο
2	Ενδιάμεσο
3	Ανώτερο

7.1.4 Αφθονία φυσικής αναγέννησης

Ο επαληθευτής περιγράφει την παρουσία και την αφθονία της φυσικής αναγέννησης στην επιφάνεια παρακολούθησης.

7.1.4.1 Βασικό επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται σε ετήσια βάση, το φθινόπωρο, σε επίπεδο συστάδας. Για τον υπολογισμό της φυσικής αναγέννησης σε όλη την επιφάνεια, συνιστάται η συμβουλή τοπικών δασολόγων. Καταγράφονται δύο τιμές, μία για την νέα φυσική αναγέννηση (αρτίφυτα της τρέχουσας χρονιάς, Εικόνα 8) και μία για την ήδη εγκατεστημένη αναγέννηση (φυτάρια μεγαλύτερα σε ηλικία από τη νέα φυσική αναγέννηση).

Κωδικός Περιγραφή: νέα φυσική αναγέννηση (αρτίφυτα της τρέχουσας χρονιάς)	
1b	Καθόλου ή ελάχιστη νέα φυσική αναγέννηση στην επιφάνεια παρακολούθησης
2b	Η νέα φυσική αναγέννηση υπάρχει και αντιπροσωπεύεται από επαρκή αριθμό ατόμων στην επιφάνεια παρακολούθησης

Κωδικός Περιγραφή: εγκατεστημένη φυσική αναγέννηση (φυτάρια)	
1a	Καθόλου ή ελάχιστη νέα φυσική αναγέννηση στην επιφάνεια παρακολούθησης
2a	Εγκατεστημένη φυσική αναγέννηση σε επαρκή αριθμό ατόμων στην επιφάνεια παρακολούθησης



Εικόνα 8: Φυτάρια ενός έτους

7.1.4.2 Τυπικό επίπεδο

Ο συγκεκριμένος επαληθευτής προκύπτει από την καταμέτρηση φυταρίων το πρώτο φθινόπωρο μετά από κάθε αξιολογημένη περίοδο καρποφορίας (το έτος με καρποφορία θεωρείται το έτος 0) και έπειτα το 6^ο φθινόπωρο μετά την καρποφορία. Τα σπέρματα των δρυών δεν βρίσκονται σε λήθαργο και μπορούν να βλαστήσουν τον αμέσως επόμενο χρόνο μετά την καρποφορία. Επειδή τόσο στην ποδοσκοφόρο όσο και στην απόδισκη δρυ η πληροκαρπία συμβαίνει περίπου κάθε 5-7 έτη η επόμενη παρακολούθηση και καταγραφή της αφθονίας της φυσικής αναγέννησης πραγματοποιείται μετά την επόμενη πληροκαρπία (περίπου 5-7 έτη μετά την εγκατάσταση των προηγούμενων υποεπιφανειών).

Καταμέτρηση φυταρίων:

Μετά την εγκατάσταση των υποεπιφανειών της φυσικής αναγέννησης, καταμετρώνται όλα τα φυτάρια δρυός σε κάθε υποεπιφάνεια. Μεγαλύτερα σε ηλικία φυτάρια δρυός που βρίσκονται εντός της υποεπιφάνειας δεν συμπεριλαμβάνονται στην καταμέτρηση. Στον επόμενο γύρο καταμέτρησης, λαμβάνονται υπόψη μόνο φυτάρια στην κατάλληλη ηλικία, δηλαδή στο 6ο έτος καταμετρώνται φυτάρια 5 ετών.

Αριθμός φυταρίων ανά υποεπιφάνεια

X

Για την εγκατάσταση υποεπιφανειών, δείτε στο 6.2 Εγκατάσταση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης.

7.1.4.3 Προχωρημένο επίπεδο

Ο επαληθευτής καταγράφεται με την καταμέτρηση φυταρίων το 1ο φθινόπωρο μετά από κάθε αξιολογημένη περίοδο καρποφορίας (το έτος με καρποφορία θεωρείται το έτος 0) και έπειτα το 6ο, 11ο, 16ο φθινόπωρο μετά την καρποφορία.

Πίνακας 3: Χρονοδιάγραμμα για την αξιολόγηση της φυσικής αναγέννησης (ΦΑ). Σε αυτό το υπόδειγμα, η πρώτη καρποφορία συμβαίνει το δεύτερο έτος της δεκαετίας όπου εφαρμόζεται η γενετική παρακολούθηση και η δεύτερη καρποφορία η οποία αξιολογείται, μετά από 5 έτη λ.χ. το 7ο έτος παρακολούθησης. Είκοσι νέες υποεπιφάνειες εγκαθίστανται μετά από κάθε περίοδο καρποφορίας. Η παρακολούθηση της αφθονίας της φυσικής αναγέννησης σε κάθε ομάδα 20 υποεπιφανειών γίνεται κάθε 5 έτη. Η περίοδος καρποφορίας που αντιστοιχεί στην κάθε υποεπιφάνεια ΦΑ υπό αξιολόγηση και το χρονοδιάγραμμα των αξιολογήσεων χρωματίζονται με το ίδιο χρώμα. Μετά τον τελευταίο γύρο καταμέτρησης φυταρίων, η παρακολούθηση της ΦΑ στις καθορισμένες ομάδες σταματάει και οι υποεπιφάνειες απεγκαθίστανται. Τ – Τυπικό επίπεδο, Π– Προχωρημένο επίπεδο.

Έτος παρακολούθησης	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Περίοδος καρποφορίας		•					•								•					•			
Αξιολόγηση ΦΑ από την 1η αξιολογημένη περίοδο καρποφορίας (έτη)	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
Εγκατάσταση υποεπιφανειών ΦΑ			ΤΠ																				
Καταμέτρηση αφθονίας ΦΑ			ΤΠ				ΤΠ					Π					Π						
Αξιολόγηση ΦΑ από τη 2η αξιολογημένη περίοδο καρποφορίας [έτη]							0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Εγκατάσταση υποεπιφανειών ΦΑ								ΤΠ															
Καταμέτρηση αφθονίας ΦΑ								ΤΠ				ΤΠ					Π						Π

Η θνησιμότητα/επιβίωση της φυσικής αναγέννησης υπολογίζεται με βάση τις τιμές που καταγράφονται για αυτόν τον επαληθευτή.

Για την εγκατάσταση υποεπιφανειών, δείτε στο 6.2 Εγκατάσταση υποεπιφανειών φυσικής αναγέννησης και για την καταμέτρηση το 7.1.4.2 Τυπικό επίπεδο.

7.2 Πρωτόκολλα για την καταγραφή επιπλέον πληροφοριών

7.2.1 Κατανομή κλάσεων στηθιαίας διαμέτρου κορμών

7.2.1.1 Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Η στηθιαία διάμετρος DBH καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου και στα 50 παρακολουθούμενα δέντρα κάθε δεκαετία. Η στηθιαία διάμετρος είναι η διάμετρος του κορμού σε ύψος 1,30 μ., δηλαδή περίπου το ύψος του στήθους ενός ενήλικα. Εάν το δέντρο έχει παραπάνω από έναν κορμό, προτείνεται να μετρηθούν όλοι και να καταγραφεί ο μέσος όρος τους (ωστόσο, καλύτερα να αποφεύγετε τα δέντρα με πολλαπλούς, μικρούς κορμούς). Εάν το δέντρο γέρνει, τότε μετράτε τη στηθιαία διάμετρο κάθετα στον κορμό. Η στηθιαία διάμετρος μετράται με δύο τρόπους:

- 1) Χρησιμοποιώντας ένα παχύμετρο παίρνετε δύο κάθετες διαμέτρους και υπολογίζετε το μέσο όρο
- 2) Μετράτε την περίμετρο του δέντρου και υπολογίζετε τη διάμετρο με βάση αυτή τη μέτρηση (π.χ. διαιρώντας με το π~ 3,14)

Η στηθιαία διάμετρος αποτυπώνεται σε εκατοστά. Η ίδια μέθοδος ακολουθείται για κάθε ακόλουθη μέτρηση.

7.2.2 Κατανομή κλάσεων ύψους

7.2.2.1 Τυπικό και προχωρημένο επίπεδο

Το ύψος καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου στο σύνολο των 50 παρακολουθούμενων δέντρων κάθε δεκαετία. Το ύψος μετράται από το έδαφος στο υψηλότερο σημείο της κόμης, χρησιμοποιώντας κλισίμετρο ή υψόμετρο. Το ύψος αποτυπώνεται σε μέτρα και στρογγυλοποιείται στο πιο κοντινό ακέραιο ψηφίο. Εάν η κόμη είναι κατεστραμμένη αυτό θα πρέπει να καταγραφεί ως παρατήρηση.

7.2.3 Έκπτυξη οφθαλμών

Η έκπτυξη των οφθαλμών καταγράφεται ως παράμετρος μόνο στο τυπικό και στο προχωρημένο επίπεδο. Στην ποδισκοφόρο και την απόδισκη δρυ η έκπτυξη των οφθαλμών συμβαίνει ταυτόχρονα με την ανθοφορία (στην *Q. robur* δύο εβδομάδες νωρίτερα από την *Q. petraea*). Τα δεδομένα για αυτόν τον επαληθευτή συλλέγονται Απρίλιο και Μάιο στην κεντρική Ευρώπη έως τη στιγμή που όλα τα δέντρα που παρακολουθούνται έχουν αναπτύξει πλήρως τα φύλλα τους. Η έκπτυξη οφθαλμών συμβαίνει νωρίτερα μετά από έναν θερμό χειμώνα.

7.2.3.1 Τυπικό επίπεδο

Στο τυπικό επίπεδο η έκπτυξη των οφθαλμών καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου στο σύνολο των 50 παρακολουθούμενων δέντρων ανά πενταετία. Αναζητούμε την έναρξη της έκπτυξης των φύλλων (στάδιο 2) και την ολοκλήρωση της διαδικασίας (στάδιο 4). Οι παρατηρήσεις ολοκληρώνονται όταν όλα τα δέντρα έχουν φτάσει στο στάδιο 5. Συνήθως απαιτούνται έξι επισκέψεις στο πεδίο. Για κάθε δέντρο δίνονται δύο εκτιμήσεις: το στάδιο έκπτυξης οφθαλμών και η αναλογία έκπτυξης οφθαλμών στην κόμη. Για τη γραφική απεικόνιση των σταδίων έκπτυξης οφθαλμών, ανατρέξτε στην Εικόνα 9.

Κωδικός Στάδιο έκπτυξης οφθαλμών	
1	Οφθαλμοί εντελώς κλειστοί (δεν διακρίνεται καθόλου πράσινο)
2	Έναρξη έκπτυξης (διακρίνεται το πρώτο πράσινο των φύλλων)
3	Τυλιγμένα, πιληματώδη φύλλα εμφανίζονται, μεμονωμένα διπλωμένα και πιληματώδη φύλλα παρατηρούνται
4	Φύλλα πλήρως ελευθερωμένα, λεία και γυαλιστερά

Κωδικός Αναλογία κόμης σε κάθε στάδιο έκπτυξης οφθαλμών (%)	
1	> 0 – 33
2	> 33 – 66
3	> 66 – 99
4	100

7.2.3.2 Προχωρημένο επίπεδο

Σε αυτό το επίπεδο η έκπτυξη οφθαλμών αξιολογείται ετησίως, σε επίπεδο δέντρου και για τα 50 παρακολουθούμενα δέντρα, όπως στο τυπικό επίπεδο. Για λεπτομέρειες δείτε στην ενότητα 7.2.3.1 Τυπικό επίπεδο.



Εικόνα 9: Εικονογραφημένος οδηγός για την έκπτυξη οφθαλμών για την περιγραφή του επαληθευτή Έκπτυξη οφθαλμών στο τυπικό και προχωρημένο επίπεδο.

7.2.4 Φθινοπωρινός μαρασμός

Ο φθινοπωρινός μαρασμός περιγράφει την διαδικασία μαρασμού και πτώσης των φύλλων. Η καταγραφή αυτής της επιπλέον πληροφορίας γίνεται μόνο στο τυπικό και το προχωρημένο επίπεδο.

7.2.4.1 Τυπικό επίπεδο

Στο τυπικό επίπεδο, ο φθινοπωρινός μαρασμός καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου σε κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα άτομα, ανά πενταετία. Αναζητούμε το στάδιο 3, όπου τα φύλλα είναι κίτρινα και δεν φωτοσυνθέτουν πλέον. Οι παρατηρήσεις ολοκληρώνονται όταν όλα τα δέντρα έχουν φτάσει στο στάδιο 3. Συνήθως απαιτούνται δύο (2) επισκέψεις στο πεδίο. Για κάθε άτομο σημειώνονται 2 μετρήσεις: το στάδιο μαρασμού και η αναλογία της κόμης σε μαρασμό.

Κωδικός	Στάδιο μαρασμού
1	Φύλλα πράσινα
2	Φύλλα πρασινωπά, προς το κίτρινο (ωχροπράσινα)
3	Φύλλα κίτρινα προς το καφετί (καφεκίτρινα)
4	Φύλλα καφέ/ απόπτωση

Κωδικός	Αναλογία κόμης σε κάθε στάδιο μαρασμού (%)
1	> 0 – 33
2	> 33 – 66
3	> 66 – 99
4	100

7.2.4.2 Προχωρημένο επίπεδο

Ο φθινοπωρινός μαρασμός καταγράφεται σε επίπεδο δέντρου, ετησίως για κάθε ένα από τα 50 παρακολουθούμενα δέντρα, όπως στο τυπικό επίπεδο. Για λεπτομέρειες δείτε την ενότητα 7.2.4.1 Τυπικό επίπεδο.

Για την εγκατάσταση επιφάνειας χρησιμοποιήστε το Έντυπο Υπόδειγμα «Περιγραφή επιφάνειας ΓΠΔ»

Για την καταγραφή των επαληθευτών χρησιμοποιήστε το Έντυπο Υπόδειγμα «Υπόδειγμα για την καταγραφή επαληθευτών στο πεδίο, εντός της επιφάνειας ΓΠΔ»

Για τις απαιτούμενες επιπλέον πληροφορίες χρησιμοποιήστε το Έντυπο Υπόδειγμα «Υπόδειγμα για την καταγραφή επιπλέον πληροφοριών στο πεδίο, εντός της επιφάνειας ΓΠΔ»

8 Βιβλιογραφία

1. Breznikar A (1997) Morfološka in fenološka variabilnost doba (*Quercus robur* L.) in gradna (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) na robnih območjih njunih naravnih habitatov v severovzhodni Sloveniji/Morphological and phenological variability of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) and sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) at the edge of their natural habitats in northeastern Slovenia. Master Thesis, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana. http://eprints.gozdis.si/800/1/Breznikar,Horvat-Marlot_1998.pdf. Accessed 10 September 2020
2. Brus R. (2005) Dendrologija za gozdarje/Dendrology for foresters. Biotehniška fakulteta, University of Ljubljana, Ljubljana
3. Ballian D, Memišević-Hodžić M (2016) Varijabilnost hrasta lužnjaka (*Quercus robur* L.) u Bosni i Hercegovini/Variability of the pedunculate oak (*Quercus robur* L.) in Bosnia and Herzegovina. *Silva Slovenica – Slovenian Forestry Institute*, Ljubljana
4. Eriksson G (2015) *Quercus petraea* and *Quercus robur* - Recent Genetic Research. *Silva Slovenica - Slovenian Forestry Institute*, Ljubljana
5. Ducouso A, Bordacs S (2004) EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for pedunculate and sessile oaks (*Quercus robur* and *Q. petraea*). International Plant Genetic Resources Institute, Rome
6. Ducouso A, Michaud H, Lumaret R (1993) Reproduction and gene flow in the genus *Quercus* L. *Ann Sci For* 50(1):91 – 106. <https://doi.org/10.1051/forest:19930708>
7. Eaton E, Caudullo G, Oliveira S, de Rigo D (2016) *Quercus robur* and *Quercus petraea* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. In: San-Miguel-Ayanz J, de Rigo D, Caudullo G, Houston Durrant T, Mauri A (eds.) *European Atlas of Forest Tree Species*. Publ. Off. EU, Luxembourg, pp e01c6df+. https://ies-ows.jrc.ec.europa.eu/efdac/download/Atlas/pdf/Quercus_robur_petraea.pdf. Accessed 15 October 2020
8. Kraigher H (2001) Semenarski praktikum. Skripta za strokovni seminar o gozdnem semenarstvu in predmet podiplomskega študija fiziologija gozdnega drevja/Seed technology practicum. A script for seminar on seed technology in forestry and for the course in postgraduate studies program on physiology of forest tree species. Slovenian Forestry Institute. Ljubljana
9. Kraigher H, Bogovič M, Westergren M (2010) Tehnične smernice za ohranjanje in rabo genskih virov : hrasti = *Quercus* spp. : Slovenija/Technical guidelines for conservation and use of forest genetic resources: Oak = *Quercus* spp.: Slovenia. *Gozdarski vestnik* 68(3):167-174

Για την επιστημονική ονομασία των ειδών που εξετάζονται ή αναφέρονται στο παρόν έγγραφο, ακολουθείται η τρέχουσα (Δεκέμβριος 2020), κοινώς αποδεκτή ονοματολογία όπως αναφέρεται στις παρακάτω πηγές:

- a. CABI (2020) *Invasive Species Compendium*. CAB International, Wallingford, UK. www.cabi.org/isc. Accessed 15 December 2020
- b. EPPO (2020) EPPO Global Database (available online). <https://gd.eppo.int>. Accessed 15 December 2020
- c. GBIF (2020) *Global Biodiversity Information Facility*. <https://www.gbif.org> Accessed 15 December 2020
- d. IPNI (2020) International Plant Names Index. The Royal Botanic Gardens, Kew, Harvard University Herbaria & Libraries & Australian National Botanic Gardens. <http://www.ipni.org>, Accessed 10 December 2020
- e. National Center for Biotechnology Information (NCBI) (1998) National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information, Bethesda (MD). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Accessed 15 December 2020
- f. Stevens PF (2001) Angiosperm Phylogeny Website, Version 14. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Accessed 15 December 2020
- g. The Plant List (2013) Version 1.1. <http://www.theplantlist.org/>. Accessed 12 December 2020
- h. Tropicos.org (2020) Missouri Botanical Garden. <http://www.tropicos.org>. Accessed 15 December 2020
- i. WFO (2020) World Flora Online. <http://www.worldfloraonline.org>. Accessed 15 Dec 2020





Οδηγός Εφαρμογής για τη Γενετική Παρακολούθηση Δασών

Κεφάλαιο 10

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Απόδοση στα ελληνικά

Νικόλαος ΤΟΥΡΒΑΣ, Φανή ΛΥΡΟΥ, Μαρίτα ΠΑΠΑΓΙΑΝΝΗ, Παύλος ΧΑΣΙΛΙΔΗΣ,
Φίλιππος Α. ΑΡΑΒΑΝΟΠΟΥΛΟΣ

10.1 Περιγραφή ονομασίας - χαρακτηρισμού και χαρτών των περιοχών παρακολούθησης

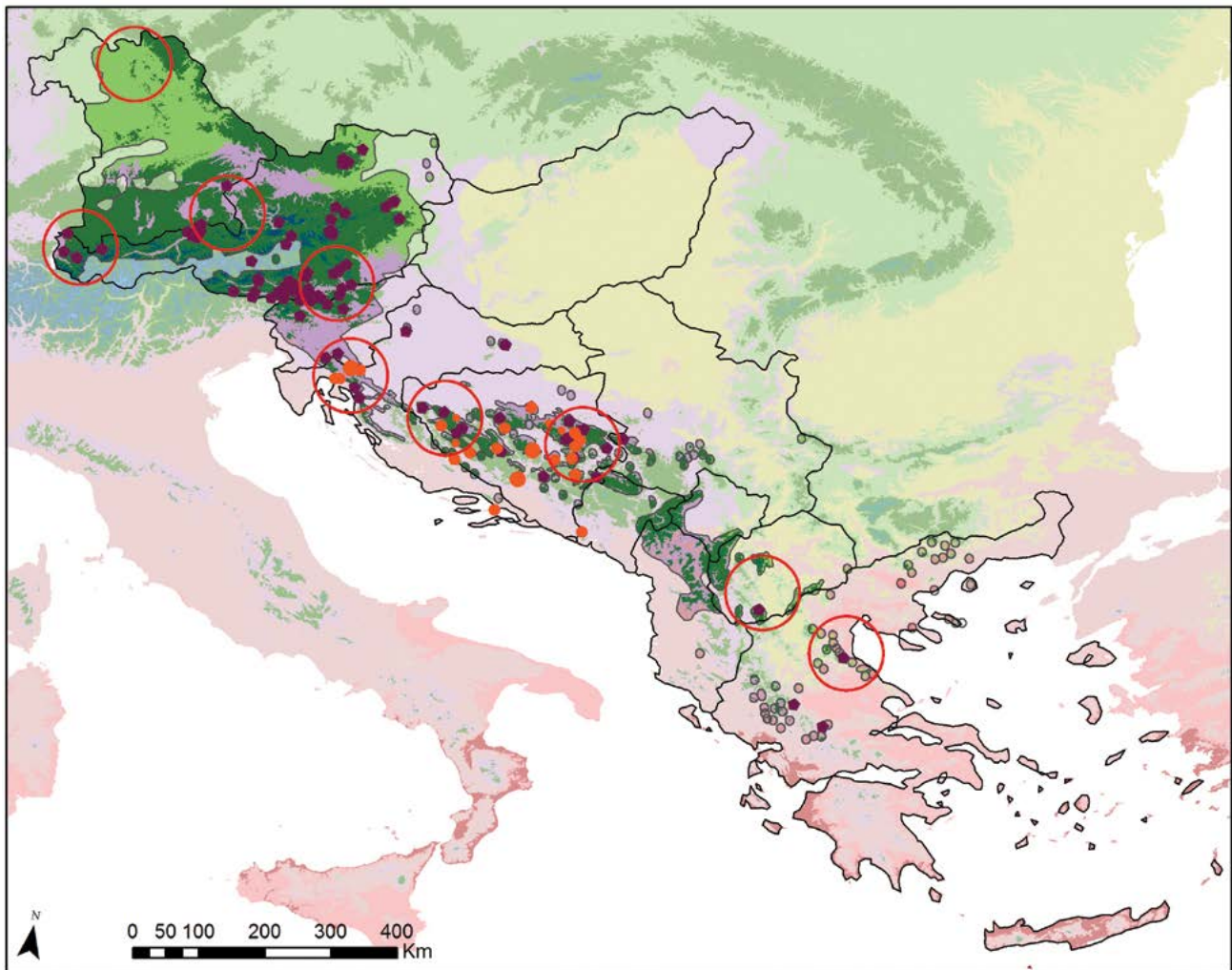
Κατά την εφαρμογή της διαδικασίας της γενετικής παρακολούθησης δασών (ΓΠΔ), ο προσδιορισμός των περιοχών ΓΠΔ αποτελεί προτεραιότητα. Στο έργο LIFE GENMON, η οριοθέτηση των περιοχών ΓΠΔ πραγματοποιήθηκε με τη χρήση μιας συνδυαστικής προσέγγισης βασισμένης σε δεδομένα και απόψεις ειδικών εμπειρογνομόνων, κατά μήκος μίας ευρείας περιοχής, η οποία διατέμνει την έκταση (από ΒΔ προς ΝΑ) που εκτείνεται από την Βαυαρία μέχρι την Ελλάδα.

Η προσέγγιση, αυτή, βασίζεται στην αντιπροσωπευτική κάλυψη περιβαλλοντικών ζωνών, στην κάλυψη χαρακτηριστικών τοπικών ποικιλιών ή οικοτύπων, περιλαμβανομένων οριακών και περιφερειακών πληθυσμών, στην παρουσία ήδη οριοθετημένων μονάδων προστασίας γενετικών πόρων, στα επίπεδα υφιστάμενης γενετικής ποικιλότητας (εάν είναι γνωστό), στην κάλυψη της γενετικής δομής και των διαδρομών επανεποικισμού, στα σχετικά αποτελέσματα των δοκιμών προέλευσης (εάν και εφόσον υπάρχουν) και στις γνώσεις ειδικών εμπειρογνομόνων.

Χρησιμοποιήθηκαν επτά κυρίαρχα είδη που παρουσιάζουν αντιδιαμετρικές διαφορές στη βιολογία, στην οικολογία και στις ιδιότητες εξάπλωσης και συγκεκριμένα τα: σύμπλεγμα των *Abies alba* / *A. borisii-regis*, *Fagus sylvatica*, *Fraxinus excelsior*, *Pinus nigra*, *Populus nigra*, *Prunus avium* και σύμπλεγμα *Quercus robur* / *Q. petraea*. Αναγνωρίστηκαν έξι έως εννέα περιοχές παρακολούθησης ανά είδος / σύμπλεγμα ειδών, οι οποίες παρουσιάζονται παρακάτω.

Οι περιοχές παρακολούθησης όπως ορίζονται στο έργο LIFE GENMON ισχύουν για τις περιοχές που εκτείνονται από τη Βαυαρία προς την Ελλάδα. Εάν η αξιολόγηση αφορούσε μια ευρύτερη περιοχή πανευρωπαϊκής διάστασης, η οριοθέτηση των παραπάνω περιοχών γενετικής παρακολούθησης ενδεχομένως να ήταν διαφορετική.

Περιοχές γενετικής παρακολούθησης για την ελάτη (*Abies alba* Mill./ *Abies borisii-regis* Mafft.)



Υπόμνημα

Παγκόσμιες Περιβαλλοντικές Ζώνες

- B. Αρκτική
- C. Εξαιρετικά ψυχρή και υγρή
- D. Εξαιρετικά ψυχρή και υγρή
- E. Ψυχρή και υγρή
- F. Εξαιρετικά ψυχρή με μέτρια υγρασία
- G. Ψυχρή με μέτρια υγρασία
- H. Ψυχρή εύκρατη και ξηρή
- J. Ψυχρή, εύκρατη και υγρή
- I. Ψυχρή, εύκρατη και ξηρική
- K. Θερμή, εύκρατη με μέτρια υγρασία
- L. Θερμή, εύκρατη και ξηρική
- N. Εξαιρετικά θερμή και ξηρή

○ Περιοχή γενετικής παρακολούθησης

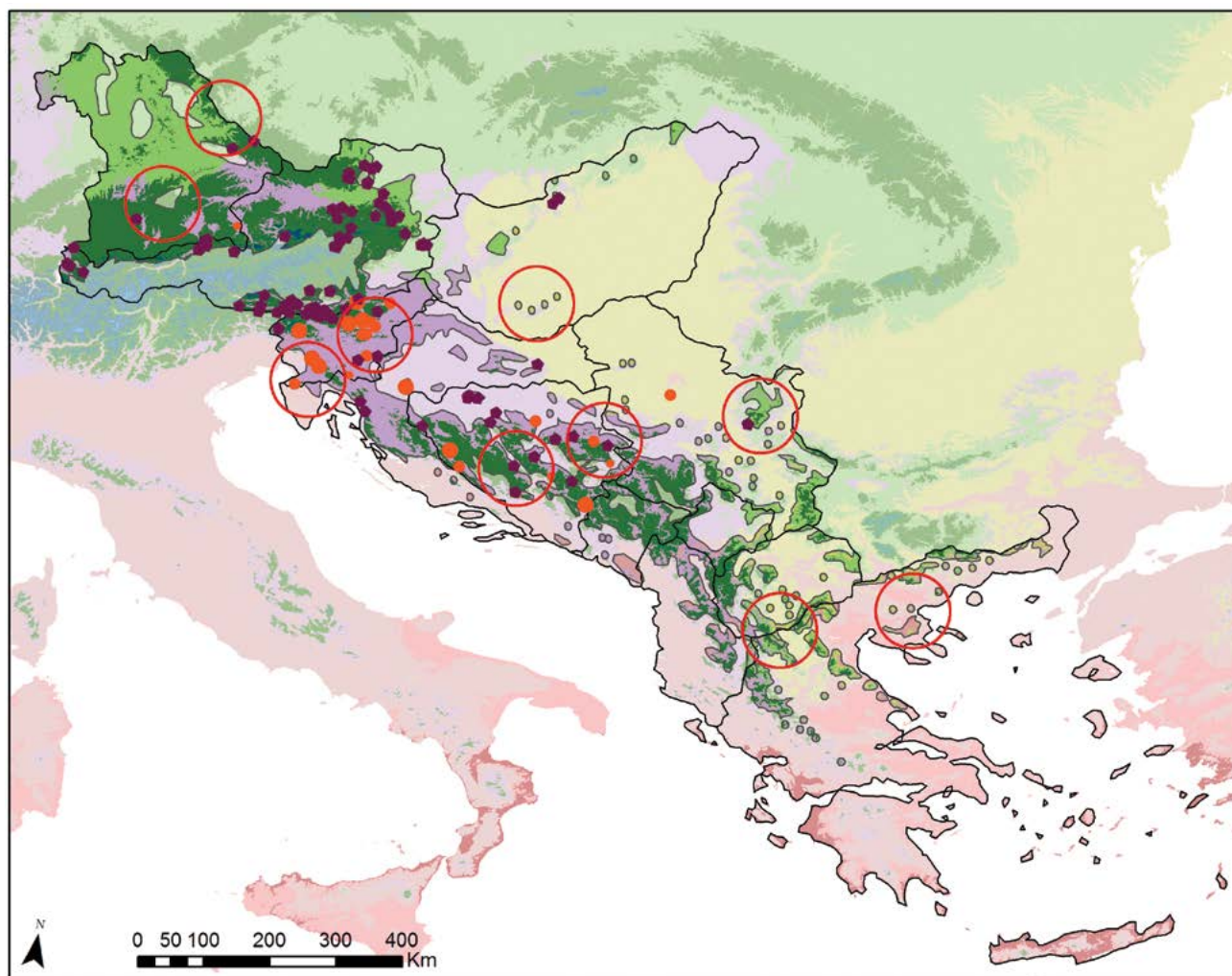
◆ EUFGIS ΜΠΓΠ

He (ισοένζυμα)

- 0.12 - 0.14
- 0.14 - 0.16
- 0.16 - 0.18

Ο χάρτης σχεδιάστηκε στο πλαίσιο του έργου LIFEGENMON για την παρουσίαση των περιοχών γενετικής παρακολούθησης στη διατείνουσα περιοχή από τη Βαυαρία έως την Ελλάδα. Τα δεδομένα προέρχονται από: τις παγκόσμιες περιβαλλοντικές ζώνες (κατά Metzger et al. 2012, Global Ecol. Biogeogr), το εύρος κατανομής ειδών (www.euforgen.org), τις κατά EUFGIS Μονάδες Προστασίας Γενετικών Πόρων (EUFORGEN, έργο EUFGIS και Εθνικά Εστιακά Σημεία) και γενετικά δεδομένα (δημοσιευμένες επιστημονικές μελέτες οι οποίες είναι διαθέσιμες από το έργο LIFEGENMON κατόπιν αιτήματος). Αν και η Αλβανία αποτελεί τμήμα της περιοχής μελέτης του έργου, δεν συμπεριλήφθηκε στη διαδικασία σχεδιασμού περιοχών παρακολούθησης λόγω έλλειψης δεδομένων.

Περιοχές γενετικής παρακολούθησης για την οξιά (*Fagus sylvatica*)



Υπόμνημα

Παγκόσμιες Περιβαλλοντικές Ζώνες

- B. Αρκτική
- C. Εξαιρετικά ψυχρή και υγρή
- D. Εξαιρετικά ψυχρή και υγρή
- E. Ψυχρή και υγρή
- F. Εξαιρετικά ψυχρή με μέτρια υγρασία
- G. Ψυχρή με μέτρια υγρασία
- H. Ψυχρή εύκρατη και ξηρή
- J. Ψυχρή, εύκρατη και υγρή
- I. Ψυχρή, εύκρατη και ξηρική
- K. Θερμή, εύκρατη με μέτρια υγρασία
- L. Θερμή, εύκρατη και ξηρική
- N. Εξαιρετικά θερμή και ξηρή

○ Περιοχή γενετικής παρακολούθησης

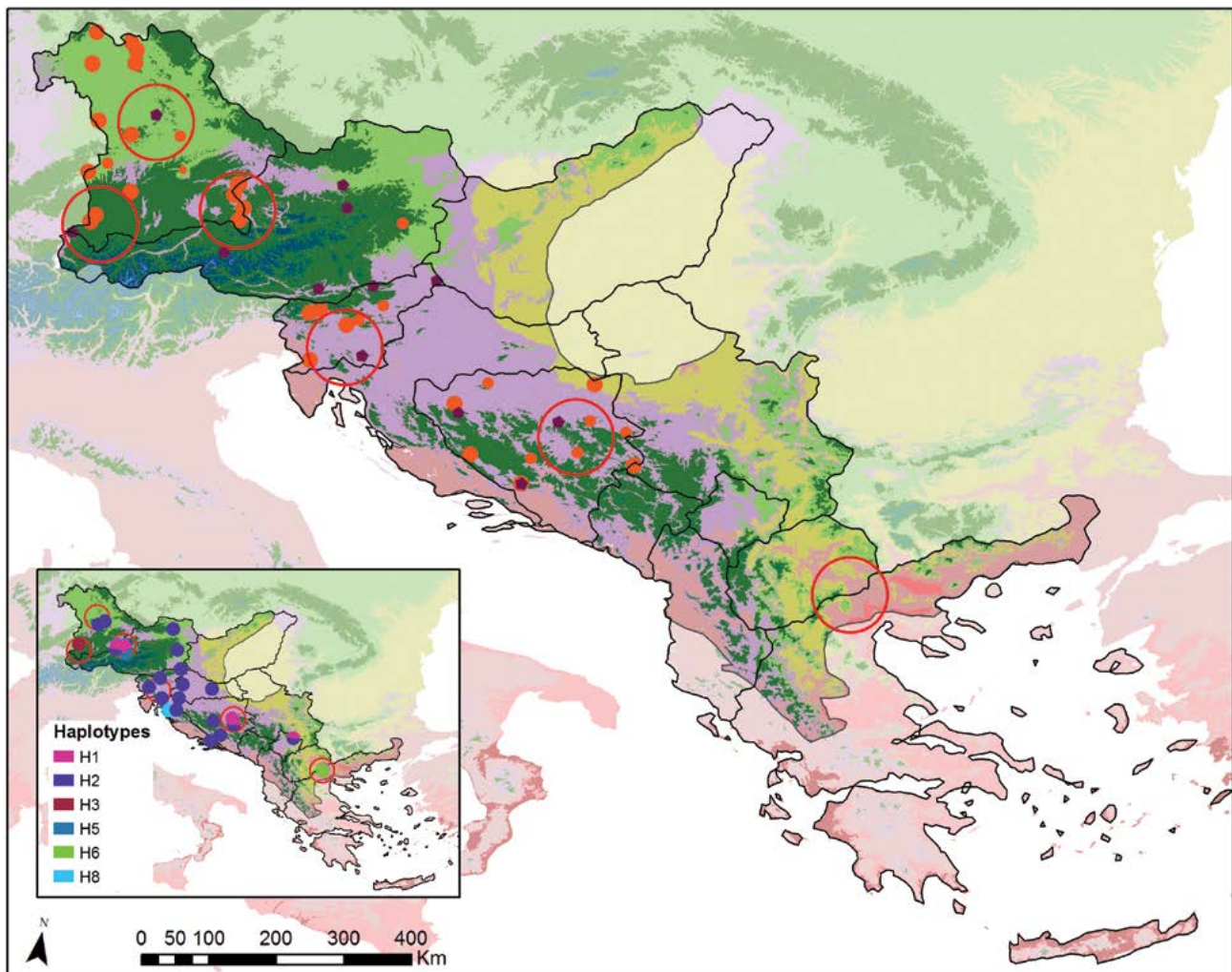
● EUFGIS ΜΠΓΠ

He (ισοένζυμα)

- 0.21 - 0.23
- 0.23 - 0.25
- 0.25 - 0.28

Ο χάρτης σχεδιάστηκε στο πλαίσιο του έργου LIFEGENMON για την παρουσίαση των περιοχών γενετικής παρακολούθησης στη διατεταμένη περιοχή από τη Βαυαρία έως την Ελλάδα. Τα δεδομένα προέρχονται από: τις παγκόσμιες περιβαλλοντικές ζώνες (κατά Metzger et al. 2012, Global Ecol. Biogeogr), το εύρος κατανομής ειδών (www.euforgen.org), τις κατά EUFGIS Μονάδες Προστασίας Γενετικών Πόρων (EUFORGEN, έργο EUFGIS και Εθνικά Εστιάκα Σημεία) και γενετικά δεδομένα (δημοσιευμένες επιστημονικές μελέτες οι οποίες είναι διαθέσιμες από το έργο LIFEGENMON κατόπιν αιτήματος). Αν και η Αλβανία αποτελεί τμήμα της περιοχής μελέτης του έργου, δεν συμπεριλήφθηκε στη διαδικασία σχεδιασμού περιοχών παρακολούθησης λόγω έλλειψης δεδομένων.

Περιοχές γενετικής παρακολούθησης για τον φράξο (*Fraxinus excelsior*)



Υπόμνημα

Παγκόσμιες Περιβαλλοντικές Ζώνες

- B. Αρκτική
- C. Εξαιρετικά ψυχρή και υγρή
- D. Εξαιρετικά ψυχρή και υγρή
- E. Ψυχρή και υγρή
- F. Εξαιρετικά ψυχρή με μέτρια υγρασία
- G. Ψυχρή με μέτρια υγρασία
- H. Ψυχρή εύκρατη και ξηρή
- J. Ψυχρή, εύκρατη και υγρή
- I. Ψυχρή, εύκρατη και ξηρική
- K. Θερμή, εύκρατη με μέτρια υγρασία
- L. Θερμή, εύκρατη και ξηρική
- N. Εξαιρετικά θερμή και ξηρή

○ Περιοχή γενετικής παρακολούθησης

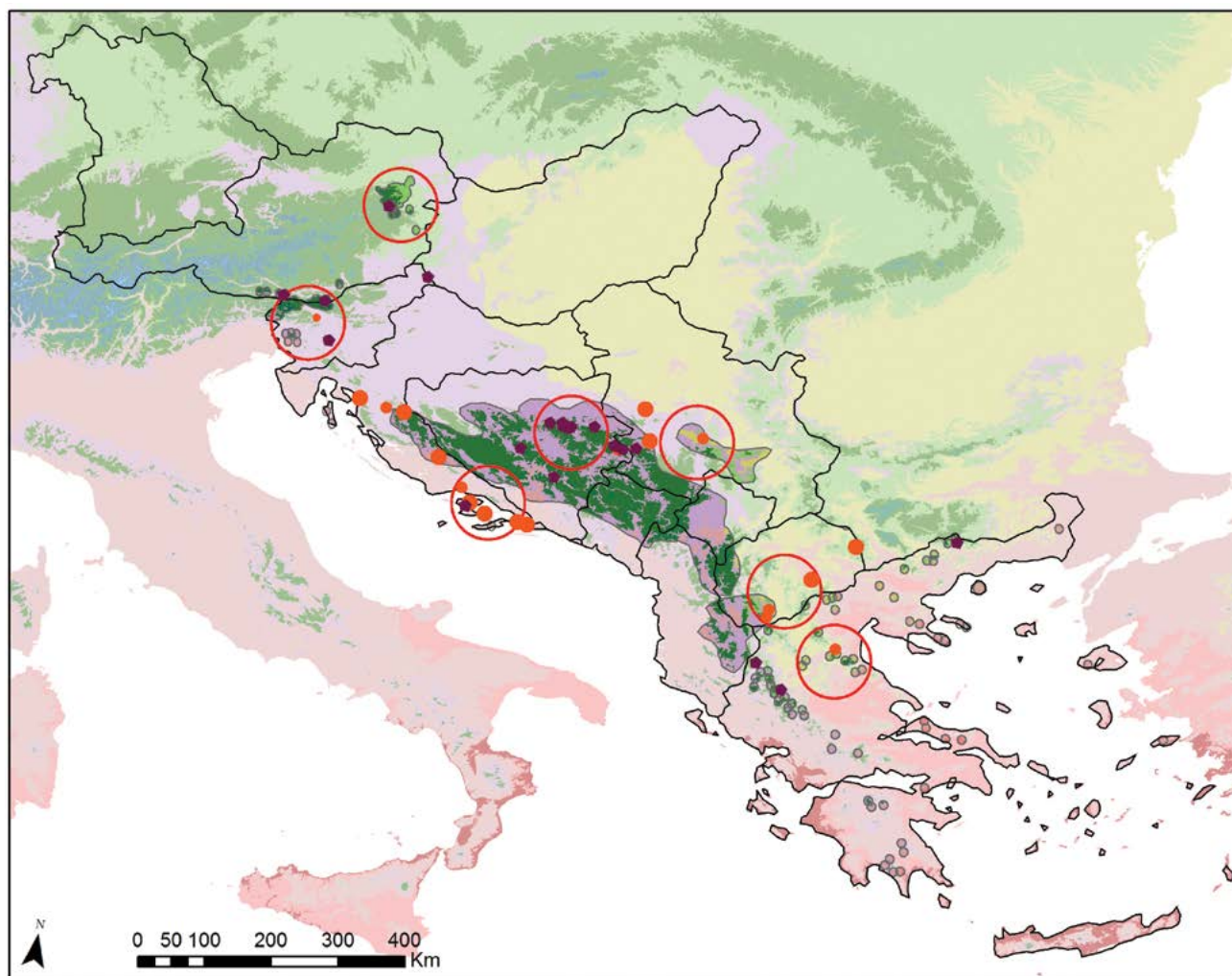
◆ EUFGIS ΜΠΓΠ

He (ισοένζυμα)

- 0.85 - 0.72
- 0.72 - 0.79
- 0.79 - 0.88

Ο χάρτης σχεδιάστηκε στο πλαίσιο του έργου LIFEGENMON για την παρουσίαση των περιοχών γενετικής παρακολούθησης στη διατεταμένη περιοχή από τη Βαυαρία έως την Ελλάδα. Τα δεδομένα προέρχονται από: τις παγκόσμιες περιβαλλοντικές ζώνες (κατά Metzger et al. 2012, Global Ecol. Biogeogr), το εύρος κατανομής ειδών (www.euforgen.org), τις κατά EUFGIS Μονάδες Προστασίας Γενετικών Πόρων (EUFORGEN, έργο EUFGIS και Εθνικά Εστιακά Σημεία) και γενετικά δεδομένα (δημοσιευμένες επιστημονικές μελέτες οι οποίες είναι διαθέσιμες από το έργο LIFEGENMON κατόπιν αιτήματος). Αν και η Αλβανία αποτελεί τμήμα της περιοχής μελέτης του έργου, δεν συμπεριλήφθηκε στη διαδικασία σχεδιασμού περιοχών παρακολούθησης λόγω έλλειψης δεδομένων.

Περιοχές γενετικής παρακολούθησης για τη μαύρη πεύκη (*Pinus nigra*)



Υπόμνημα

Παγκόσμιες Περιβαλλοντικές Ζώνες

- B. Αρκτική
- C. Εξαιρετικά ψυχρή και υγρή
- D. Εξαιρετικά ψυχρή και υγρή
- E. Ψυχρή και υγρή
- F. Εξαιρετικά ψυχρή με μέτρια υγρασία
- G. Ψυχρή με μέτρια υγρασία
- H. Ψυχρή εύκρατη και ξηρή
- J. Ψυχρή, εύκρατη και υγρή
- I. Ψυχρή, εύκρατη και ξηρική
- K. Θερμή, εύκρατη με μέτρια υγρασία
- L. Θερμή, εύκρατη και ξηρική
- N. Εξαιρετικά θερμή και ξηρή

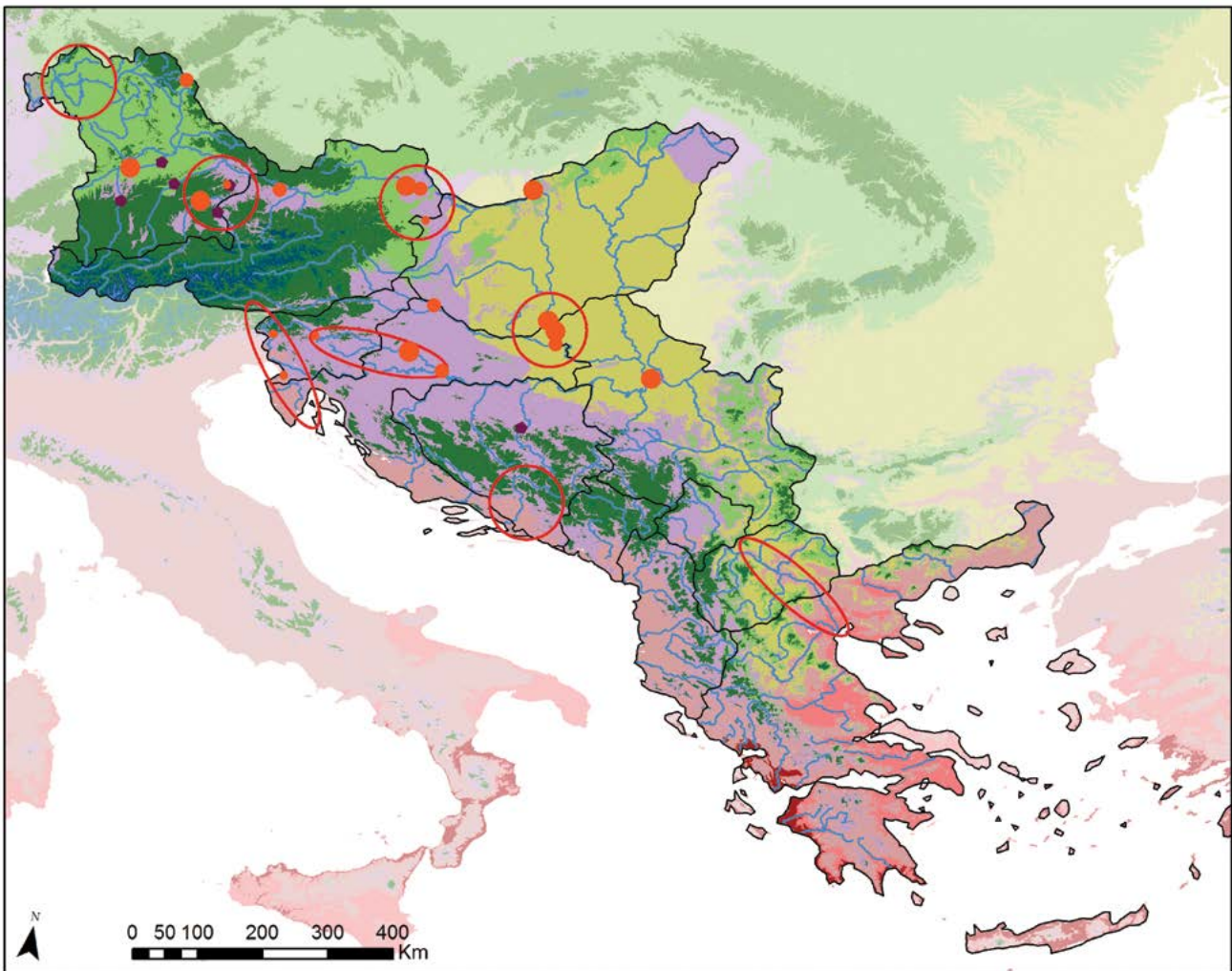
- Περιοχή γενετικής παρακολούθησης
- ◆ EUFGIS ΜΠΓΠ

He (ισοένζυμα)

- 0.00 - 0.12
- 0.12 - 0.24
- 0.24 - 0.36

Ο χάρτης σχεδιάστηκε στο πλαίσιο του έργου LIFEGENMON για την παρουσίαση των περιοχών γενετικής παρακολούθησης στη διατείνουσα περιοχή από τη Βαυαρία έως την Ελλάδα. Τα δεδομένα προέρχονται από: τις παγκόσμιες περιβαλλοντικές ζώνες (κατά Metzger et al. 2012, Global Ecol. Biogeogr), το εύρος κατανομής ειδών (www.euforgen.org), τις κατά EUFGIS Μονάδες Προστασίας Γενετικών Πόρων (EUFORGEN, έργο EUFGIS και Εθνικά Εστιακά Σημεία) και γενετικά δεδομένα (δημοσιευμένες επιστημονικές μελέτες οι οποίες είναι διαθέσιμες από το έργο LIFEGENMON κατόπιν αιτήματος). Αν και η Αλβανία αποτελεί τμήμα της περιοχής μελέτης του έργου, δεν συμπεριλήφθηκε στη διαδικασία σχεδιασμού περιοχών παρακολούθησης λόγω έλλειψης δεδομένων.

Περιοχές γενετικής παρακολούθησης για την μαύρη λεύκη (*Populus nigra*)



Υπόμνημα

Παγκόσμιες Περιβαλλοντικές Ζώνες

- B. Αρκτική
- C. Εξαιρετικά ψυχρή και υγρή
- D. Εξαιρετικά ψυχρή και υγρή
- E. Ψυχρή και υγρή
- F. Εξαιρετικά ψυχρή με μέτρια υγρασία
- G. Ψυχρή με μέτρια υγρασία
- H. Ψυχρή εύκρατη και ξηρή
- J. Ψυχρή, εύκρατη και υγρή
- I. Ψυχρή, εύκρατη και ξηρική
- K. Θερμή, εύκρατη με μέτρια υγρασία
- L. Θερμή, εύκρατη και ξηρική
- N. Εξαιρετικά θερμή και ξηρή

○ Περιοχή γενετικής παρακολούθησης

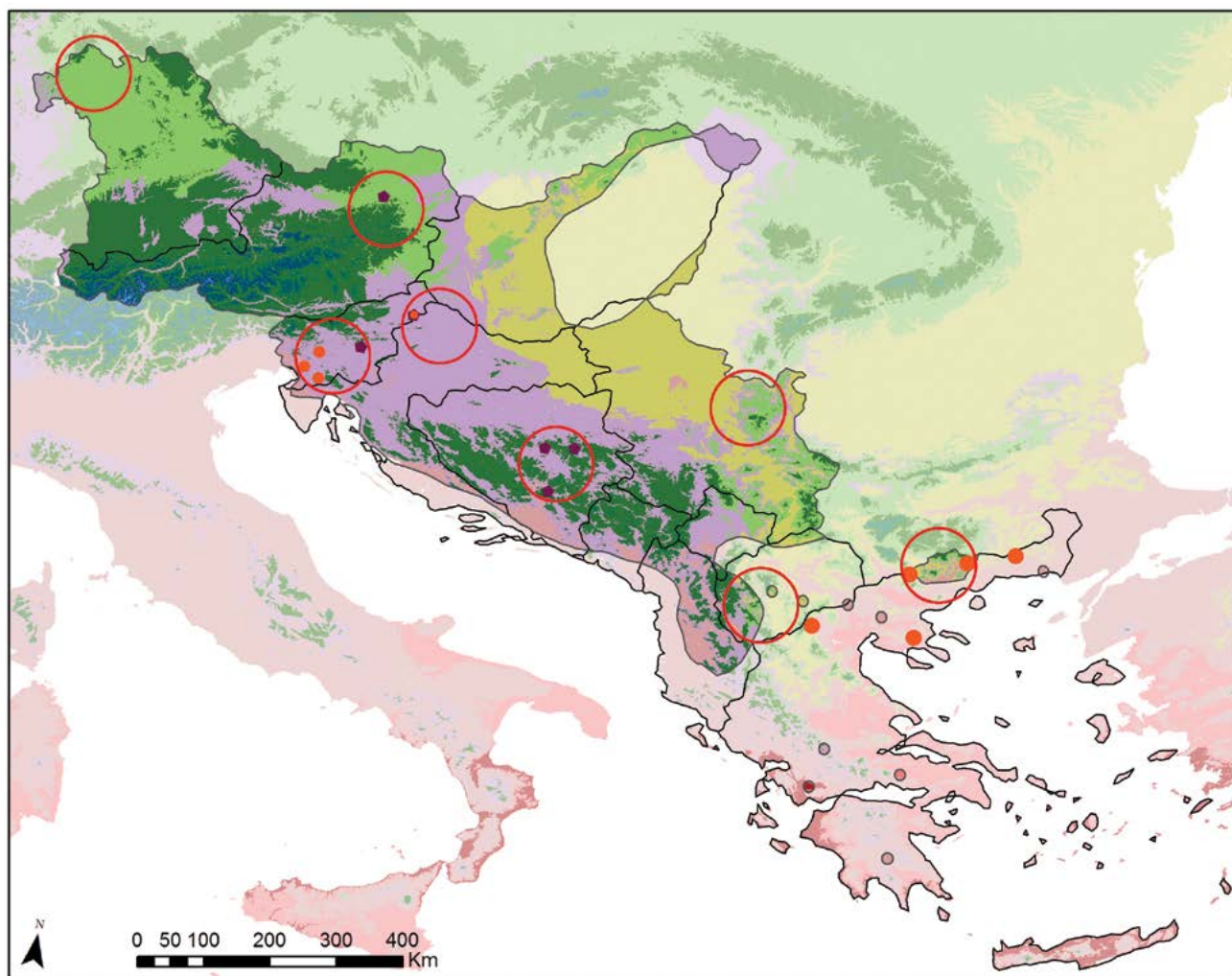
◆ EUFGIS ΜΠΓΠ

He (ισοένζυμα)

- 0.74 - 0.77
- 0.77 - 0.80
- 0.80 - 0.83

Ο χάρτης σχεδιάστηκε στο πλαίσιο του έργου LIFEGENMON για την παρουσίαση των περιοχών γενετικής παρακολούθησης στη διατείνουσα περιοχή από τη Βαυαρία έως την Ελλάδα. Τα δεδομένα προέρχονται από: τις παγκόσμιες περιβαλλοντικές ζώνες (κατά Metzger et al. 2012, Global Ecol. Biogeogr), το εύρος κατανομής ειδών (www.euforgen.org), τις κατά EUFGIS Μονάδες Προστασίας Γενετικών Πόρων (EUFORGEN, έργο EUFGIS και Εθνικά Εστιακά Σημεία) και γενετικά δεδομένα (δημοσιευμένες επιστημονικές μελέτες οι οποίες είναι διαθέσιμες από το έργο LIFEGENMON κατόπιν αιτήματος). Αν και η Αλβανία αποτελεί τμήμα της περιοχής μελέτης του έργου, δεν συμπεριλήφθηκε στη διαδικασία σχεδιασμού περιοχών παρακολούθησης λόγω έλλειψης δεδομένων.

Περιοχές γενετικής παρακολούθησης για την άγρια κερασιά (*Prunus avium*)



Υπόμνημα

Παγκόσμιες Περιβαλλοντικές Ζώνες

- B. Αρκτική
- C. Εξαιρετικά ψυχρή και υγρή
- D. Εξαιρετικά ψυχρή και υγρή
- E. Ψυχρή και υγρή
- F. Εξαιρετικά ψυχρή με μέτρια υγρασία
- G. Ψυχρή με μέτρια υγρασία
- H. Ψυχρή εύκρατη και ξηρή
- J. Ψυχρή, εύκρατη και υγρή
- I. Ψυχρή, εύκρατη και ξηρική
- K. Θερμή, εύκρατη με μέτρια υγρασία
- L. Θερμή, εύκρατη και ξηρική
- N. Εξαιρετικά θερμή και ξηρή

○ Περιοχή γενετικής παρακολούθησης

● EUFGIS ΜΠΓΠ

He (ισοένζυμα)

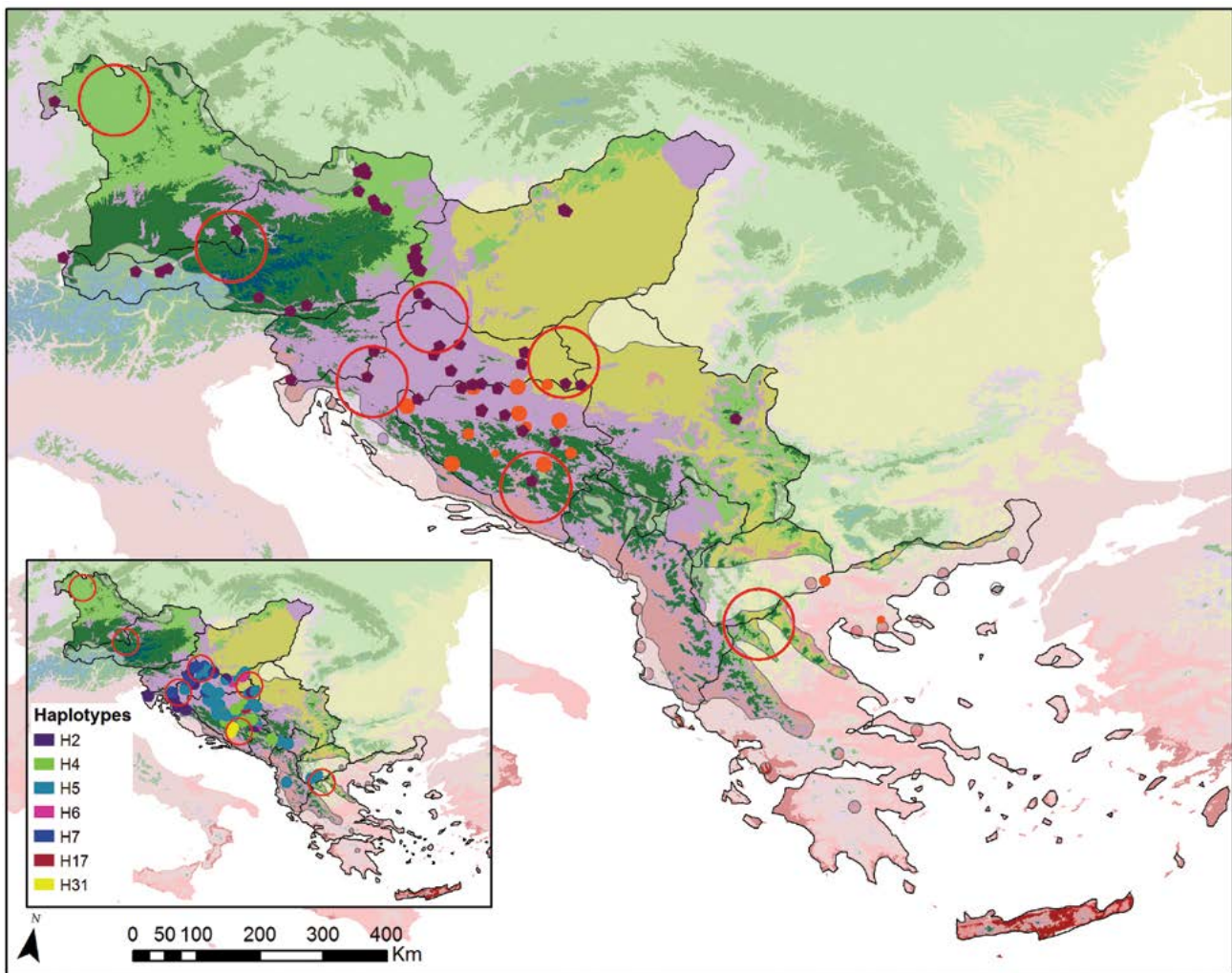
● 0.57 - 0.63

● 0.63 - 0.70

● 0.70 - 0.77

Ο χάρτης σχεδιάστηκε στο πλαίσιο του έργου LIFEGENMON για την παρουσίαση των περιοχών γενετικής παρακολούθησης στη διατείνουσα περιοχή από τη Βαυαρία έως την Ελλάδα. Τα δεδομένα προέρχονται από: τις παγκόσμιες περιβαλλοντικές ζώνες (κατά Metzger et al. 2012, Global Ecol. Biogeogr), το εύρος κατανομής ειδών (www.euforgen.org), τις κατά EUFGIS Μονάδες Προστασίας Γενετικών Πόρων (EUFORGEN, έργο EUFGIS και Εθνικά Εστιακά Σημεία) και γενετικά δεδομένα (δημοσιευμένες επιστημονικές μελέτες οι οποίες είναι διαθέσιμες από το έργο LIFEGENMON κατόπιν αιτήματος). Αν και η Αλβανία αποτελεί τμήμα της περιοχής μελέτης του έργου, δεν συμπεριλήφθηκε στη διαδικασία σχεδιασμού περιοχών παρακολούθησης λόγω έλλειψης δεδομένων.

Περιοχές γενετικής παρακολούθησης για τις δρύες (*Quercus robur*, *Quercus petraea*)



Υπόμνημα

Παγκόσμιες Περιβαλλοντικές Ζώνες

- B. Αρκτική
- C. Εξαιρετικά ψυχρή και υγρή
- D. Εξαιρετικά ψυχρή και υγρή
- E. Ψυχρή και υγρή
- F. Εξαιρετικά ψυχρή με μέτρια υγρασία
- G. Ψυχρή με μέτρια υγρασία
- H. Ψυχρή εύκρατη και ξηρή
- J. Ψυχρή, εύκρατη και υγρή
- I. Ψυχρή, εύκρατη και ξηρική
- K. Θερμή, εύκρατη με μέτρια υγρασία
- L. Θερμή, εύκρατη και ξηρική
- N. Εξαιρετικά θερμή και ξηρή

○ Περιοχή γενετικής παρακολούθησης

◆ EUFGIS ΜΠΓΠ

He (ισοένζυμα)

- 0.78 - 0.82
- 0.82 - 0.85
- 0.85 - 0.89

Ο χάρτης σχεδιάστηκε στο πλαίσιο του έργου LIFEGENMON για την παρουσίαση των περιοχών γενετικής παρακολούθησης στη διατεταμένη περιοχή από τη Βαυαρία έως την Ελλάδα. Τα δεδομένα προέρχονται από: τις παγκόσμιες περιβαλλοντικές ζώνες (κατά Metzger et al. 2012, Global Ecol. Biogeogr), το εύρος κατανομής ειδών (www.euforgen.org), τις κατά EUFGIS Μονάδες Προστασίας Γενετικών Πόρων (EUFORGEN, έργο EUFGIS και Εθνικά Εστιακά Σημεία) και γενετικά δεδομένα (δημοσιευμένες επιστημονικές μελέτες οι οποίες είναι διαθέσιμες από το έργο LIFEGENMON κατόπιν αιτήματος). Αν και η Αλβανία αποτελεί τμήμα της περιοχής μελέτης του έργου, δεν συμπεριλήφθηκε στη διαδικασία σχεδιασμού περιοχών παρακολούθησης λόγω έλλειψης δεδομένων.

ΕΠΙΠΡΟΣΘΕΤΟΙ ΠΑΡΟΧΟΙ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Vlatko ANDONOVSKI¹, Ευαγγελία Β. ΑΒΡΑΜΙΔΟΥ^{2,3}, Roland BAIER⁴, Sandor BORDAC⁵,
Andrej BREZNIKAR⁶, Ιωάννης Β. ΓΑΝΟΠΟΥΛΟΣ², Mladen IVANKOVIĆ⁷,
Davorin KAJBA⁸, Heino KONRAD⁹, Ερμιόνη ΜΑΛΛΙΑΡΟΥ², Saša ORLOVIĆ¹⁰,
Srđan STOJNIĆ¹⁰

Φορείς:

1. Τμήμα Δασολογίας, Σς. Πανεπιστήμιο Κύριλου και Μεθόδιου Σκοπίων, Βόρεια Μακεδονία
2. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), Ελλάδα
3. Τρέχουσα διεύθυνση: Ινστιτούτο Μεσογειακών Δασικών Οικοσυστημάτων, ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ, Ελλάδα
4. Βαυαρικό Γραφείο Δασικής Γενετικής (AWG), Γερμανία
5. Πανεπιστήμιο Szent István, Βουδαπέστη, Ουγγαρία
6. Δασική Υπηρεσία Σλοβενίας (ZGS), Σλοβενία
7. Ινστιτούτο Δασικών Ερευνών της Κροατίας, Jastrebarsko, Κροατία
8. Τμήμα Δασολογίας, Πανεπιστημίου του Ζάγκρεμπ, Κροατία
9. Ομοσπονδιακό Κέντρο έρευνας και Κατάρτισης για τα Δάση, τους Φυσικού Κινδύνους και το Τοπία (BFW), Αυστρία
10. Ινστιτούτο Δασών κα Περιβάλλοντος Πεδινών Πειροχών (ILFE), Novi Sad, Σερβία

10.2 Έντυπα υποδείγματα παρατηρήσεων πεδίου

10.2.1 Έντυπο υπόδειγμα περιγραφής επιφάνειας

10.2.2 Έντυπο υπόδειγμα καταγραφής επαληθευτών πεδίου

10.2.3 Έντυπο υπόδειγμα καταγραφής επιπλέον πληροφοριών

10.2.1 Έντυπο υπόδειγμα περιγραφής επιφάνειας

ΕΝΤΥΠΟ ΥΠΟΔΕΙΓΜΑ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗΣ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗΣ ΔΑΣΩΝ (ΓΠΔ)**ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑΣ**

Παρακολουθούμενα δασοπονικά είδη	Έκταση επιφάνειας	Ηλικία συστάδας (εύρος, από-έως)
	εκτάρια	έτη

Συντεταγμένες *

Γεωγραφικό πλάτος (N)	Γεωγραφικό μήκος (E)	Υψόμετρο (υπερθαλάσσιο ύψος, σε μέτρα)
° ' " N	° ' " E	m

Ιδιοκτησιακό καθεστώς	
Πληροφορίες σχετικά με τον ιδιοκτήτη (εμπιστευτικές πληροφορίες: αριθμός δασοτεμαχίων, αριθμός κτηματολογίου κτλ.)	
Δασική Υπηρεσία/ Περιφέρεια /Αποκεντρωμένη Διοίκηση	
Δασικό σύμπλεγμα	
Διαχειριστικό τμήμα	
Διαχειριστικό υποτμήμα	
Κωδικός επιφάνειας ΓΠΔ	

	Λατινική ονομασία είδους	Ποσοστό %
Παρακολουθούμενο δασοπονικό είδος και η αναλογία του εντός της συστάδας		
Άλλο μη παρακολουθούμενο είδος και η αναλογία του εντός της συστάδας		
Άλλο μη παρακολουθούμενο είδος και η αναλογία του εντός της συστάδας		
Άλλο μη παρακολουθούμενο είδος και η αναλογία του εντός της συστάδας		
Περιγραφή τόπου		
Μητρικό πέτρωμα		
Φυτοκοινωνική ένωση (κατά Braun-Blanquet)		
Τύπος εδάφους (κατά FAO, 1971-1981)**		

Περιεχόμενη υγρασία εδάφους (ξηρό/
μέτριας υγρασίας/υγρό)

Περιεκτικότητα σε θρεπτικά
συστατικά (πλούσιο/ενδιάμεσο/φτωχό)

Ταξινόμηση στο σύστημα τύπων
οικοτόπων

Διάρκεια ξηροθερμικής περιόδου -
Ομβροθερμικό διάγραμμα

Μέση ετήσια θερμοκρασία (C°)

Μέση ετήσια θερμοκρασία κατά τη
βλαστητική περίοδο (C°)

Μέση θερμοκρασία κατά το θερμότερο
μήνα (Ιούλιο) (C°)

Μέσο ύψος κατακρημνισμάτων κατά
τη βλαστητική περίοδο (χλστ.)

Κλιματικός δείκτης του Ellenberg (EQ)

ΣΤΟΧΟΙ ΔΑΣΙΚΗΣ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ:

1. Παραγωγή ξυλείας
2. Προστασία-Διατήρηση
βιοποικιλότητας
3. Αναψυχή/Αισθητική αξία
4. Διαχείριση πολλαπλών σκοπών
5. Άλλο- Διευκρινίστε

ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΤΙΚΗ / ΔΑΣΟΠΟΝΙΚΗ ΜΟΡΦΗ

1. Σπερμοφυής / Ομήλικη
2. Σπερμοφυής / Υποκηπευτή
3. Σπερμοφυής/ Κηπευτή
4. Πρεμνοφυής
5. Διφυής (υποκηπευτή)
6. Άλλο- Διευκρινίστε

ΚΑΘΕΣΤΩΣ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ:

1. Με βάση την Δασική Νομοθεσία
(ΚΑΖ - Εθνικοί δρυμοί - μνημεία
φύσης)
2. Περιοχή Βιογενετικού αποθέματος
3. Προστατευόμενη περιοχή (κατάταξη
Natura 2000 - Περ/κη νομοθεσία)
4. Άλλο- Διευκρινίστε

Εάν η περιοχή έχει τεθεί εκτός
δασικής διαχείρισης, προσδιορίστε
από πότε

* Οι συντεταγμένες αποτελούν εμπιστευτική πληροφορία που προορίζεται για τους σκοπούς του προγράμματος

** FAO/UNESCO (1971 1981) Παγκόσμιοι Εδαφολογικοί Χάρτες FAO-UNESCO.

ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΣΥΣΤΑΔΑΣ
Κατάσταση Υγείας συστάδας

Περιγράψτε τους λόγους κακής ή μέτριας υγειονομικής κατάστασης στις παρατηρήσεις

Καλή	Μέτρια	Κακή

Διαχειριζόμενο δάσος

	Ναι	Όχι
Διαχείριση		

**Ιστορικό συστάδας
(προέλευση)**

Εάν η συστάδα προέρχεται από φυτεύσεις, σημειώστε την προέλευση του μητρικού φυτευτικού υλικού (αν είναι γνωστή)

Φυσική αναγέννηση	Φυτεύσεις-αναδασώσεις

Προέλευση

Αυτοφυής	Μη αυτοφυής	Άγνωστο

Φυσική αναγέννηση

Σπάνια	Μέτρια	Συχνή

Δομή φυσικής αναγέννησης

Σε ομάδες	Ομοιόμορφα κατανομημένη

Απομόνωση

Απόσταση από την κοντινότερη του ίδιου είδους 1 λεπτό ή τουλάχιστον 400μ.

	Ναι	Όχι
Απομονωμένη		

Κατακερματισμός

Τα είδη έχουν διάσπαρτη κατανομή εντός της επιφάνειας ΓΠΔ (διακρίνονται κάποιες ομάδες)

	Ναι	Όχι
Κατακερματισμός		

Κάθετη δομή συστάδας

Ένας όροφος	Δύο όροφοι	Ακανόνιστη δομή

Οριζόντια δομή συστάδας

Διάκενα και βαθμός συγκόμωσης

Ομοιόμορφη	Ομοιόμορφη με διάκενα	Ανομοιόμορφη με διάκενα

**Απόσταση μεταξύ δέντρων/
ομάδων δέντρων**

Γενετικά δεδομένα

	Ναι	Όχι
Διαθέσιμα		

Έκθεση

B	BA	A	NA
N	NΔ	Δ	ΒΔ

Κλίση

< 5%	5-15%	15-40%

**Αρχείο προηγούμενων ετών για
ανθοφορία, καρποφορία (έτη
πληροκαρπίας) και συλλογή
σπερμάτων**

	Έτος	Ποσότητα σπερμάτων
Ανθοφορία		
Καρποφορία		
Συλλογή σπερμάτων		

Μορφή κόμης

Καλή	Μέτρια	Κακή

Γενική κατάσταση κορμού

Ευθυτένεια, διχάλωση κτλ.

Καλή	Μέτρια	Κακή

Προσβασιμότητα

Προσβασιμότητα για συλλογή σπερμάτων/ αναρρίχηση σε δέντρα

Καλή	Μέτρια	Κακή

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:

Ημερομηνία: _____ Όνομα / Επίθετο / Υπογραφή: _____

10.2.2 Έντυπο υπόδειγμα καταγραφής επαληθευτών πεδίου

Επιφάνεια:		Υπογραφή:
Δασοπονικό είδος:		
Ημερομηνία:		
Παρατηρητής:		

Επαληθευτής: Θνησιμότητα**Βασικό, Τυπικό, Προχωρημένο επίπεδο**

Παρακαλώ συμπληρώστε με ένα x.

Αριθμός Δέντρου	Ζωντανό	Νεκρό	Αριθμός Δέντρου	Ζωντανό	Νεκρό	Αριθμός Δέντρου	Ζωντανό	Νεκρό	Αριθμός Δέντρου	Ζωντανό	Νεκρό	Αριθμός Δέντρου	Ζωντανό	Νεκρό
1			11			21			31			41		
2			12			22			32			42		
3			13			23			33			43		
4			14			24			34			44		
5			15			25			35			45		
6			16			26			36			46		
7			17			27			37			47		
8			18			28			38			48		
9			19			29			39			49		
10			20			30			40			50		

Σημειώσεις:

Επιφάνεια:		Υπογραφή:
Δασοπονικό είδος:		
Ημερομηνία:		
Παρατηρητής:		

Επαληθευτής: Ανθοφορία

Βασικό επίπεδο

Παρακαλώ κυκλώστε τον σχετικό κωδικό

Ένταση ανθοφορίας στη συστάδα	
Κωδικός	Ποσοστό ανθοφορίας σε ένα τυπικό δέντρο
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

Ποσοστό δέντρων στη συστάδα τα οποία βρίσκονται στο συγκεκριμένο στάδιο ανθοφορίας	
Κωδικός	% δέντρων
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

Τυπικό επίπεδο

Παρακαλώ συμπληρώστε τον κωδικό. Συμβουλευτείτε τις κατευθυντήριες οδηγίες σχετικά με τις τιμές που λαμβάνει ο κωδικός.

Ποσοστό άνθισης στην κόμη ανά δέντρο

Αριθμός Δέντρου	Κωδικός	Αριθμός Δέντρου	Κωδικός	Αριθμός Δέντρου	Κωδικός	Αριθμός Δέντρου	Κωδικός	Αριθμός Δέντρου	Κωδικός
1		11		21		31		41	
2		12		22		32		42	
3		13		23		33		43	
4		14		24		34		44	
5		15		25		35		45	
6		16		26		36		46	
7		17		27		37		47	
8		18		28		38		48	
9		19		29		39		49	
10		20		30		40		50	

Επιφάνεια:		Υπογραφή:
Δασοπονικό είδος:		
Ημερομηνία:		
Παρατηρητής:		

Προχωρημένο επίπεδο

Παρακαλώ συμπληρώστε τον κωδικό. Συμβουλευτείτε τις Κατευθυντήριες Οδηγίες σχετικά με τις τιμές που λαμβάνει ο κωδικός.

Στάδιο θηλυκής και αρσενικής ανθοφορίας και ποσοστό κόμης σε ανθοφορία (αρσενικής και θηλυκής συνδυαστικά) ανά δέντρο

Αριθμός Δέντρου	Κωδικός θηλυκής ανθοφορίας	Κωδικός αρσενικής ανθοφορίας	Κωδικός για % κόμης σε ανθοφορία	Αριθμός Δέντρου	Κωδικός θηλυκής ανθοφορίας	Κωδικός αρσενικής ανθοφορίας	Κωδικός για % κόμης σε ανθοφορία
1				26			
2				27			
3				28			
4				29			
5				30			
6				31			
7				32			
8				33			
9				34			
10				35			
11				36			
12				37			
13				38			
14				39			
15				40			
16				41			
17				42			
18				43			
19				44			
20				45			
21				46			
22				47			
23				48			
24				49			
25				50			

Επιφάνεια:		Υπογραφή:
Δασοπονικό είδος:		
Ημερομηνία:		
Παρατηρητής:		

Επαληθευτής: Καρποφορία

Βασικό επίπεδο

Παρακαλώ κυκλώστε τον σχετικό κωδικό

Ένταση καρποφορίας στη συστάδα	
Κωδικός	Μέσο % καρποφορίας κόμης
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

Ποσοστό δέντρων στη συστάδα τα οποία βρίσκονται στο συγκεκριμένο στάδιο καρποφορίας (%)	
Κωδικός	% δέντρων
1	0 – 10
2	> 10 – 30
3	> 30 – 60
4	> 60 – 90
5	> 90

Τυπικό επίπεδο

Τυπικό επίπεδο Παρακαλώ συμπληρώστε τον κωδικό. Συμβουλευτείτε τις Κατευθυντήριες Οδηγίες σχετικά με τις τιμές που λαμβάνει ο κωδικός.

Ένταση καρποφορίας ανά δέντρο

Αριθμός Δέντρου	Κωδικός	Αριθμός Δέντρου	Κωδικός	Αριθμός Δέντρου	Κωδικός	Αριθμός Δέντρου	Κωδικός	Αριθμός Δέντρου	Κωδικός
1		11		21		31		41	
2		12		22		32		42	
3		13		23		33		43	
4		14		24		34		44	
5		15		25		35		45	
6		16		26		36		46	
7		17		27		37		47	
8		18		28		38		48	
9		19		29		39		49	
10		20		30		40		50	

Επιφάνεια:		Υπογραφή:
Δασοπονικό είδος:		
Ημερομηνία:		
Παρατηρητής:		

Προχωρημένο επίπεδο

Παρακαλώ συμπληρώστε τον κωδικό. Συμβουλευτείτε τις Κατευθυντήριες Οδηγίες σχετικά με τις τιμές που λαμβάνει ο κωδικός.

Αφθονία καρποφορίας σε ένα καθορισμένο τμήμα της κόμης

Αρ. Δέντρου	Αρ. καρπών	Τμήμα της κόμης	Αρ. Δέντρου	Αρ. Δέντρου	Αρ. καρπών	Τμήμα της κόμης	Αρ. Δέντρου
1				26			
2				27			
3				28			
4				29			
5				30			
6				31			
7				32			
8				33			
9				34			
10				35			
11				36			
12				37			
13				38			
14				39			
15				40			
16				41			
17				42			
18				43			
19				44			
20				45			
21				46			
22				47			
23				48			
24				49			
25				50			

Επιφάνεια:		Υπογραφή:
Δασοπονικό είδος:		
Ημερομηνία:		
Παρατηρητής:		

Επαληθευτής: Αφθονία φυσικής αναγέννησης

Βασικό επίπεδο

Παρακαλώ κυκλώστε τον σχετικό κωδικό

Κωδικός	Περιγραφή: νέα αναγέννηση (φυτάρια τρέχοντος έτους)
1α	Απουσία ή πολύ μικρή παρουσία νέας φυσικής αναγέννησης στην επιφάνεια παρακολούθησης
2α	Η νέα αναγέννηση είναι παρούσα σε ικανοποιητικό αριθμό στην επιφάνεια παρακολούθησης

Κωδικός	Περιγραφή: υφιστάμενη φυσική αναγέννηση (δενδρύλλια)
1β	Απουσία ή πολύ μικρή παρουσία υφιστάμενης φυσικής αναγέννησης στην επιφάνεια παρακολούθησης
2β	Η υφιστάμενη φυσική αναγέννηση είναι παρούσα σε ικανοποιητικό βαθμό στην επιφάνεια παρακολούθησης

Τυπικό επίπεδο

Παρακαλώ συμπληρώστε τον αριθμό μετά την καταμέτρηση

Ηλικία των φυταρίων:: _____

Ηλικία των φυταρίων:: _____

Αριθμός υπο-επιφάνειας	Αριθμός φυταρίων	Αριθμός υπο-επιφάνειας	Αριθμός φυταρίων
1		11	
2		12	
3		13	
4		14	
5		15	
6		16	
7		17	
8		18	
9		19	
10		20	

Αριθμός υπο-επιφάνειας	Αριθμός φυταρίων	Αριθμός υπο-επιφάνειας	Αριθμός φυταρίων
1		11	
2		12	
3		13	
4		14	
5		15	
6		16	
7		17	
8		18	
9		19	
10		20	

Επιφάνεια:		Υπογραφή:
Δασοπονικό είδος:		
Ημερομηνία:		
Παρατηρητής:		

Προχωρημένο επίπεδο

Παρακαλώ συμπληρώστε τον αριθμό μετά την καταμέτρηση

Ηλικία των φυταρίων:: _____

Αριθμός υπο-επιφάνειας	Αριθμός φυταρίων	Αριθμός υπο-επιφάνειας	Αριθμός φυταρίων
1		11	
2		12	
3		13	
4		14	
5		15	
6		16	
7		17	
8		18	
9		19	
10		20	

Ηλικία των φυταρίων:: _____

Αριθμός υπο-επιφάνειας	Αριθμός φυταρίων	Αριθμός υπο-επιφάνειας	Αριθμός φυταρίων
1		11	
2		12	
3		13	
4		14	
5		15	
6		16	
7		17	
8		18	
9		19	
10		20	

Ηλικία των φυταρίων:: _____

Αριθμός υπο-επιφάνειας	Αριθμός φυταρίων	Αριθμός υπο-επιφάνειας	Αριθμός φυταρίων
1		11	
2		12	
3		13	
4		14	
5		15	
6		16	
7		17	
8		18	
9		19	
10		20	

10.2.3 Έντυπο υπόδειγμα καταγραφής επιπλέον πληροφοριών

Επιφάνεια:		Υπογραφή:
Δασοπονικό είδος:		
Ημερομηνία:		
Παρατηρητής:		

Επιπλέον πληροφορία: Κατανομή κλάσεων στηθιαίας διαμέτρου**Τυπικό, Προχωρημένο επίπεδο**

Παρακαλώ συμπληρώστε τον αριθμό μετά την καταμέτρηση

Αρ. Δέντρου	Διάμετρος (cm)	Αρ. Δέντρου	Διάμετρος (cm)	Αρ. Δέντρου	Διάμετρος (cm)	Αρ. Δέντρου	Διάμετρος (cm)	Αρ. Δέντρου	Διάμετρος (cm)
1		11		21		31		41	
2		12		22		32		42	
3		13		23		33		43	
4		14		24		34		44	
5		15		25		35		45	
6		16		26		36		46	
7		17		27		37		47	
8		18		28		38		48	
9		19		29		39		49	
10		20		30		40		50	

Επιπλέον πληροφορία: Κατανομή κλάσεων ύψους**Τυπικό, Προχωρημένο επίπεδο**

Παρακαλώ συμπληρώστε τον αριθμό μετά την καταμέτρηση

Αρ. Δέντρου	Ύψος [m]	Αρ. Δέντρου	Ύψος [m]	Αρ. Δέντρου	Ύψος [m]	Αρ. Δέντρου	Ύψος [m]	Αρ. Δέντρου	Ύψος [m]
1		11		21		31		41	
2		12		22		32		42	
3		13		23		33		43	
4		14		24		34		44	
5		15		25		35		45	
6		16		26		36		46	
7		17		27		37		47	
8		18		28		38		48	
9		19		29		39		49	
10		20		30		40		50	

Επιφάνεια:		Υπογραφή:
Δασοπονικό είδος:		
Ημερομηνία:		
Παρατηρητής:		

Επιπλέον πληροφορία: Έκπτυξη οφθαλμών

Τυπικό, Προχωρημένο επίπεδο

Παρακαλώ συμπληρώστε τον κωδικό. Συμβουλευτείτε τις κατευθυντήριες οδηγίες σχετικά με τις τιμές που λαμβάνει ο κωδικός.

Αριθμός Δέντρου	Στάδιο	% της κόμης	Αριθμός Δέντρου	Στάδιο	% της κόμης	Αριθμός Δέντρου	Στάδιο	% της κόμης	Αριθμός Δέντρου	Στάδιο	% της κόμης	Αριθμός Δέντρου	Στάδιο	% της κόμης
1			11			21			31			41		
2			12			22			32			42		
3			13			23			33			43		
4			14			24			34			44		
5			15			25			35			45		
6			16			26			36			46		
7			17			27			37			47		
8			18			28			38			48		
9			19			29			39			49		
10			20			30			40			50		

Επιπλέον πληροφορία: Φθινοπωρινός μαρασμός (φυλλόπτωση)

Τυπικό, Προχωρημένο επίπεδο

Παρακαλώ συμπληρώστε τον κωδικό. Συμβουλευτείτε τις κατευθυντήριες οδηγίες σχετικά με τις τιμές που λαμβάνει ο κωδικός.

Αριθμός Δέντρου	Στάδιο	% της κόμης	Αριθμός Δέντρου	Στάδιο	% της κόμης	Αριθμός Δέντρου	Στάδιο	% της κόμης	Αριθμός Δέντρου	Στάδιο	% της κόμης	Αριθμός Δέντρου	Στάδιο	% της κόμης
1			11			21			31			41		
2			12			22			32			42		
3			13			23			33			43		
4			14			24			34			44		
5			15			25			35			45		
6			16			26			36			46		
7			17			27			37			47		
8			18			28			38			48		
9			19			29			39			49		
10			20			30			40			50		

Επιφάνεια:		Υπογραφή:
Δασοπονικό είδος:		
Ημερομηνία:		
Παρατηρητής:		

Επιπλέον πληροφορία: Αναλογία φύλων

Τυπικό επίπεδο

Παρακαλώ συμπληρώστε τον κωδικό. Συμβουλευτείτε τις Κατευθυντήριες Οδηγίες σχετικά με τις τιμές που λαμβάνει ο κωδικός. Η συγκεκριμένη μέτρηση απαιτείται μόνο για δίοικα/πολύγαμα είδη όπως ο φράξος, ή άγρια κερασία, η λεύκη κτλ.

Αριθμός Δέντρου	Φύλο	Αριθμός Δέντρου	Φύλο	Αριθμός Δέντρου	Φύλο	Αριθμός Δέντρου	Φύλο	Αριθμός Δέντρου	Φύλο
1		11		21		31		41	
2		12		22		32		42	
3		13		23		33		43	
4		14		24		34		44	
5		15		25		35		45	
6		16		26		36		46	
7		17		27		37		47	
8		18		28		38		48	
9		19		29		39		49	
10		20		30		40		50	

Επιφάνεια:		Υπογραφή:
Δασοπονικό είδος:		
Ημερομηνία:		
Παρατηρητής:		

Προχωρημένο επίπεδο

Παρακαλώ συμπληρώστε το ποσοστό των αρσενικών / θηλυκών / ερμαφρόδιτων ταξιανθιών. Μόνο για πολύγαμα είδη όπως ο φράξος.

Αριθμός Δέντρου	% αρσενικών ταξιανθιών	% θηλυκών ταξιανθιών	% ερμαφρόδιτων ταξιανθιών	Αριθμός Δέντρου	% αρσενικών ταξιανθιών	% θηλυκών ταξιανθιών	% ερμαφρόδιτων ταξιανθιών
1				26			
2				27			
3				28			
4				29			
5				30			
6				31			
7				32			
8				33			
9				34			
10				35			
11				36			
12				37			
13				38			
14				39			
15				40			
16				41			
17				42			
18				43			
19				44			
20				45			
21				46			
22				47			
23				48			
24				49			
25				50			

Επιφάνεια:		Υπογραφή:
Δασοπονικό είδος:		
Ημερομηνία:		
Παρατηρητής:		

Επιπλέον πληροφορία: Ξήρανση κόμης

Βασικό, Τυπικό, Προχωρημένο επίπεδο

Παρακαλώ συμπληρώστε τον κωδικό. Συμβουλευτείτε τις Κατευθυντήριες Οδηγίες σχετικά με τις τιμές που λαμβάνει ο κωδικός. Μόνο για είδη με έντονη εμφάνιση νεκρώσεων όπως ο φράξος,

Αριθμός Δέντρου	Κωδικός	Αριθμός Δέντρου	Κωδικός	Αριθμός Δέντρου	Κωδικός	Αριθμός Δέντρου	Κωδικός	Αριθμός Δέντρου	Κωδικός
1		11		21		31		41	
2		12		22		32		42	
3		13		23		33		43	
4		14		24		34		44	
5		15		25		35		45	
6		16		26		36		46	
7		17		27		37		47	
8		18		28		38		48	
9		19		29		39		49	
10		20		30		40		50	

10.3 Συμπληρωματικοί πίνακες για το Κεφάλαιο 7: Εκτίμηση κόστους

Πίνακας S7.1: Εκτίμηση του κόστους της γενετικής παρακολούθησης δασών της ευρωπαϊκής οξιάς (*Fagus sylvatica* L.) στη Γερμανία. Το πρώτο μεσοδιάστημα γενετικής παρακολούθησης δασών (1^ο μεσοδιάστημα) διακρίνεται από τα επόμενα διαστήματα (Μεσοδιάστημα 1 + Nth). C – αναλώσιμα, O – εξωτερική ανάθεση, F – δασολόγος, T – τεχνικός, R – ερευνητής, M-S – οδοιπορικά έξοδα, t - χρόνος ταξιδιού.

Δραστηριότητα	Μεσοδιάστημα	Επίπεδο	Υλικά		Εργασία			Ταξίδια			Σύνολο	
			C	O	F	T	R Κόστος	M-S	t	t		
			[€]	[€]	[ανθρω- πόωρες]	[ανθρω- πόωρες]	[ανθρω- πόωρες]	[€]	[€]	[ανθρω- πόωρες]		[€]
Επιλογή επιφάνειας	1 ^ο	Βασικό	0	0	40	0	40	2,791	395	28	972	4,158
		Τυπικό	0	0	40	0	40	2,791	395	28	972	4,158
		Προχωρημένο	0	0	40	0	40	2,791	395	28	972	4,158
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Προχωρημένο	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Εγκαθίδρυση Επιφάνειας	1 ^ο	Βασικό	525	0	0	12	15	854	395	11	357	2,130
		Τυπικό	845	0	0	23	28	1,614	553	22	710	3,722
		Προχωρημένο	845	0	0	23	28	1,614	553	22	710	3,722
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	320	0	0	13	15	884	184	13	411	1,799
		Προχωρημένο	320	0	0	13	15	884	184	13	411	1,799
Παρατηρήσεις πεδίου	1 ^ο	Βασικό	0	0	0	0	121	4,554	1,753	74	2,809	9,116
		Τυπικό	0	0	0	46	421	17,033	3,559	152	5,558	26,150
		Προχωρημένο	0	0	0	43	830	32,407	8,139	322	11,972	52,518
	1+N th	Βασικό	0	0	0	1	130	4,906	1,780	76	2,875	9,561
		Τυπικό	0	0	0	47	398	16,176	3,586	154	5,613	25,375
		Προχωρημένο	0	0	0	87	823	33,214	8,442	344	12,555	54,210
Δειγματοληψία	1 ^ο	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	10	0	0	7	7	417	158	11	347	932
		Προχωρημένο	10	3,616	0	7	43	1,778	704	22	802	6,910
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	7	0	0	1	1	83	79	6	173	342
		Προχωρημένο	7	3,616	0	1	37	1,443	625	17	624	6,315
Εργαστηριακές αναλύσεις	1 ^ο	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	2,100	0	0	33	80	3,836	0	0	0	5,936
		Προχωρημένο	13,340	0	0	224	80	8,485	0	0	0	21,825
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	1,400	0	0	24	80	3,614	0	0	0	5,014
		Προχωρημένο	12,640	0	0	215	80	8,263	0	0	0	20,903
Σύνολο	1 ^ο	Βασικό	525	0	40	12	176	8,198	2,543	113	4,138	15,405
		Τυπικό	2,955	0	40	109	576	25,690	4,665	214	7,587	40,898
		Προχωρημένο	14,195	3,616	40	296	1,021	47,074	9,791	395	14,456	89,132
	1+N th	Βασικό	0	0	0	1	130	4,906	1,780	76	2,875	9,561
		Τυπικό	1,727	0	0	85	494	20,757	3,849	173	6,197	32,530
		Προχωρημένο	12,967	3,616	0	315	955	43,805	9,251	374	13,590	83,228

Πίνακας S7.2: Εκτίμηση του κόστους της γενετικής παρακολούθησης δασών της λευκής ελάτης (*Abies alba* Mill.) στη Γερμανία. Το πρώτο μεσοδιάστημα γενετικής παρακολούθησης δασών (1^ο μεσοδιάστημα) διακρίνεται από τα επόμενα διαστήματα (Μεσοδιάστημα 1 + Nth). C – αναλώσιμα, O - εξωτερική ανάθεση F – δασολόγος, T – τεχνικός, R – ερευνητής, M-S – οδοιπορικά έξοδα, t - χρόνος ταξιδιού.

Δραστηριότητα	Μεσοδιάστημα	Επίπεδο	Υλικά		Εργασία				Ταξίδια			Σύνολο
			C	O	F	T	R Κόστος	M-S	t	t		
			[€]	[€]	[ανθρω- πόωρες]	[ανθρω- πόωρες]	[ανθρω- πόωρες]	[€]	[€]	[ανθρω- πόωρες]	[€]	
Επιλογή επιφάνειας	1 ^ο	Βασικό	0	0	40	0	40	2,791	395	28	972	4,158
		Τυπικό	0	0	40	0	40	2,791	395	28	972	4,158
		Προχωρημένο	0	0	40	0	40	2,791	395	28	972	4,158
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Προχωρημένο	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Εγκαθίδρυση Επιφάνειας	1 ^ο	Βασικό	525	0	0	12	15	854	395	11	357	2,130
		Τυπικό	845	0	0	23	28	1,614	553	22	710	3,722
		Προχωρημένο	845	0	0	23	28	1,614	553	22	710	3,722
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	320	0	0	13	15	884	184	13	411	1,799
		Προχωρημένο	320	0	0	13	15	884	184	13	411	1,799
Παρατηρήσεις πεδίου	1 ^ο	Βασικό	0	0	0	0	121	4,554	1,753	74	2,809	9,116
		Τυπικό	0	0	0	46	396	16,088	3,261	141	5,141	24,490
		Προχωρημένο	97	0	0	43	748	29,299	6,649	267	9,884	45,928
	1+N th	Βασικό	0	0	0	1	130	4,906	1,780	76	2,875	9,561
		Τυπικό	0	0	0	47	354	14,494	3,288	143	5,185	22,967
		Προχωρημένο	5	0	0	87	746	30,285	6,952	288	10,485	47,727
Δειγματοληψία	1 ^ο	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	10	0	0	3	3	192	158	11	347	707
		Προχωρημένο	10	3,616	0	15	15	938	704	22	694	5,962
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	7	0	0	1	1	83	79	6	173	342
		Προχωρημένο	7	3,616	0	13	13	829	625	17	520	5,597
Εργαστηριακές αναλύσεις	1 ^ο	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	2,100	0	0	33	80	3,836	0	0	0	5,936
		Προχωρημένο	13,340	0	0	216	80	8,290	0	0	0	21,630
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	1,400	0	0	24	80	3,614	0	0	0	5,014
		Προχωρημένο	12,640	0	0	207	80	8,068	0	0	0	20,708
Σύνολο	1 ^ο	Βασικό	525	0	40	12	176	8,198	2,543	113	4,138	15,405
		Τυπικό	2,955	0	40	105	547	24,520	4,367	203	7,170	39,012
		Προχωρημένο	14,292	3,616	40	296	911	42,931	8,301	339	12,259	81,399
	1+N th	Βασικό	0	0	0	1	130	4,906	1,780	76	2,875	9,561
		Τυπικό	1,727	0	0	85	450	19,075	3,551	162	5,769	30,122
		Προχωρημένο	12,972	3,616	0	319	854	40,067	7,761	318	11,416	75,831

Πίνακας S7.3: Εκτίμηση του κόστους της γενετικής παρακολούθησης δασών της ευρωπαϊκής οξιάς (*Fagus sylvatica* L.) στην Ελλάδα. Το πρώτο μεσοδιάστημα γενετικής παρακολούθησης δασών (1^ο μεσοδιάστημα) διακρίνεται από τα επόμενα διαστήματα (Μεσοδιάστημα 1 + Nth). C – αναλύσιμα, O – εξωτερική ανάθεση, F – δασολόγος, T – τεχνικός, R – ερευνητής, M-S - οδοιπορικά έξοδα, t - χρόνος ταξιδιού.

Δραστηριότητα	Μεσοδιάστημα	Επίπεδο	Υλικά		Εργασία				Ταξίδια			Σύνολο
			C	O	F	T	R Κόστος	M-S	t	t		
			[€]	[€]	[ανθρω- πόωρες]	[ανθρω- πόωρες]	[ανθρω- πόωρες]	[€]	[€]	[ανθρω- πόωρες]	[€]	
Επιλογή επιφάνειας	1 ^ο	Βασικό	0	0	40	0	40	1,076	424	33	440	1,939
		Τυπικό	0	0	40	0	40	1,076	424	33	440	1,939
		Προχωρημένο	0	0	40	0	40	1,076	424	33	440	1,939
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Προχωρημένο	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Εγκαθίδρυση Επιφάνειας	1 ^ο	Βασικό	434	0	21	0	23	582	254	20	266	1,536
		Τυπικό	754	0	32	0	36	909	424	33	444	2,530
		Προχωρημένο	754	0	32	0	36	909	424	33	444	2,530
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	320	0	16	0	18	461	198	15	207	1,186
		Προχωρημένο	320	0	16	0	18	461	198	15	207	1,186
Παρατηρήσεις πεδίου	1 ^ο	Βασικό	0	0	40	0	81	1,700	1,282	87	1,232	4,214
		Τυπικό	0	0	1,276	40	308	19,911	2,621	244	2,998	25,530
		Προχωρημένο	0	0	5,042	40	458	65,428	5,679	647	7,642	78,749
	1+N th	Βασικό	0	0	42	0	91	1,896	1,311	89	1,268	4,474
		Τυπικό	0	0	1,278	40	286	19,614	2,650	247	3,014	25,277
		Προχωρημένο	0	0	5,050	80	456	66,034	6,004	672	7,945	79,982
Δειγματοληψία	1 ^ο	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	16	0	11	0	11	287	169	13	176	648
		Προχωρημένο	16	10,000	47	0	47	1,255	508	39	528	12,307
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	11	0	5	0	5	125	85	7	88	309
		Προχωρημένο	11	10,000	41	0	41	1,094	424	33	440	11,968
Εργαστηριακές αναλύσεις	1 ^ο	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	862	1,235	0	38	80	1,744	0	0	0	3,842
		Προχωρημένο	6,919	7,824	0	246	80	4,523	0	0	0	19,266
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	575	824	0	29	80	1,618	0	0	0	3,016
		Προχωρημένο	6,631	7,412	0	237	80	4,397	0	0	0	18,440
Σύνολο	1 ^ο	Βασικό	434	0	101	0	143	3,358	1,960	140	1,938	7,690
		Τυπικό	1,632	1,235	1,358	78	474	23,927	3,638	323	4,058	34,490
		Προχωρημένο	7,689	17,824	5,160	286	660	73,191	7,035	752	9,054	114,791
	1+N th	Βασικό	0	0	42	0	91	1,896	1,311	89	1,268	4,474
		Τυπικό	905	824	1,299	69	389	21,818	2,932	268	3,309	29,788
		Προχωρημένο	6,962	17,412	5,107	317	595	71,986	6,625	720	8,592	111,576

* Οι φαινολογικές παρατηρήσεις (Παρατηρήσεις πεδίου) πραγματοποιήθηκαν μέσω ψηφιακών φωτογραφιών και αναλύσεων εικόνας.

Πίνακας S7.4: Εκτίμηση του κόστους της γενετικής παρακολούθησης δασών της υβριδογενούς ελάτης (*Abies borisii-regis* Mafft.) στην Ελλάδα. Το πρώτο μεσοδιάστημα γενετικής παρακολούθησης δασών (1^ο μεσοδιάστημα) διακρίνεται από τα επόμενα διαστήματα (Μεσοδιάστημα 1 + Nth). C – αναλώσιμα, O – εξωτερική ανάθεση F – δασολόγος, T – τεχνικός, R – ερευνητής, M-S - οδοιπορικά έξοδα, t - χρόνος ταξιδιού.

Δραστηριότητα	Μεσοδιάστημα	Επίπεδο	Υλικά		Εργασία				Ταξίδια			Σύνολο
			C	O	F	T	R Κόστος	M-S	t	t		
			[€]	[€]	[ανθρω- πόωρες]	[ανθρω- πόωρες]	[ανθρω- πόωρες]	[€]	[€]	[ανθρω- πόωρες]	[€]	
Επιλογή επιφάνειας	1 ^ο	Βασικό	0	0	40	0	40	1,076	424	33	440	1,939
		Τυπικό	0	0	40	0	40	1,076	424	33	440	1,939
		Προχωρημένο	0	0	40	0	40	1,076	424	33	440	1,939
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Προχωρημένο	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Εγκαθίδρυση Επιφάνειας	1 ^ο	Βασικό	434	0	21	0	23	582	254	20	266	1,536
		Τυπικό	754	0	32	0	36	909	424	33	444	2,530
		Προχωρημένο	754	0	32	0	36	909	424	33	444	2,530
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	320	0	16	0	18	461	198	15	207	1,186
		Προχωρημένο	320	0	16	0	18	461	198	15	207	1,186
Παρατηρήσεις πεδίου	1 ^ο	Βασικό	0	0	40	0	81	1,700	1,282	87	1,232	4,214
		Τυπικό	0	0	1,048	40	304	17,235	2,421	218	2,703	22,359
		Προχωρημένο	0	0	3,902	40	438	52,044	4,679	516	6,133	62,855
	1+N th	Βασικό	0	0	42	0	91	1,896	1,311	89	1,268	4,474
		Τυπικό	0	0	1,050	40	282	16,937	2,450	220	2,719	22,106
		Προχωρημένο	0	0	3,910	80	436	52,650	5,004	541	6,437	64,090
Δειγματοληψία	1 ^ο	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	16	0	11	0	11	287	169	13	176	648
		Προχωρημένο	16	5,008	47	0	47	1,255	508	39	528	7,315
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	11	0	5	0	5	125	85	7	88	309
		Προχωρημένο	11	5,008	41	0	41	1,094	424	33	440	6,976
Εργαστηριακές αναλύσεις	1 ^ο	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	809	882	0	36	80	1,714	0	0	0	3,405
		Προχωρημένο	6,583	5,588	0	236	80	4,384	0	0	0	16,556
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	540	588	0	27	80	1,591	0	0	0	2,719
		Προχωρημένο	6,314	5,294	0	227	80	4,262	0	0	0	15,870
Σύνολο	1 ^ο	Βασικό	434	0	101	0	143	3,358	1,960	140	1,938	7,690
		Τυπικό	1,579	882	1,130	76	470	21,219	3,438	297	3,763	30,882
		Προχωρημένο	7,353	10,596	4,020	276	640	59,668	6,035	621	7,545	91,196
	1+N th	Βασικό	0	0	42	0	91	1,896	1,311	89	1,268	4,474
		Τυπικό	870	588	1,071	67	385	19,115	2,732	242	3,015	26,319
		Προχωρημένο	6,644	10,302	3,967	307	575	58,466	5,625	589	7,084	88,122

* Οι φαινολογικές παρατηρήσεις (Παρατηρήσεις πεδίου) πραγματοποιήθηκαν μέσω ψηφιακών φωτογραφιών και αναλύσεων εικόνας.

Πίνακας S7.5: Εκτίμηση του κόστους της γενετικής παρακολούθησης δασών της ευρωπαϊκής οξιάς (*Fagus sylvatica* L.) στη Σλοβενία. Το πρώτο μεσοδιάστημα γενετικής παρακολούθησης δασών (1^ο μεσοδιάστημα ΓΠΔ) διακρίνεται από τα επόμενα διαστήματα (Μεσοδιάστημα ΓΠΔ 1 + Nth). C – αναλώσιμα, O - εξωτερική ανάθεση, F – δασολόγος, T – τεχνικός, R – ερευνητής, M-S - οδοιπορικά έξοδα, t - χρόνος ταξιδιού.

Δραστηριότητα	Μεσοδιάστημα	Επίπεδο	Υλικά		Εργασία				Ταξίδια			Σύνολο
			C	O	F	T	R Κόστος	M-S	t	t		
			[€]	[€]	[ανθρω- πόωρες]	[ανθρω- πόωρες]	[ανθρω- πόωρες]	[€]	[€]	[ανθρω- πόωρες]	[€]	
Επιλογή επιφάνειας	1 ^ο	Βασικό	0	0	40	0	40	1,318	240	32	520	2,077
		Τυπικό	0	0	40	0	40	1,318	240	32	520	2,077
		Προχωρημένο	0	0	40	0	40	1,318	240	32	520	2,077
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Προχωρημένο	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Εγκαθίδρυση Επιφάνειας	1 ^ο	Βασικό	65	0	0	27	2	434	144	19	288	931
		Τυπικό	385	0	0	48	4	798	240	32	481	1,904
		Προχωρημένο	385	0	0	48	4	798	240	32	481	1,904
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	320	0	0	25	2	412	112	15	224	1,068
		Προχωρημένο	320	0	0	25	2	412	112	15	224	1,068
Παρατηρήσεις πεδίου	1 ^ο	Βασικό	0	0	20	20	81	2,105	1,120	84	1,469	4,694
		Τυπικό	0	0	20	157	296	8,232	2,272	235	4,101	14,605
		Προχωρημένο	0	0	20	428	454	15,281	5,224	623	10,564	31,069
	1+N th	Βασικό	0	0	20	21	89	2,281	1,136	86	1,513	4,930
		Τυπικό	0	0	20	158	272	7,801	2,288	238	4,117	14,206
		Προχωρημένο	0	0	20	474	444	15,779	5,408	648	10,896	32,083
Δειγματοληψία	1 ^ο	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	4	0	0	18	0	262	96	13	189	551
		Προχωρημένο	4	3,758	0	90	0	1,337	288	38	566	5,953
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	3	0	0	10	0	149	48	6	94	295
		Προχωρημένο	3	3,758	0	82	0	1,225	240	32	471	5,697
Εργαστηριακές αναλύσεις	1 ^ο	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	2,239	0	0	26	84	1,984	0	0	0	4,222
		Προχωρημένο	14,238	0	0	189	107	4,857	0	0	0	19,094
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	1,492	0	0	17	84	1,855	0	0	0	3,347
		Προχωρημένο	13,491	0	0	181	107	4,728	0	0	0	18,219
Σύνολο	1 ^ο	Βασικό	65	0	60	47	123	3,857	1,504	135	2,277	7,703
		Τυπικό	2,628	0	60	249	424	12,593	2,848	311	5,290	23,359
		Προχωρημένο	14,627	3,758	60	755	605	23,591	5,992	724	12,130	60,098
	1+N th	Βασικό	0	0	20	21	89	2,281	1,136	86	1,513	4,930
		Τυπικό	1,815	0	20	210	358	10,217	2,448	259	4,436	18,916
		Προχωρημένο	13,814	3,758	20	762	553	22,144	5,760	694	11,591	57,068

Πίνακας S7.6: Εκτίμηση του κόστους της γενετικής παρακολούθησης δασών της λευκής ελάτης (*Abies alba* Mill.) στη Σλοβενία. Το πρώτο μεσοδιάστημα γενετικής παρακολούθησης δασών (1^ο μεσοδιάστημα ΓΠΔ) διακρίνεται από τα επόμενα διαστήματα (Μεσοδιάστημα ΓΠΔ1 + Nth). C – αναλώσιμα, O - εξωτερική ανάθεση F – δασολόγος, T – τεχνικός, R – ερευνητής, M-S - οδοιπορικά έξοδα, t - χρόνος ταξιδιού.

Δραστηριότητα	Μεσοδιάστημα	Επίπεδο	Υλικά		Εργασία			Ταξίδια			Σύνολο	
			C	O	F	T	R Κόστος	M-S	t	t		
			[€]	[€]	[ανθρω- πόωρες]	[ανθρω- πόωρες]	[ανθρω- πόωρες]	[€]	[€]	[ανθρω- πόωρες]	[€]	[€]
Επιλογή επιφάνειας	1 ^ο	Βασικό	0	0	40	0	40	1,318	240	32	520	2,077
		Τυπικό	0	0	40	0	40	1,318	240	32	520	2,077
		Προχωρημένο	0	0	40	0	40	1,318	240	32	520	2,077
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Προχωρημένο	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Εγκαθίδρυση Επιφάνειας	1 ^ο	Βασικό	65	0	0	27	2	434	144	19	288	931
		Τυπικό	385	0	0	48	4	798	240	32	481	1,904
		Προχωρημένο	385	0	0	48	4	798	240	32	481	1,904
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	320	0	0	25	2	412	112	15	224	1,068
		Προχωρημένο	320	0	0	25	2	412	112	15	224	1,068
Παρατηρήσεις πεδίου	1 ^ο	Βασικό	0	0	20	20	81	2,105	1,120	84	1,469	4,694
		Τυπικό	0	0	20	146	292	7,986	2,080	210	3,672	13,738
		Προχωρημένο	97	0	23	397	471	15,178	4,408	516	8,797	28,480
	1+N th	Βασικό	0	0	20	21	89	2,281	1,136	86	1,513	4,930
		Τυπικό	0	0	20	147	268	7,555	2,096	212	3,690	13,341
		Προχωρημένο	5	0	20	421	426	14,646	4,496	528	8,917	28,064
Δειγματοληψία	1 ^ο	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	4	0	0	18	0	262	96	13	189	551
		Προχωρημένο	4	2,074	0	98	0	1,457	288	38	566	4,389
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	3	0	0	10	0	149	48	6	94	295
		Προχωρημένο	3	2,074	0	90	0	1,345	240	32	471	4,133
Εργαστηριακές αναλύσεις	1 ^ο	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	1,910	0	0	24	87	2,003	0	0	0	3,912
		Προχωρημένο	12,154	0	0	178	125	5,026	0	0	0	17,180
	1+N th	Βασικό	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Τυπικό	1,273	0	0	16	87	1,885	0	0	0	3,158
		Προχωρημένο	11,517	0	0	170	125	4,909	0	0	0	16,426
Σύνολο	1 ^ο	Βασικό	65	0	60	47	123	3,857	1,504	135	2,277	7,703
		Τυπικό	2,299	0	60	235	423	12,365	2,656	286	4,861	22,181
		Προχωρημένο	12,640	2,074	63	721	639	23,777	5,176	617	10,363	54,030
	1+N th	Βασικό	0	0	20	21	89	2,281	1,136	86	1,513	4,930
		Τυπικό	1,596	0	20	197	357	10,002	2,256	233	4,008	17,862
		Προχωρημένο	11,845	2,074	20	706	553	21,311	4,848	574	9,612	49,691

Τίτλος Έργου: **LIFE για τη Γενετική Παρακολούθηση των Δασών**
Ακρωνύμιο: **LIFEGENMON**
Πρόγραμμα: **LIFE**
Κωδικός Συμφωνίας Επιχορήγησης: **LIFE13 ENV/SI/000148**
Διάρκεια: **Ιούλιος 2014 – Δεκέμβριος 2020**
Συντονιστής: **Ινστιτούτο Δασών Σλοβενίας**



LIFE13 ENV/SI/000148



Το Έργο συγχρηματοδοτήθηκε από τον χρηματοδοτικό μηχανισμό της Ευρωπαϊκής Ένωσης LIFE.

Εταίροι Έργου

ΣΛΟΒΕΝΙΑ

Δασικό Ινστιτούτο Σλοβενίας
(Συντονιστής έργου)
www.gozdis.si

Σλοβενική Δασική Υπηρεσία
www.zgs.si

Κέντρο Παροχής Πληροφοριών,
Συνεργασίας και Ανάπτυξης ΜΚΟ
www.cnvos.si



ΓΕΡΜΑΝΙΑ

Βαυαρικό Γραφείο Δασικής Γενετικής
www.awg.bayern.de



Bayerisches Staatsministerium für
Ernährung, Landwirtschaft und Forsten



ΕΛΛΑΔΑ

Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης,
Τμήμα Δασολογίας και Φυσικού
Περιβάλλοντος
www.for.auth.gr

Αποκεντρωμένη Διοίκηση Μακεδονίας
Θράκης, Γενική Διεύθυνση Δασών &
Αγροτικών Υποθέσεων www.damt.gov.gr



HELLENIC REPUBLIC
DECENTRALIZED ADMINISTRATION of MACEDONIA & THRACE
GENERAL DIRECTORATE of FORESTS & RURAL AFFAIRS