

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ
ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΗΣ
ΟΡΕΙΝΗΣ (*Alectoris graeca*) ΚΑΙ
ΝΗΣΙΩΤΙΚΗΣ (*Alectoris chukar*) ΠΕΡΔΙΚΑΣ
ΤΟΥ ΕΛΛΑΔΙΚΟΥ ΧΩΡΟΥ

ΜΑΡΤΙΟΣ 2007



Η ενδυνάμωση των φυσικών πληθυσμών της πέρδικας στη χώρα μας μπορεί να επιτευχθεί, από τη στιγμή που οι κυριότεροι εμπλεκόμενοι φορείς (κράτος, ομοσπονδίες και κυνηγετικοί σύλλογοι), ευαισθητοποιηθούν και συντονιστούν, ώστε να τεθούν σε εφαρμογή τα απαραίτητα διαχειριστικά μέτρα.

Το πρόγραμμα χρηματοδοτήθηκε από τη Δ' ΚΟΣΕ

Εκφράζουμε θερμές ευχαριστίες σε όλους τους ανώνυμους κυνηγούς και θηροφύλακες που χορήγησαν δείγματα πέρδικας στον κ. Ευάγγελο Χατζηνίκο της Δ' ΚΟΣΕ. Επιπλέον, θερμές ευχαριστίες εκφράζουμε στους Δημήτριο Τάσιο, Κωνσταντίνο Γκριτζέλα, Βασίλειο Ιωαννίδη και Στ. Πεταλόπουλο για τη συλλογή δειγμάτων από διάφορες περιοχές της Ελλάδας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΡΕΥΝΗΤΕΣ ΠΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΚΑΝ ΣΤΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ	5
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
SUMMARY	7
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1.1. ΜΥΘΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ	9
1.2. ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ - ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ	9
1.3. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ	11
2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΑ ΔΥΟ ΕΙΔΗ ΠΕΡΔΙΚΑΣ ΤΟΥ ΕΛΛΑΔΙΚΟΥ ΧΩΡΟΥ	13
2.1. <i>ALECTORIS GRAECA</i>	13
2.2. <i>ALECTORIS CHUKAR</i>	18
2.3. ΔΙΑΦΟΡΕΣ <i>A. graeca</i> - <i>A. chukar</i>	21
2.4. ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΕΙΔΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ <i>ALECTORIS</i>	22
2.5. ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΗΣ ΠΕΡΔΙΚΑΣ ΣΤΗ ΧΩΡΑ ΜΑΣ. ΚΥΡΙΕΣ ΑΠΕΙΛΕΣ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΦΥΣΙΚΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΤΗΣ ΠΕΡΔΙΚΑΣ	24
2.6. ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΙ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ - ΜΕΤΡΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ	28
3. ΤΟ ΓΕΝΕΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ (DNA)	31
3.1. ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟ DNA	31
3.1.1. Κυτόχρωμα b	34
3.1.2. Βρόχος εκτόπισης (D-loop)	34
3.1.3. Μεθοδολογίες ανάλυσης του mtDNA και Φυλογενετικές σχέσεις	35
3.2. ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΟ DNA	37
3.2.1. Γενετικές αναλύσεις με τη χρήση μικροδορυφορικών δεικτών σε πτηνά	39
4. ΣΚΟΠΟΣ – ΣΤΟΧΟΙ	41
5. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ	42
5.1. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ	43
5.2. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΟΛΙΚΟΥ DNA	44
5.3. ΑΛΥΣΙΔΩΤΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ	44
5.4. ΑΝΑΛΥΣΗ DNA	45

5.4.1. Ανάλυση πολυμορφισμού μιτοχονδριακού DNA	45
5.4.1.1. Ενίσχυση του βρόχου εκτόπισης	45
5.4.1.2. Ενίσχυση της περιοχής του cyt- b	46
5.4.1.3. Πέψεις με ένζυμα περιορισμού	47
5.4.1.4. Στατιστική ανάλυση	48
5.4.2. Ανάλυση πολυμορφισμού μικροδορυφορικού DNA	48
5.4.2.1. Στατιστική ανάλυση	50
6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	52
6.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ DNA	52
6.1.1. Βρόχος εκτόπισης	52
6.1.2. Κυτόχρωμα b	53
6.1.3 Κατανομή και ποικιλότητα μιτοχονδριακών απλοτύπων	54
6.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ	60
6.2.1. Αφαίρεση παρόμοιων δειγμάτων	61
6.2.2. Γενότυποι – Συχνότητες αλληλομόρφων	62
6.2.3. Ύπαρξη υβριδίων	62
6.2.4. Γενετική διαφοροποίηση στα δυο είδη	65
7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	72
7.1. ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΣΤΟ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟ DNA	72
7.1.1. Ενίσχυση του βρόχου εκτόπισης και του κυτοχρώματος b	72
7.1.2. Ποικιλότητα απλοτύπων και ποικιλομορφία πληθυσμών	75
7.2. ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΩΝ ΤΟΠΩΝ	78
7.2.1. Ταυτοποίηση ειδών και υβριδίων	80
7.2.2. Επίπεδα ποικιλομορφίας	88
7.2.2.1. Ανάλυση γενετικών παραμέτρων στα δυο είδη και σύγκριση με σχετικές μελέτες	88
7.2.2.2. Μέσος αριθμός αλληλομόρφων	89
7.2.2.3. Παρατηρούμενη και αναμενόμενη ετεροζυγωτία	90
7.2.2.4. Συμπεράσματα	91
7.2.3. Ανισορροπία Hardy – Weinberg & Ύπαρξη Υποπληθυσμών	92

8. ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΗΣ ΠΕΡΔΙΚΑΣ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ	97
8.1. ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΗΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΣΤΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΗΣ ΠΕΡΔΙΚΑΣ	98
8.2. ΠΡΟΫΠΟΘΕΣΕΙΣ ΓΙΑ ΠΕΤΥΧΗΜΕΝΟΥΣ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΠΕΡΔΙΚΑΣ	104
8.2.1. Η τεχνητή εκτροφή νησιώτικης πέρδικας και η απελευθέρωσή της	104
8.3. ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ	109
8.4. «ΚΥΝΗΓΕΤΙΚΗ» ΣΥΝΕΙΔΗΣΗ	115
9. ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ, ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ	116
10. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	118
10.1. ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	118
10.2. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	122
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΚΑΙ ΕΚΤΡΟΦΕΙΑ ΘΗΡΑΜΑΤΩΝ	123
Ι.Α. ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΕΣ ΚΥΝΗΓΕΤΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ	124
Ι.Β. ΕΚΤΡΟΦΕΙΑ ΘΗΡΑΜΑΤΩΝ	125
Ι.Γ. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗΣ ΚΥΝΗΓΕΤΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΚΟΖΙΑΚΑ	126
Ι.Δ. ΟΔΗΓΙΕΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ	127

ΕΡΕΥΝΗΤΕΣ ΠΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΚΑΝ ΣΤΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ*

- 1. ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΙΔΗΣ**, Επιστημονικός υπεύθυνος, Καθηγητής, Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τηλ.: +30 2310 998309 και 2310 998378, Fax: 2310 998374, e-mail: triant@bio.auth.gr
- 2. ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΠΑΠΑΓΕΩΡΓΙΟΥ**, Καθηγητής, Εργαστήριο Άγριας Πανίδας & Ιχθυοπονίας, Γλυκέων Υδάτων, Τομέας Λιβαδοπονίας & Άγριας Πανίδας, Τμήμα Δασολογίας και Φυσικού Περιβάλλοντος, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τηλ. +30 2310 992684, Fax: 2310 992324, e-mail: papn@for.auth.gr
- 3. ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ ΤΡΙΑΝΤΑΦΥΛΛΙΔΗΣ**, Λέκτορας, Τομέας Γενετικής, Ανάπτυξης και Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τηλ.: +30 2310 998545, Fax: 2310 998374, e-mail: atriant@bio.auth.gr
- 4. ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ ΧΑΤΖΗΝΙΚΟΣ**, MSc, Δασολόγος, Δ΄ Κυνηγετική Ομοσπονδία Στερεάς Ελλάδας, Φωκίωνος 8 και Ερμού, Τ.Κ. 10563 Αθήνα, Τηλ. +30 210 3231212, 210 3232616, Fax: 210 3257593, e-mail: dkose@otenet.gr
- 5. Δρ. ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΜΑΝΙΟΣ**, Δασολόγος
- 6. Βιολόγος MSc ΠΑΝΩΡΑΙΑ ΑΛΕΞΑΝΔΡΗ** (ΑΠΘ)
- 7. Βιολόγος MSc, ΑΝΤΩΝΙΟΣ ΒΕΡΒΕΡΗΣ** (ΑΠΘ)
- 8. Βιολόγος MSc ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ ΤΗΛΑΒΕΡΙΔΟΥ** (ΑΠΘ)
- 9. Βιολόγος ΑΝΔΡΕΑΚΟΥ ΕΙΡΗΝΗ** (ΑΠΘ)
- 10. Βιολόγος ΓΕΩΡΓΙΑΔΟΥ ΜΑΡΙΑ** (ΑΠΘ)
- 11. Βιολόγος ΔΡΙΚΟΣ ΙΩΑΝΝΗΣ** (ΑΠΘ)
- 12. Βιολόγος ΚΑΡΑΤΖΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ** (ΑΠΘ)
- 13. Βιολόγος ΛΑΠΠΑ ΜΑΡΙΑ** (ΑΠΘ)

*Σημείωση. Ουδείς από τους παραπάνω αμείφθηκε από το πρόγραμμα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στον Ελλαδικό χώρο απαντώνται δύο είδη πέρδικας του γένους *Alectoris* (*A. graeca* και *A. chukar*). Η *A. graeca* ή ορεινή πέρδικα αποτελεί βασικό και δημοφιλές θήραμα για χιλιάδες κυνηγούς σε όλη τη χώρα, αλλά τα τελευταία χρόνια έχει σημειωθεί σημαντική συρρίκνωση των πληθυσμών της. Η *A. chukar* ή νησιώτικη πέρδικα εκτρέφεται σε ευρεία κλίμακα και απελευθερώνεται μέσα στα όρια της φυσικής εξάπλωσής της, ενώ παλιότερα απελευθερωνόταν και εκτός αυτών. Οι φυσικοί πληθυσμοί και αυτού του είδους έχουν μειωθεί σημαντικά σε πολλά νησιά του Αιγαίου. Στην παρούσα ερευνητική δραστηριότητα εκτιμήθηκε η γενετική δομή και ο βαθμός γενετικής ποικιλότητας των πληθυσμών των δύο ειδών με μοριακές μεθοδολογίες (μέθοδος PCR- RFLPs σε δύο περιοχές του μιτοχονδριακού γονιδιώματος, καθώς επίσης με τη χρήση αρκετών μικροδορυφορικών δεικτών του πυρηνικού DNA). Συλλέχθηκαν 342 δείγματα από 39 περιοχές της ηπειρωτικής και νησιωτικής Ελλάδας, τη Βαλκανική, την Ισπανία και την Κύπρο και ένα εκτροφείο. Από τα άτομα αυτά, με τη μέθοδο της PCR ενισχύθηκε η περιοχή του κυτοχρώματος b και του βρόχου εκτόπισης του μιτοχονδριακού DNA και ακολούθησε πέψη με ενδονουκλεάσες περιορισμού, ενώ σε αυτόματο μηχάνημα γενοτύπησης προσδιορίστηκε η γενετική σύσταση των ατόμων σε 11 πολυμορφικούς μικροδορυφορικούς δείκτες. Εκτιμήθηκε η ενδοειδική και διαειδική ποικιλότητα και η γενετική απόσταση ανάμεσα στα δύο είδη. Οι τιμές ποικιλομορφίας μέσα στα δύο είδη ήταν παρόμοιες με μελέτες σε άλλες περιοχές εξάπλωσής τους. Επιτεύχθηκε η διάκριση και ταυτοποίηση των δύο ειδών με κατάλληλα ένζυμα περιορισμού και με μικροδορυφορικούς τόπους. Επιπλέον, κατέστη δυνατή η διάκριση των δύο ειδών από άλλα είδη και υποείδη του γένους *Alectoris*. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης του μιτοχονδριακού γονιδιώματος βρίσκονται σε συμφωνία με αυτά της ανάλυσης του πυρηνικού γονιδιώματος. Προσδιορίστηκε η κατανομή των δύο ειδών και η ύπαρξη υβριδίων στον ελλαδικό χώρο. Τουλάχιστον στη νησιωτική πέρδικα φαίνεται να υπάρχουν διακριτοί υποπληθυσμοί. Σε αρκετές περιπτώσεις διαπιστώθηκε η ύπαρξη της νησιωτικής πέρδικας σε περιοχές εξάπλωσής της ορεινής και το αντίθετο σε ελάχιστες περιπτώσεις. Μεταξύ των δειγμάτων εντοπίστηκαν 34 άτομα (11,93%) που έφεραν χαρακτηριστικά αλληλόμορφα και από τα δύο είδη και τα οποία ενδεχομένως αποτελούν υβρίδια μεταξύ των δύο ειδών. Τα δεδομένα επέτρεψαν τη διατύπωση αναλυτικού μοντέλου διαχείρισης των φυσικών πληθυσμών της ορεινής και νησιωτικής πέρδικας.

SUMMARY

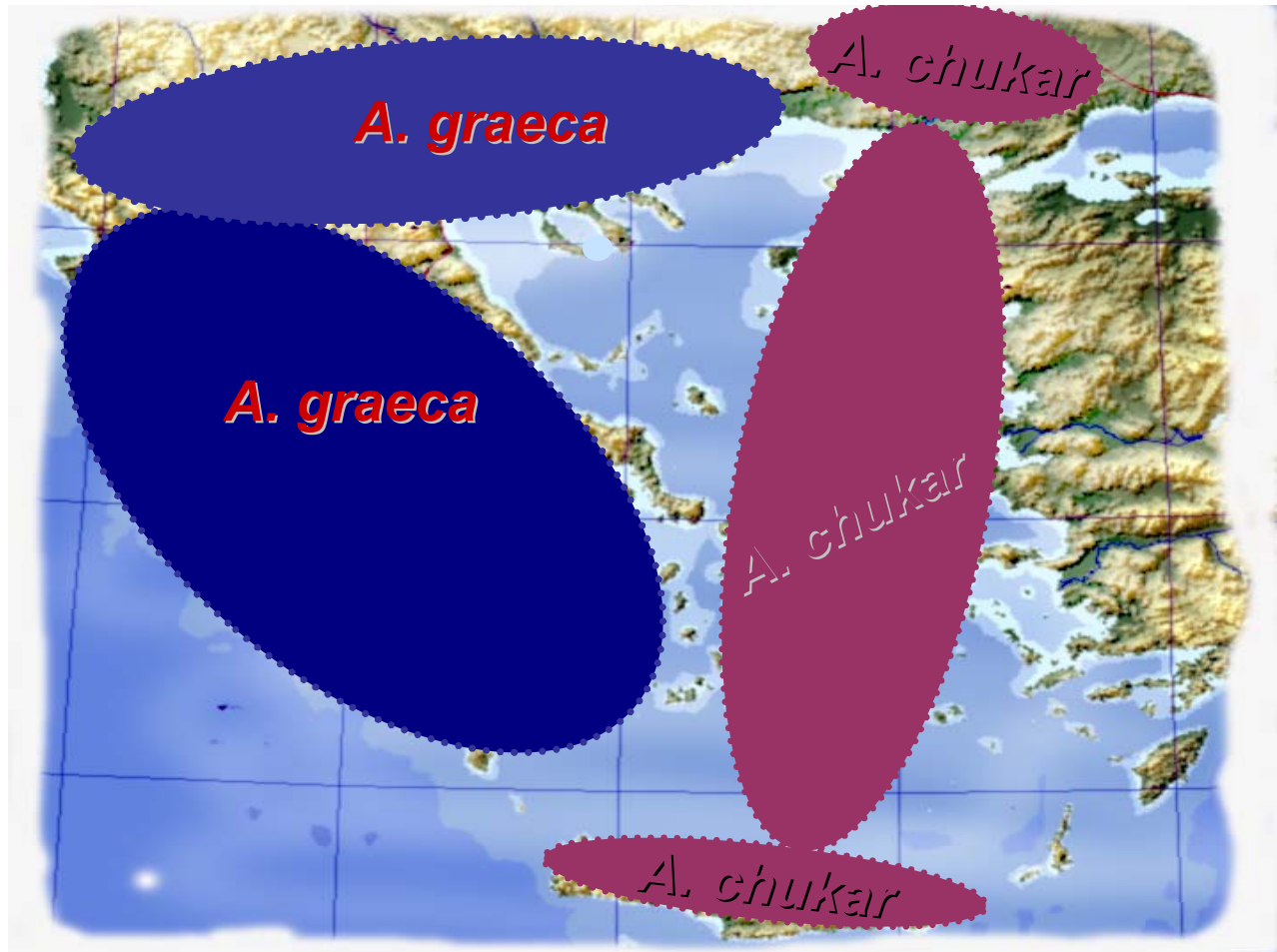
Department of Genetics, Development and Molecular Biology
School of Biology, Aristotle University of Thessaloniki
54214 Thessaloniki, Macedonia, Greece
Tel. +302310998309, Fax. 2310998374, e-mail:triant@bio.auth.gr

Two *Alectoris* species are found in Greece: a) *Alectoris graeca* (distributed widely in continental Greece) and, b) *Alectoris chukar* (found mostly in Greek islands). In the last years their populations are declining due to various reasons, i.e. habitat change, so the study of the genetic structure of Greek partridges was necessary. The project was supported and financially aided, by D' KOSE (D' Hunting Federation of Greece).

In the present work the evaluation of the genetic variability and differentiation of natural populations of both species was conducted. 342 samples of both species were collected from 39 sites around continental Greece, Greek islands and Cyprus as well as from Serbia, FYROM and Spain (*A. rufa*). The genetic composition of the samples was analyzed using two different molecular techniques: a) **PCR-RFLP** analysis of two mitochondrial DNA regions (control region or D-Loop and cytochrome-b), b) Eleven polymorphic microsatellite loci.

Results show that some of these loci can be utilized for the discrimination and identification of two species of partridge. 34 individuals (11,93% of the Greek samples) were characterized as possible hybrids. These hybridizations were results of previous releases of *Alectoris chukar* partridges that can possibly pollute the gene pool of wild partridge populations. In *A. chukar*, it was shown that significant genetic differentiation exists between its geographic sub-populations. These findings permit us to suggest a management plan for the conservation of the two *Alectoris* species.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ



1.1. ΜΥΘΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Η Μυθολογία θέλει την πέρδικα όμορφη νύφη, της οποίας τα θέλγητρα, ενόχλησαν τη Μητέρα των Θεών, την Ήρα, που τη γκρέμισε από την Ακρόπολη. Η Παλλάδα Αθηνά όμως την λυπήθηκε και τη μεταμόρφωσε σε πουλί για να σωθεί. Αυτό το πουλί γέμισε από τότε τα Ελληνικά βουνά, που αντιλαλούσαν από το κελάηδημά τους.

Αναφορές για το είδος χρονολογούνται από τον 4^ο αιώνα π.Χ., όπου ο Αριστοτέλης στα συγγράμματά του «Περί ζώων Γενέσεως» και «Περί τα Ζώα Ιστορίες» αναφέρει την ύπαρξη δύο συγγενικών ειδών πέρδικας (ορεινή και νησιώτικη) που ζουν στον Ελλαδικό χώρο. Τα είδη ξεχώριζε ο Αριστοτέλης κυρίως από το κελάηδημα τους, γεγονός που επιβεβαιώνει και ο Θεόφραστος. Ο ίδιος συγγραφέας αναφέρει επίσης την ύπαρξη και λευκών (αλφικών) ατόμων.

Η συμβολή και η επίδραση των ειδών στην πνευματική μας ζωή είναι αξιοσημείωτη. Η νησιώτικη πέρδικα κοσμούσε τις εξαιρετικές παραστάσεις των Μινωικών ανακτόρων. Μάλιστα από τότε που πρωτοεμφανίζεται στις κυκλαδικές τοιχογραφίες της αρχαιότητας αποτέλεσε, όπως και η ορεινή, σύμβολο μοναδικής ομορφιάς και ευρωστίας. Έκτοτε, πολλοί άνθρωποι των γραμμάτων και των τεχνών εμπνεύστηκαν τα δημιουργήματά τους (ποιήματα, διηγήματα, πίνακες ζωγραφικής) από την ορεινή πέρδικα. Μάλιστα, η νεότερη λαϊκή ποίηση, αλλά και η λογοτεχνία, αφιερώνουν αμέτρητους στίχους και διηγήματα με προσωποποιημένη την πέρδικα.

1.2. ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ - ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

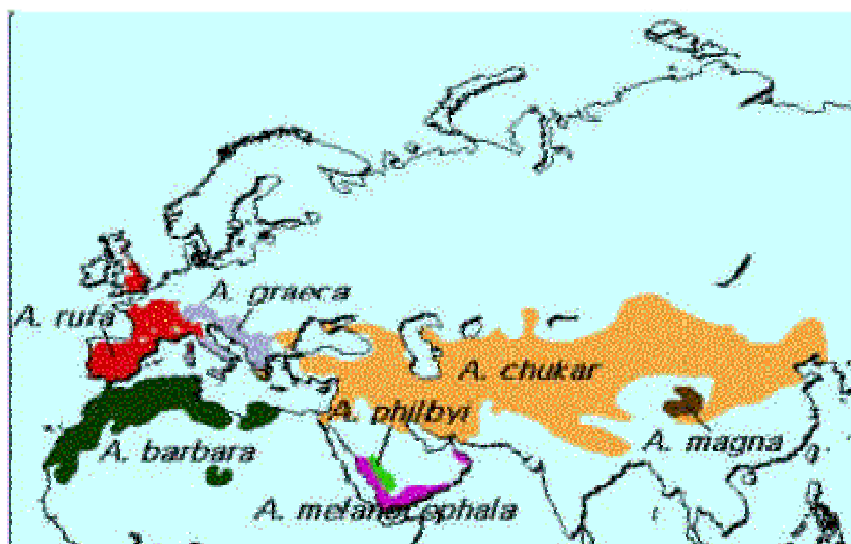
Το γένος *Alectoris* ανήκει στην τάξη των ορνιθόμορφων ή γαλλόμορφων (Galliformes) πτηνών, των οποίων η εμφάνιση ανάγεται στην Παλαιόκαινη εποχή, δηλαδή πριν από περίπου 50-60 εκατομμύρια χρόνια. Αυτή η μεγάλη τάξη περιλαμβάνει 94 γένη με 263 συνολικά είδη. Πολλά είδη αυτής της τάξης έχουν τεράστια οικονομική σημασία για τον άνθρωπο, άλλα είναι εκλεκτά για τους κυνηγούς και μερικά είναι από τα ομορφότερα πουλιά.

Η οικογένεια των Phasianidae και η υπογένεια Perdicinae, όπου ανήκει το γένος *Alectoris*, αριθμούν 204 και 132 είδη, αντίστοιχα, που έχουν παγκόσμια εξάπλωση, σε όλα σχεδόν τα είδη χερσαίων οικοσυστημάτων (ημιέρημοι, στέπες, σαβάνες, δάση, βουνά και καλλιεργημένες εκτάσεις). Οι πέρδικες του γένους *Alectoris* έχουν παρόμοια ανατομικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά, αλλά μπορούν να διακριθούν σε 7 είδη (**Εικ. 1**) με βάση χαρακτηριστικά του

προσώπου, από τα σχέδια του φτερώματος στο λαιμό και από τις φωνές τους, που είναι χαρακτηριστικές για κάθε είδος (Johnsgard 1988). Δύο είδη πέρδικας *Alectoris* απαντώνται στον Ελλαδικό χώρο, η *Alectoris graeca* (ορεινή πέρδικα) και η *Alectoris chukar* (νησιώτικη πέρδικα). Η συστηματική τους κατάταξη δίνεται στον Πίν. 1.

Πίνακας 1. Συστηματική κατάταξη της ορεινής και της νησιώτικης πέρδικας

Βασίλειο:	Animalia
Φύλο:	Chordata
Υποφύλο:	Vertebrata
Κλάση:	Aves
Υποκλάση:	Neornithes
Υπερτάξη:	Neognathae
Τάξη:	Galliformes
Υποτάξη:	Galli
Οικογένεια:	Phasianidae
Υποοικογένεια:	Perdicinae
Γένος:	<i>Alectoris</i>
Είδος:	<i>A. graeca</i> και <i>A. chukar</i>



Εικόνα 1. Γεωγραφική κατανομή των 7 ειδών του γένους *Alectoris* (Randi et al. 1992).

1.3. ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗ ΕΞΑΠΛΩΣΗ

Τα 7 είδη του γένους *Alectoris* εξαπλώνονται στην Αφρική, την Ευρώπη, την Κίνα, τα Ιμαλάια και τη Σαουδική Αραβία (**Εικ. 1**). Αυτά είναι τα εξής:

1. *Alectoris graeca* (**Εικ. 2**), η οποία απαντάται στην Ηπειρωτική Ελλάδα (εκτός της Θράκης), την Αλβανία, τη Β. Ιταλία, την πρώην Νότια Γιουγκοσλαβία και τις Άλπεις.
2. *Alectoris chukar* (**Εικ. 3**), η οποία απαντάται στην Α. Θράκη, νησιά του Αιγαίου και στην κεντρική Ασία, μέχρι τις ακτές του Ειρηνικού. Επίσης έχει γίνει εισαγωγή της στις Η.Π.Α. και τον Καναδά από τον 19^ο αιώνα.
3. *Alectoris barbara* (κ. βραχοπέρδικα), η οποία απαντάται στη Σαρδηνία, τη Μαδέρα, τα Κανάρια νησιά και τη Β. Αφρική (από τη ΒΔ Αίγυπτο μέχρι το Μαρόκο). Στο είδος *Alectoris barbara* έχουν καταγραφεί τέσσερα υποείδη (**Πίν. 2**).

Πίνακας 2. Τα υποείδη του είδους *A. barbara* και οι περιοχές εξάπλωσής τους

Υποείδος	Περιοχή εξάπλωσης
<i>A. barbara koenigi</i> (Reichenow, 1899)	Β.Δ. Μαρόκο
<i>A. barbara barbara</i> (Bonnaterre, 1792)	Β. Μαρόκο, Β. Αλγερία, Σαρδηνία
<i>A. barbara spatzi</i> (Reichenow, 1896)	Λιβύη και Β.Δ. Αίγυπτος
<i>A. barbara barbata</i> (Reichenow, 1896)	Λιβύη και ΒΔ Αίγυπτος

4. *Alectoris magna*, η οποία απαντάται στην Κεντρική Ασία (Μογγολία και Β. και Κ. Κίνα).
5. *Alectoris melanocephala* (κ. Αραβική πέρδικα με δύο υποείδη: *A. m. melanocephala* και *A. m. quichardi*), που απαντάται στις ακτές της νότιας Αραβικής χερσονήσου.
6. *Alectoris philbyi*, που απαντάται στην κεντρική Αραβική χερσόνησο (ΝΔ Σαουδική Αραβία και τη Β. Υεμένη).
7. *Alectoris rufa* (κοινώς κοκκινοπέρδικα, ή κοκκινόλαιμη πέρδικα), που απαντάται στη Νοτιοδυτική Ευρώπη (Ισπανία, Πορτογαλία, Γαλλία και Ιταλία). Το Ευρωπαϊκό είδος *A. rufa* περιλαμβάνει 3 υποείδη (**Πίν. 3**). Το είδος έχει εισαχθεί σε πολλές περιοχές σε όλο τον κόσμο, όπως στα Κανάρια νησιά, στις Αζόρες, στην Αγγλία, στη Νέα Ζηλανδία και σε κάποιες περιοχές της Βόρειας Αμερικής. Ο Ευρωπαϊκός της πληθυσμός είναι περίπου 2.500.000 – 5.000.000 ζευγάρια. Υπάρχει βέβαια μια δυσκολία στην καταμέτρηση λόγω

του μεγάλου αριθμού πουλιών εκτροφής που απελευθερώνονται. Από το 1960 οι άγριοι πληθυσμοί του είδους παρουσιάζουν μείωση σε όλη την εξάπλωσή τους.

Πίνακας 3. Τα υποείδη του είδους *A. rufa* και οι περιοχές εξάπλωσής τους

Υποείδος	Περιοχή εξάπλωσης
<i>A. rufa rufa</i> (Linnaeus 1758)	Γαλλία, Β.Δ. Ιταλία, Έλβα και Κορσική
<i>A. rufa hispanica</i> (Seoane, 1894)	Β. & Δ. Ιβηρική χερσόνησο
<i>A. rufa intercedens</i> (A. E. Brehm 1857)	Α. & Ν. Ιβηρική χερσόνησο

Τα είδη του γένους *Alectoris* διαφοροποιήθηκαν μεταξύ 6 και 2 εκατομμύρια χρόνια πριν, πιθανώς λόγω διασποράς των γενετικών γραμμών και απομόνωσης των πληθυσμών ακολουθώντας τις οικολογικές και κλιματικές αλλαγές (**Randi et al. 1992**). Η κατανομή των ειδών του γένους *Alectoris* είναι αλλοπατρική (**Εικ. 1 και 4**), με εξαίρεση τα δύο αραβικά είδη *A. melanocephala* και *A. philbyi*, τα οποία είναι μερικά συμπατρικά στη Σαουδική Αραβία και την Υεμένη (**Watson 1962a**). Παραπατρική εξάπλωση εμφανίζουν τα είδη *A. rufa* και *A. graeca* σε μια ζώνη εξάπλωσής τους στις γαλλικές Άλπεις, πιθανώς τα είδη *A. magna* και *A. chukar* στην κεντρική Κίνα και τα είδη *A. graeca* και *A. chukar* στα όρια Ελλάδας-Βουλγαρίας (**Watson 1962a, Bernard-Laurent 1984**).

2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΑ ΔΥΟ ΕΙΔΗ ΠΕΡΔΙΚΑΣ ΤΟΥ ΕΛΛΑΔΙΚΟΥ ΧΩΡΟΥ

Τα δύο είδη του γένους *Alectoris* (ορεινή = *A. graeca*, **Εικ. 2** και νησιώτικη = *A. chukar*, **Εικ. 3**) που συναντώνται στον Ελλαδικό χώρο (**Εικ. 1 και 4**), αποτελούν βασικά, σημαντικά και δημοφιλή θηράματα για χιλιάδες κυνηγούς σε όλη τη χώρα. Το κυνήγι της ορεινής πέρδικας, για πολλούς κυνηγούς, θεωρείται το πιο δύσκολο και το πιο προκλητικό.



Εικόνα 2. *A. graeca* ή ορεινή πέρδικα



Εικόνα 3. *A. chukar* ή νησιώτικη πέρδικα.

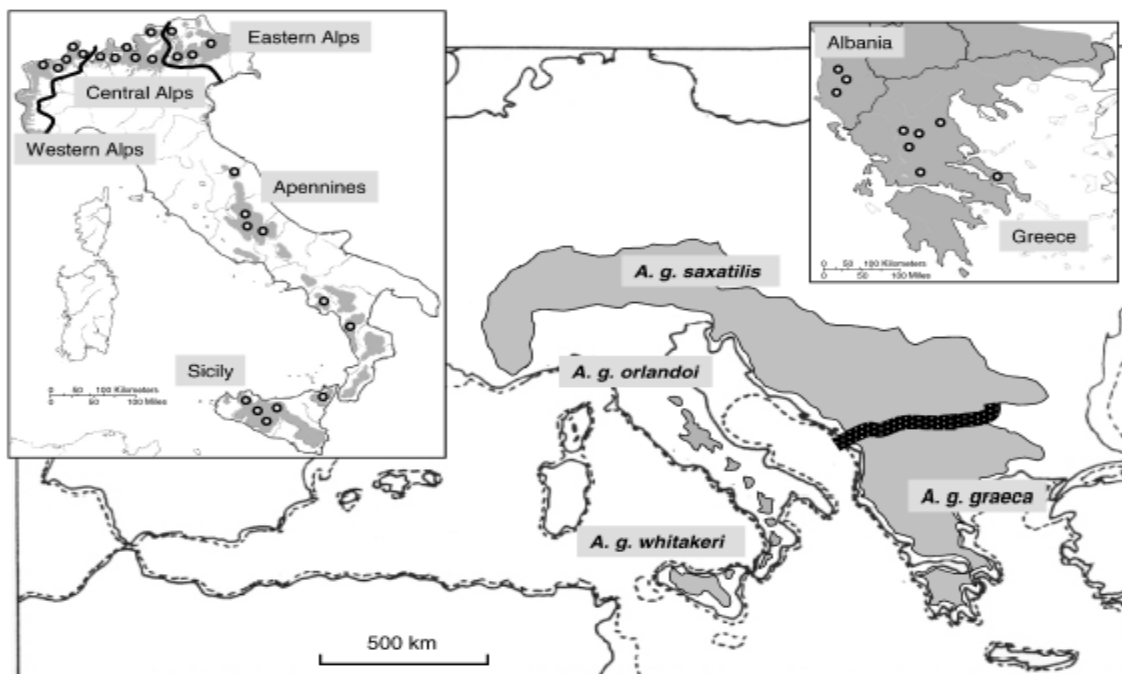
Φωτογραφίες από Ε. Χατζηνίκο (Εικ. 2) και Λ. Στεφάνου (Εικ. 3)

2.1. *ALECTORIS GRAECA*

A. Ονομασία: Ελληνική πέρδικα, Πετροπέρδικα, Ορεινή ή Βουνίσια πέρδικα ή επιστημονικά *Alectoris graeca* (**Εικ. 2**). Είναι ένα από τα πιο αγαπημένα και ίσως το πιο τραγουδισμένο από τα ενδημικά είδη της άγριας πανίδας της χώρας μας.

B. Υποείδη και Γεωγραφική εξάπλωση. Το είδος *Alectoris graeca* ζει στις ορεινές περιοχές των Βαλκανίων και των Άλπεων. Με βάση μορφολογικές διαφοροποιήσεις στο χρωματισμό του πτερώματος και του σωματικού μεγέθους διαχωρίζεται σε τέσσερα υποείδη (**Randi et al. 2003**), τα οποία έχουν την ακόλουθη εξάπλωση (**Εικ. 1 και 4**):

Το υποείδος *A. graeca graeca* (Meisner 1804), θεωρείται ενδημικό είδος της χώρας μας. Εξαπλώνεται στη Βαλκανική χερσόνησο και κυρίως στην Αλβανία, τη Νότια Βουλγαρία, σε ορισμένα κράτη της τέως Γιουγκοσλαβικής δημοκρατίας και στην ηπειρωτική Ελλάδα, από την Ανατολική Μακεδονία μέχρι την Πελοπόννησο, όπως επίσης και στα νησιά Κεφαλονιά, Λευκάδα, Ιθάκη, Παξοί, Κύθηρα και Εύβοια. Το υψόμετρο στο οποίο εντοπίζεται ποικίλει από τα 50 μ έως την Αλπική ζώνη (Papaevangelou 1979, Handrinos and Acritotis 1997).



Εικόνα 4. Κατανομή των 4 υποειδών του είδους *A. graeca*. (από Randi *et al.* 2003)

Το υποείδος *A. graeca saxatilis* (Bechstein 1805) συναντάται στην περιοχή των ΒΔ Βαλκανίων, τα όρη των Δυναρικών Άλπεων και στις Άλπεις (Camp and Simmons 1980).

Το υποείδος *A. graeca orlandoi* (Schiebel 1934) έχει περιορισμένη εξάπλωση στην κεντρική και νότια Ιταλία και τα Απέννινα όρη (Priolo 1984).

Το υποείδος *A. graeca whitakeri* είναι ενδημικό της Σικελίας (Camp and Simmons 1980).

Γ. Μορφολογία: Η ορεινή πέρδικα είναι ένα μέσου μεγέθους πουλί, με άνοιγμα φτερών από 45 έως 55 εκ. και μήκος σώματος ενηλίκου από 30 έως 35 εκατοστά. Το βάρος της γενικά ποικίλει

ανάλογα με την εποχή και το βιότοπο και κυμαίνεται από 500 έως 900 gr για τα αρσενικά και από 430 έως 750 gr για τα θηλυκά.

Στο επάνω μέρος του σώματος της και στο κεφάλι της το φτέρωμα της είναι χρώματος ανοιχτού μπλε-γκρίζου με μια αμυδρή κοκκινωπή χροιά στην πλάτη, ενώ το στήθος και η κοιλιά της είναι γκριζωπού χρώματος. Το κεφάλι της έχει μεσαίο μέγεθος και το ράμφος της είναι κοντό και ελαφρώς κεκλιμένο (γαμψό) με κόκκινο χρώμα. Τα μάτια της περιβάλλονται από οφθαλμικό δακτύλιο ιδίου χρώματος με το ράμφος. Γύρω από το λευκό λαιμό της υπάρχει μια μαύρου χρώματος λωρίδα σε σχήμα U, η οποία συνηθίζεται να αναφέρεται ως *χαλινός*. Ο χαλινός αυτός ξεκινά από το κάτω μέρος του ράμφους της και σχεδόν το περικλείει, περνά πάνω από τα μάτια της ως φρύδι και καταλήγει χαμηλά στον λαιμό της, δημιουργώντας χαρακτηριστικό περιλαίμιο σχήματος U.

Στα πλευρά της βρίσκονται 12 με 13 οριζόντιες λωρίδες μαύρου χρώματος που εναλλάσσονται με άλλες τόσες υπόλευκου, ενώ τα πόδια της είναι κόκκινου χρώματος. Η αρσενική πέρδικα μετά από την ενηλικίωση της, παρουσιάζει στο πίσω μέρος και περίπου στο μέσω του ταρσού, μια διόγκωση σαν κότσι, απ' όπου προήλθε και η λαϊκή ονομασία «κότσος». Ένα από τα πιο χαρακτηριστικά γνωρίσματα της ορεινής πέρδικας είναι η λεπτή και διαπεραστική μεταλλική φωνή της (**Handrinos and Acriotis 1997**).

4. Βιότοπος: Ο βιότοπος της ορεινής πέρδικας συνήθως αποτελείται από χαμηλά πετρώδη υψίπεδα και οροπέδια σε μεγάλο υψόμετρο, τα οποία καλύπτονται από ποώδη βλάστηση και χαμηλούς θάμνους. Επίσης απαντά και σε αραιά δασωμένες βουνοπλαγιές. Παλιότερα η εξάπλωση της έφτανε μέχρι το επίπεδο της θάλασσας, σήμερα, όμως, έχει περιοριστεί σε πιο μεγάλα υψόμετρα ή σε δύσβατες περιοχές μικρότερου υψομέτρου (**Handrinos and Acriotis 1997**). Συνήθως πραγματοποιεί τοπικές μετακινήσεις μεταξύ των βιοτόπων με μεγάλο υψόμετρο που τους χρησιμοποιεί το καλοκαίρι και άλλους με μικρότερο για το χειμώνα. Γενικά χρησιμοποιεί μεγάλη ποικιλία βιοτόπων και υψομέτρων από τις Άλπεις, μέχρι το επίπεδο της θάλασσας, στην Εύβοια, τα Ιόνια νησιά και τη Σικελία (**Παπαγεωργίου 1990**).

Ε. Τροφικές συνήθειες: Η ορεινή πέρδικα είναι πουλί παμφάγο, με ιδιαίτερη αδυναμία στους σπόρους, μικρούς βολβούς και βλαστούς διάφορων φυτών. Απαραίτητη για τη διατροφή της, ειδικά των νεοσσών, είναι η λήψη πρωτεϊνών, την οποία εξασφαλίζει τρώγοντας διάφορα έντομα

όπως μυρμήγκια, ακρίδες και μικρά σκουλήκια. Μαζί με την τροφή της καταπίνει και μικρά πετραδάκια που βοηθούν στην πέψη της τροφής αλλά και στην πρόσληψη ασβεστίου. Το νερό που είναι απαραίτητο για την επιβίωσή της, το βρίσκει σε νερόλακκους και σχισμές που λειτουργούν ως δεξαμενές.

ΣΤ. Συμπεριφορά: Είναι είδος κοινωνικό και ζει κατά ομάδες 10 – 15 ατόμων, ενώ κατά τη διάρκεια του χειμώνα δύο ή περισσότερες τέτοιες ομάδες μπορεί να συνενωθούν και να συγκροτήσουν ένα κοπάδι που μπορεί να φτάσει τα 40 άτομα. Τα κοπάδια αυτά αποτελούνται συνήθως από ζευγάρια με τα μικρά τους καθώς και από ζευγάρια που δεν είχαν επιτυχημένη αναπαραγωγή. Η κοινωνική οργάνωση με τη συγκεκριμένη δομή, δηλαδή του κοπαδιού, αυξάνει τις πιθανότητες επιβίωσης των ατόμων που την απαρτίζουν, εφόσον επιτυγχάνεται αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση των θηρευτών. Τα κοπάδια έχουν συνήθως αρχηγό, ο οποίος επιλέγει και το σημείο που θα κουρνιάσει το κοπάδι τη νύχτα. Οι ήχοι που παράγουν τα άτομα του κοπαδιού χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με τη λειτουργία που επιτελούν: για κοινωνική επαφή, λόγω ανταγωνισμού και για αναπαραγωγικούς σκοπούς. Χαρακτηριστικό στοιχείο της συμπεριφοράς του κοπαδιού αποτελεί το κελάηδημά τους νωρίς το πρωί και αργά το απόγευμα. Πέρα από τη λήψη τροφής, κατά τη διάρκεια της ημέρας ασχολούνται με την περιποίηση του πτερώματός τους και τα αμμόλουτρα. Τη νύχτα κουρνιάζουν σε ανοιχτά σημεία του εδάφους (Παπαγεωργίου 1990).

Ζ. Αναπαραγωγή: Είναι μονογαμικό είδος, αν και έχουν παρατηρηθεί περιπτώσεις όπου το αρσενικό, ανάλογα με το κοπάδι, μπορεί να ζευγαρώσει με περισσότερες θηλυκές. Τον Ιανουάριο και Φεβρουάριο οι ομάδες διαλύονται και σχηματίζονται τα ζεύγη. Πρώτα δημιουργούνται τα ζεύγη που είναι μεγαλύτερα σε ηλικία και το καθένα έχει συγκεκριμένη περιοχή χωροκράτειας την οποία υπερασπίζεται από τα υπόλοιπα άτομα του είδους. Το θηλυκό φωλιάζει στο έδαφος ή σε κοιλότητες του εδάφους στρώνοντας ξερά χόρτα και πούπουλα. Το θηλυκό και το αρσενικό βρίσκονται συνέχεια μαζί και αν παρενοχληθούν πετούν μαζί και στη συνέχεια αναζητούν το ένα το άλλο καθαρίζοντας χαρακτηριστικά.

Η ωοτοκία ξεκινά το τελευταίο δεκαήμερο του Φεβρουαρίου στις περιοχές με χαμηλό υψόμετρο και δέκα ημέρες έως ένα μήνα αργότερα στις υψηλότερες ανάλογα με την αύξηση του υψομέτρου. Το θηλυκό γεννά 10 – 14 αυγά τα οποία και επωάζει για διάστημα 24 – 26 ημερών.

Κατά τη διάρκεια της επώασης παρατηρείται στο θηλυκό η κηλίδα επώασης, μια γυμνή από φτερά περιοχή στο στήθος η οποία βοηθά στην καλύτερη μετάδοση της θερμότητας από το σώμα του θηλυκού στα επωαζόμενα αυγά. Οι νεοσσοί βαδίζουν σχεδόν αμέσως και κατά τις πρώτες ημέρες της ζωής τους τρέφονται με τροφή ζωικής προέλευσης. Οι γονείς συνοδεύουν πάντα τα μικρά τους και τα ειδοποιούν με χαρακτηριστική φωνή σε περίπτωση κινδύνου. Τότε αυτά καλύπτονται στη βλάστηση και ο θηλυκός κυρίως γονιός προσπαθεί να απομακρύνει τον εισβολέα. Οι νεοσσοί είναι ικανοί να πετάξουν στην ηλικία των τεσσάρων εβδομάδων και είναι αναπαραγωγικά ώριμοι τον επόμενο χρόνο (**Παπαγεωργίου 1990**).

H. Εχθροί-Άμυνα: Κύριοι φυσικοί εχθροί είναι το κουνάβι, η αλεπού και τα αρπακτικά πτηνά. Σε έρευνα που έγινε στην Ιταλία αποδείχθηκε ότι οι περισσότερες απώλειες, σε απελευθερωμένες ορεινές πέρδικες εκτροφείου οφείλονταν στην αλεπού, η οποία εκπαιδεύεται στο πώς να επιτίθεται στις πέρδικες. Οι απώλειες από αρπακτικά πτηνά παρουσίαζαν αύξηση την περίοδο του Φθινοπώρου. Ο πληθυσμός των περδίκων μπορεί επίσης να υποστεί μεγάλες απώλειες και από αβιοτικούς παράγοντες, όπως οι αιφνίδιες αλλαγές του καιρού, ιδιαίτερα κατά την εποχή της αναπαραγωγής και της ανατροφής των νεοσσών (**Peppas 2003**).

Η διαφυγή της πέρδικας είναι ένα από σημαντικότερα προσόντα της. Χρησιμοποιεί περισσότερο τα πόδια για τη διαφυγή και την απομάκρυνση της από τα ενοχλήματα των εχθρών της. Το πέταγμα της επί το πλείστον είναι προμελετημένο, κάνει λίγα βηματάκια μέσα στους γνωστούς της διαδρόμους, διαλέγει το σημείο εκτίναξης, βάζοντας πίσω της το προπέτασμα και πετά. Το πέταγμα διαφυγής της, το κανονίζει ανάλογα με την περίσταση. Σιγανό, αθόρυβο και πονηρό ή το κάνει τρανταχτό και ορμητικό, μεγάλης ταχύτητας για να τρομάζει τους εχθρούς της.

2.2. ALECTORIS CHUKAR

A. Ονομασία: Νησιώτικη πέρδικα. Θεωρείται η βασίλισσα των ελληνικών νησιών (Εικ. 3).



Εικόνα 5. Στην Ελλάδα υπάρχουν δύο υποείδη της νησιώτικης πέρδικας (*Alectoris chukar*).

Αριστερά: *A. c. cypriotes* (Φωτογραφία από Λ. Στεφάνου) και **δεξιά** *A. chukar kleini* (www.turkiyeavcilari.com/mehmet/keklik1.htm)

B. Υποείδη και Γεωγραφική εξάπλωση. Το είδος *Alectoris chukar* είναι το πλέον διαδεδομένο είδος πέρδικας σχεδόν σε όλο τον κόσμο, οι πραγματικοί όμως άγριοι πληθυσμοί της βρίσκονται κυρίως στις ορεινές περιοχές της Μέσης Ανατολής και της Ανατολικής και Κεντρικής Ασίας (Εικ. 1 και Πίν. 4). Συναντάται επίσης στη Νοτιοανατολική Βουλγαρία, στη Μικρά Ασία και στη Μαντζουρία και την Κίνα. Έχουν αναγνωριστεί 14 (κατ' άλλους 16) υποείδη της *A. chukar*. Τα υποείδη του είδους καθώς και η εξάπλωσή τους φαίνονται στον Πίν. 4.

Στην Ελλάδα υπάρχουν δύο υποείδη της **νησιώτικης πέρδικας (*Alectoris chukar*)** (Εικ. 5). Το ένα (*A. c. cypriotes*) εξαπλώνεται στα νησιά του Αιγαίου, την Κρήτη και την Κύπρο, και το άλλο (*A. c. kleini*) στη Θράκη όπου προσεγγίζει τα όρια εξάπλωσης της ορεινής πέρδικας στην περιοχή της Κομοτηνής και σε απόσταση 40 Km (Watson 1962a, Handrinos and Akriotis 1997). Παρατηρήθηκε σε υψόμετρα από 50-2.000 μέτρα (Watson 1962 a, b).

Πίνακας 4. Τα υποείδη του είδους *A. chukar* και η εξάπλωσή τους

Υποείδος	Περιοχή εξάπλωσης
<i>A. chukar chukar</i> (J. E. Gray, 1830)	Αφγανιστάν και Νεπάλ
<i>A. chukar cypriotes</i> (Hartert, 1917)	Ελλάδα (νησιά Ν. Αιγαίου, Ρόδος, Κρήτη, Κύπρος), Ν.Α. Βουλγαρία, Μικρά Ασία, Μέση Ανατολή
<i>A. chukar dzungarica</i> (Sushkin, 1927)	Α. Θιβέτ, Αλτάια όρη και Β.Δ. Μογγολία
<i>A. chukar fallax</i> (Sushkin, 1927)	Β.Δ. Κίνα
<i>A. chukar falki</i> (Hartert, 1917)	Καζακστάν, Β. Αφγανιστάν ως Β.Δ. Κίνα
<i>A. chukar kleini</i> (Hartert, 1925)	Ελλάδα (Θράκη)
<i>A. chukar koroviakiovi</i> (Zarudny, 1914)	Α. Ιράν ως το Πακιστάν
<i>A. chukar kurdestanika</i> (Meinertzen, 1923)	Καύκασος, νότια ως το Ιράν
<i>A. chukar pallescens</i> (Hume, 1873)	Β.Α. Αφγανιστάν, Β.Δ. Ινδία ως το Θιβέτ
<i>A. chukar pallida</i> (Hume, 1873)	Β.Δ. Κίνα, Θιβέτ, Αφγανιστάν
<i>A. chukar potanini</i> (Sushkin, 1927)	Δ. Μογγολία
<i>A. chukar pubescens</i> (Swinhoe, 1871)	Β.Α. Κίνα ως τη Μογγολία
<i>A. chukar shestoperovi</i> (Sushkin, 1927)	Καζακστάν
<i>A. chukar sinaika</i> (Bonaparte, 1858)	Β. Συριακή έρημος, Ισραήλ, ως τη Χερσόνησο του Σινά
<i>A. chukar subpallida</i> (Zarudny, 1914)	Τατζικιστάν
<i>A. chukar werai</i> (Zarudny and Loudon, 1904)	Α. Ιράκ και Ν.Δ. Ιράν

Γ. Μορφολογία: Η νησιωτική πέρδικα (**Εικ. 3 και 5**) είναι ένα πουλί μέσου μεγέθους, με μήκος σώματος από 30 έως 35 cm, άνοιγμα φτερών από 45 έως 52 cm και βάρος που κυμαίνεται από 450 έως 700 gr για τα θηλυκά και από 510 έως 800 gr για τα ελαφρώς μεγαλύτερα αρσενικά, αν και κατά περιοχές έχουν παρατηρηθεί και αρκετά μεγαλύτερα σε βάρος αρσενικά (850 gr). Ο χρωματισμός του φτερώματος και στα δυο φύλα είναι ο ίδιος. Το επάνω μέρος του σώματος της έχει χρώμα καφέ – γκριζο, όπως και το επάνω μέρος του κεφαλιού και ο αυχένας της, ενώ ο λαιμός της έχει χρώμα υπόλευκο με σταχτο-κόκκινες αποχρώσεις. Το στήθος της στο επάνω μέρος του έχει επίσης γκριζωπό χρώμα, ενώ η κοιλιά της είναι χρώματος ανοιχτού καφέ όπως και το κάτω μέρος των φτερών της ουράς της. Το ράμφος της είναι κοντό και κόκκινου χρώματος. Ο χαλινός της, το τμήμα ανάμεσα στη βάση του ματιού, είναι λευκός σε V. Στα πλευρά της βρίσκονται λιγότερες από ότι στην ορεινή πέρδικα οριζόντιες λωρίδες μαύρου χρώματος (8 με 10), που εναλλάσσονται με άλλες τόσες υπόλευκες.

Ένα από τα πιο χαρακτηριστικά γνωρίσματα της νησιωτικής πέρδικας είναι η φωνή της, με το δυνατό «κακάρισμα» της, κάκαρα-κακ κάκαρα κακ, το οποίο χρησιμεύει για τη διάκρισή της από την ορεινή πέρδικα (Del Hoyo and Sagratal 1994, Christensen 1996, National Geographic Society 1999).

Δ. Βιότοπος: Ζει σε χαμηλότερα υψόμετρα, σε σχέση με την ορεινή, τα οποία κυμαίνονται από 50 έως 2000 μ (στο όρος Ίδη της Κρήτης), αλλά στη Θράκη βρίσκονται συνήθως στα 100 – 650 μ (Watson 1962a, 1962b). Προτιμά τα χαμηλά υψόμετρα στην Ευρώπη, αλλά στην Κύπρο φτάνει μέχρι τα 1.900 μ, στην Τουρκία μέχρι τα 2.800 μ και στα Ιμαλάια μέχρι τα 4.000 μ (Παπαγεωργίου 1990). Προτιμά τις ηλιόλουστες πλαγιές καλυμμένες με φρύγανα και μακεία βλάστηση, οι οποίες βρίσκονται κοντά σε πηγές νερού. Ο τυπικός της βιότοπος μπορεί ακόμα να περιλαμβάνει πετρώδη κράσπεδα, αμπελώνες, ελαιώνες και άλλες αγροτικές καλλιέργειες (Handrinos and Acriotis 1997).

Ε. Τροφικές συνήθειες: Οι διατροφικές της συνήθειες είναι όμοιες με αυτές της ορεινής, με τη διαφορά ότι η νησιωτική πέρδικα είναι ιδιαίτερα ανθεκτική στην ξηρασία.

ΣΤ. Συμπεριφορά: Η νησιώτικη πέρδικα είναι από τα πουλιά που ζουν σε κοπάδια. Αυτά κυρίως αποτελούνται από κάποιους ενηλίκους και απογόνους τους. Το κάθε κοπάδι καταλαμβάνει τον δικό του χώρο σε μια περιοχή, την οποία τα αρσενικά θα υπερασπιστούν πολύ έντονα και θα την αφήσουν μόνο αν συντρίξουν σοβαροί εξωγενείς παράγοντες. Δε μεταναστεύουν και οι οποιεσδήποτε εποχιακές μετακινήσεις τους είναι συνήθως μόνο υψομετρικές.

Ζ. Αναπαραγωγή: Η συμπεριφορά και οι συνήθειες ζευγαρώματός της παρουσιάζουν πολλές διαφορές από την ορεινή. Η περίοδος αναπαραγωγής της αρχίζει τον Φεβρουάριο – Μάρτιο οπότε και σχηματίζονται τα ζεύγη. Οι ερωτικές επιδείξεις μπορούν να επεκταθούν μέχρι και τον Ιούνιο. Το θηλυκό γεννά 6-20 αυγά των οποίων η επώαση διαρκεί 22 – 24 μέρες. Οι νεοσσοί βαδίζουν σχεδόν αμέσως και μπορούν να πετάξουν μετά από 3 εβδομάδες. Και τα δύο φύλα φτάνουν σε αναπαραγωγική ωριμότητα τον επόμενο χειμώνα. Η νησιωτική πέρδικα, εξαιτίας του χαμηλότερου υψομέτρου στο οποίο ζει, μπορεί - κάτω από ευνοϊκές συνθήκες - να πραγματοποιήσει και δεύτερη γέννα.

Η. Εκτροφή – Οικονομική σπουδαιότητα: Η νησιώτικη πέρδικα εκτρέφεται σε ευρεία κλίμακα και απελευθερώνεται σχεδόν σε όλη την Ελλάδα, τόσο μέσα στα όρια της φυσικής της εξάπλωσης όσο και εκτός αυτών, συχνά πολύ κοντά σε πληθυσμούς της ορεινής πέρδικας (**Βλέπε Παραρτήματα ΙΑ και ΙΒ**). Από τα στοιχεία του **Παραρτήματος ΙΑ** προκύπτει ότι στη χώρα μας λειτουργούν δέκα ελεγχόμενες κυνηγετικές περιοχές. Σε αυτές επιτρέπεται το κυνήγι σε συγκεκριμένη χρονική περίοδο. Οι περισσότερες από αυτές εμπλουτίζονται κάθε χρόνο με νησιώτικες πέρδικες, οι οποίες παράγονται στα κρατικά εκτροφεία. Ερωτηματικά παραμένουν για το γενετικό υλικό των απελευθερώσεων, την επιβίωση των ατόμων που απελευθερώνονται και την πιθανότητα διασταύρωσής τους με την ορεινή πέρδικα. Η νησιώτικη πέρδικα, λόγω της παραμονής της στα εκτροφεία, είναι ένα μέτρια δημοφιλές θήραμα στην Ηπειρωτική Ελλάδα.

Πίνακας 5. Μορφολογικές, ηθολογικές και οικολογικές διαφορές μεταξύ *A. graeca* - *A. chukar*

<i>Alectoris graeca</i>	<i>Alectoris chukar</i>
Ο χαλινός είναι μαύρος	Ο χαλινός είναι μπεζ
Έχει γκριζωπή ράχη	Έχει καστανόγκριζη ράχη
Οι ωτικές χώρες είναι γκριζωπές	Οι ωτικές χώρες είναι καστανές
Μαύρο περιλαίμιο σε σχήμα V	Μαύρο περιλαίμιο σε σχήμα U
Στα πλευρά υπάρχουν 12-13 λωρίδες μαύρου και λευκού χρώματος	Στα πλευρά υπάρχουν 8-10 φαρδιές ραβδώσεις
Βιότοπος: Στερεά, Πελοπόννησος, Θεσσαλία, Ήπειρος, Μακεδονία, Νησιά Ιονίου, Κύθηρα	Βιότοπος: Νησιά Αιγαίου, Κρήτη, Αν. Θράκη
Υψόμετρα 50 – 2.500 μέτρων	Υψόμετρο 50-2.000 μέτρων
Διαπεραστική μεταλλική φωνή – 3 κατηγορίες ήχων	Δυνατή φωνή – μοιάζει με κακάρισμα κότας
Περίοδος αναπαραγωγής: Μάρτιος -Απρίλιος – Μάιος – Ιούνιος – Ιούλιος – Αύγουστος (έως και την απεξάρτηση των νεαρών)	Περίοδος αναπαραγωγής: Φεβρουάριος - Μάρτιος - Απρίλιος – Μάιος – Ιούνιος – Ιούλιος (έως και την απεξάρτηση των νεαρών)
Λευκή λωρίδα περιβάλλει το μέτωπο	Λευκή λωρίδα δεν περιβάλλει το μέτωπο

2.3 ΔΙΑΦΟΡΕΣ *A. graeca*- *A. chukar*

Τα δύο είδη του γένους *Alectoris* που συναντώνται στον Ελλαδικό χώρο (**Εικ. 2, 3 και 5**) έχουν κοινά ανατομικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά. Για τη διάκρισή τους (**Πίν. 5**) χρησιμοποιούνται διάφορα μορφολογικά (π.χ. χρωματικά και σχηματικά πρότυπα του

πτερώματος, χαρακτηριστικά του προσώπου), ηθολογικά και οικολογικά χαρακτηριστικά. Ανάμεσα στους ηθολογικούς χαρακτήρες εξέχουσα θέση κατέχει το κελάηδημά τους, το οποίο επιτρέπει τη σαφή και αξιόπιστη διάκριση των δύο ειδών (**Johnsgard 1988**). Σήμερα ως διαγνωστικοί χαρακτήρες χρησιμοποιούνται επίσης τα χρωμοσώματα (κυτταρογενετικές μεθοδολογίες), καθώς επίσης κατάλληλοι δείκτες DNA.

2.4. ΥΒΡΙΔΙΣΜΟΣ ΑΝΑΜΕΣΑ ΣΤΑ ΕΙΔΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ *ALECTORIS*

Πολλές μελέτες έχουν τεκμηριώσει ότι στο γένος *Alectoris* λαμβάνουν χώρα φαινόμενα φυσικού υβριδισμού. Η ικανότητα υβριδοποίησης αποδίδεται κυρίως στη συντηρητική μορφολογική εξέλιξη και στη διατήρηση των προγονικών χαρακτήρων και όχι στην ατελή ειδογένεση (**McKittrick and Zink 1988**).

Το είδος π.χ. *A. rufa* υβριδίζει με την *A. graeca saxatilis* στα όρια εξάπλωσης τους στις Νότιες Γαλλικές Άλπεις. Έτσι έχει δημιουργηθεί ένας φυσικός πληθυσμός υβριδίων ο οποίος συνυπάρχει στον ίδιο βιότοπο με τους πληθυσμούς των δύο ειδών *A. graeca saxatilis* και *A. rufa* (**Bernard – Laurent 1984, Bernard – Laurent and De Franceschi 1994, Randi and Bernard – Laurent 1999**). Επίσης, περιπτώσεις φυσικού υβριδισμού έχουν αναφερθεί για τα είδη *A. graeca* και *A. chukar kleini* στην οροσειρά της Ροδόπης στη Θράκη (**Dragoev 1974**), ενώ έχει καταγραφεί άλλη μια ζώνη υβριδισμού ανάμεσα στο υποείδος *A. graeca* με την *A. chukar* στη Βουλγαρία (**Petrov et al. 1969**). Επιπλέον, φαινόμενα υβριδισμού έχουν παρατηρηθεί μεταξύ *A. chukar* και *A. magna*, καθώς επίσης ανάμεσα στα είδη *A. rufa* και *A. chukar* στην Ιταλία (**Baratti et al. 2005**). Ο τελευταίος υβριδισμός συνέβη διότι τις τελευταίες δεκαετίες νησιώτικες πέρδικες απελευθερώνονται (για κυνήγι) κατά μήκος των περιοχών που κατανέμεται η κοκκινοπέρδικα και έτσι εμφανίστηκαν υβρίδια *A. rufa* x *A. chukar*.

Εκτός όμως από τον φυσικό υβριδισμό λαμβάνει χώρα και αυτός των εκτροφείων. Η κοκκινοπέρδικα, η νησιώτικη πέρδικα και η ορεινή υβριδίζονται εύκολα πέρα από τη φύση και σε αιχμαλωσία σε εκτροφεία περδικών (**Bernard – Laurent and De Franceschi 1994**). Ο Μανιός (**2003**) στη διδακτορική του διατριβή απέδειξε ότι η νησιώτικη πέρδικα (*A. c. cypriotes*) διασταυρώνεται με την ορεινή (*A. graeca graeca*) τόσο στη φύση όσο και κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες και προκύπτουν γόνιμα υβρίδια. Γι' αυτό το λόγο έχει πια απαγορευθεί η απελευθέρωση εκτρεφόμενων ατόμων νησιωτικής πέρδικας σε περιοχές που βρίσκονται μέσα στα όρια

εξάπλωσης της ορεινής πέρδικας. Επιπλέον, υβριδισμός διαπιστώθηκε ανάμεσα στο είδος *A. rufa* με το είδος *A. barbara* στην αιχμαλωσία και τη φύση (**Gonzalez et al. 2005**).

Μάλιστα, εξαιτίας της προσαρμοστικότητάς τους στην αιχμαλωσία, η παραγωγή υβριδίων ανάμεσα στα είδη *A. graeca* με *A. chukar* και *A. chukar* με *A. rufa* αποτελεί κοινή πρακτική σε πολλά Ευρωπαϊκά εκτροφεία (**Baratti et al. 2005**). Μερικά γεγονότα τα οποία συνέβησαν μέχρι τώρα και αξίζει να μνημονευτούν είναι τα εξής:

- υβρίδια *A. rufa* x *A. chukar* απελευθερώνονταν κυρίως στο Ηνωμένο Βασίλειο, τη Γαλλία και την Ιταλία. Οι αγρότες παρακινήθηκαν να το κάνουν αυτό λόγω του κέρδους που ακολουθεί την εκτροφή υβριδίων που μοιάζουν πολύ στην κοκκινοπέρδικα, μιας και αυτά πουλιούνται είτε για εμπλουτισμό, είτε ως κρέας για κατανάλωση. Πολλοί λίγοι μορφολογικοί δείκτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να διαπιστωθούν τα υβρίδια πρώτης γενιάς μεταξύ *A. rufa* x *A. chukar* (**Wilkinson 1987, 1991**).
- το υβρίδιο *A. rufa* x *A. graeca* είναι ακόμα η μεγαλύτερη απειλή για τη διατήρηση της κοκκινοπέρδικας στην Ισπανία.

2.5. ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΗΣ ΠΕΡΔΙΚΑΣ ΣΤΗ ΧΩΡΑ ΜΑΣ

ΚΥΡΙΕΣ ΑΠΕΙΛΕΣ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΦΥΣΙΚΟΥΣ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥΣ ΤΗΣ ΠΕΡΔΙΚΑΣ

Τα **τέσσερα** είδη του γένους *Alectoris* της Μεσογείου, δηλαδή η κοκκινοπέρδικα (*A. rufa*), η ορεινή πέρδικα (*A. graeca*), η βραχοπέρδικα (*A. barbara*) και η νησιώτικη (*A. chukar*) είναι είδη μεγάλης θηρευτικής αξίας. Τα είδη αυτά συμπεριλαμβάνονται στον Ευρωπαϊκό Κατάλογο Διατήρησης (SPEC - Species of European Conservation Concern), και ανήκουν στην κατηγορία των τρωτών (RLP, RP, CK) ή ακόμα και των κινδυνευόντων (BP) ειδών (**Tucker and Heath 1994**). Μάλιστα πολλά είδη του γένους *Alectoris* θεωρούνται απειλούμενα με βάση κανονισμούς της Ευρωπαϊκής Ένωσης (79/409 CEE Ap. 2/I, 3/I; BERN Ap. 3), κυρίως εξαιτίας της μεγάλης μείωσης των πληθυσμών τους.

Οι κυριότεροι βιότοποι της πέρδικας είναι οι ανοιχτοί δασότοποι, οι βοσκότοποι και οι αμπελώνες που δημιουργήθηκαν τις τελευταίες χιλιετίες ως αποτέλεσμα των ανθρώπινων δραστηριοτήτων που αφορούσαν τη γεωργία και τη βόσκηση (**Camp and Simmons 1980**). Τα δύο είδη, στο παρελθόν, συνυπήρξαν αρμονικά με τον άνθρωπο ευεργετούμενα από τις παραδοσιακές μορφές γεωργίας και κτηνοτροφίας. Οι ήπιες αυτές μορφές χρήσης της γης δημιούργησαν μια ποικιλία βιοτόπων, όπου τα δύο είδη κάλυπταν όλες τις βιολογικές απαιτήσεις για την επιβίωση και την αναπαραγωγή τους. Τις τελευταίες δεκαετίες στη χώρα μας – αλλά και σε όλη την Ευρώπη (π.χ. Απέννινα όρη, Σικελία) – οι πληθυσμοί της **ορεινής πέρδικας** παρουσιάζουν μια σημαντική και ανησυχητική μείωση (**Papaevangelou 1979, Handrinos and Acritotis 1997, Randi et al. 2003**) εξαιτίας φυσικών και ανθρωπογενών παραγόντων. Στην Ελλάδα ο πληθυσμός της ορεινής πέρδικας εκτιμάται σε 7 – 13.000 ζευγάρια (**Papaevangelou 1979**), ενώ σε όλη την Ευρώπη σε 78.000 ζευγάρια. Νεότερη έρευνα που εκπονήθηκε από το Τμήμα Δασολογίας & Φυσικού Περιβάλλοντος του Α.Π.Θ. στο γεωγραφικό διαμέρισμα της Ηπείρου, με τη χρηματοδότηση του Υπουργείου Γεωργίας για τα έτη 1999 έως 2001, εκτιμήθηκε για την Ήπειρο στα 18.000 άτομα με μικρή διακύμανση κατά τη διάρκεια των τριών ετών (**Παπαγεωργίου και άλλοι, 2002**). Επίσης σε έκδοση του Υπουργείου Γεωργίας με τίτλο «Κριτήρια και δείκτες αειφορικής διαχείρισης των δασών της Ελλάδας» του 2000 περιλαμβάνονται αποτελέσματα κυνηγετικής κάρπωσης του έτους 1995-1996 της Κυνηγετικής Συνομοσπονδίας Ελλάδας που αναφέρουν ότι το συγκεκριμένο έτος η συνολική ετήσια κάρπωση ορεινής πέρδικας ανήλθε στα 50.000 πουλιά, ενώ της νησιωτικής πέρδικας στα 52.000 πουλιά. Τα

νεότερα στοιχεία καταδεικνύουν πιθανή υποεκτίμηση του πληθυσμού από τον Παπαευαγγέλου το 1979.

Η κατάσταση δεν είναι καλύτερη ούτε για τη **νησιώτικη** πέρδικα. Όπως μαρτυρούν πολλοί περιηγητές, το είδος αφθονούσε στα νησιά του Αιγαίου μέχρι και τα μέσα του 20^ο αιώνα, σε σημείο να δημιουργείται σε διάφορες περιοχές πρόβλημα στις καλλιέργειες. Το είδος έπαιζε σημαντικό ρόλο και στη διατροφή των κατοίκων και σε μέρη όπως η Κύθνος, η Κέα και η Ανάφη, γινόταν εξαγωγή αυγών και πουλιών για τον εμπλουτισμό των βιοτόπων άλλων Ευρωπαϊκών χωρών. Η σημερινή κατάσταση όμως ελάχιστα θυμίζει το παρελθόν της νησιώτικης πέρδικας στο Αιγαίο. Σε πολλά νησιά έχει σχεδόν εκλείψει, ενώ οι πληθυσμοί της, εκτός λίγων εξαιρέσεων, είναι παντού μικροί και συνεχώς μειώνονται.

Ως οι σημαντικότεροι παράγοντες για τη μείωση των πληθυσμών των δύο ειδών αναφέρονται:

1. **Η υποβάθμιση ή και η καταστροφή των ενδιαιτημάτων τους.** Ο κυριότερος παράγοντας που επηρέασε αρνητικά τους πληθυσμούς της πέρδικας είναι η υποβάθμιση των ενδιαιτημάτων της, η οποία επηρεάζει και άλλους παράγοντες όπως είναι η διαθέσιμη τροφή ή η ευκολία θήρευσής τους. Η εγκατάλειψη των γεωργικών καλλιεργειών και ειδικότερα των σιτηρών, σε ορεινές και ημιορεινές περιοχές είχε ως συνέπεια τη μείωση της διαθέσιμης τροφής για τις πέρδικες, όσο και για είδη που διαβιούν σε ανάλογα ενδιαιτήματα. Επιπλέον η μείωση της ορεινής κτηνοτροφίας, είχε ως αποτέλεσμα τη δημιουργία συμπαγών μαζών αείφυλλων πλατύφυλλων, ακατάλληλων για τη διαβίωση της πέρδικας. Στον λόγο αυτό οφείλεται και η παρατηρούμενη πληθυσμιακή μείωση της ορεινής πέρδικας σε περιοχές οι οποίες λόγω του περιορισμού της βόσκησης και των περιοδικών πυρκαγιών έχουν μεταβάλλει τα αρχικά στάδια οικολογικής διαδοχής με άλλα πιο προχωρημένα. Αποτέλεσμα των αλλαγών αυτών είναι να αντικατασταθούν οι ετήσιες πόες (είδη κατάλληλα για την παροχή τροφής στην πέρδικα) με ετήσια και πολυετή αγρωστώδη των οποίων οι σπόροι θεωρούνται ακατάλληλοι ως τροφή για την πέρδικα. Αξίζει να σημειωθεί ότι η αναφερομένη βόσκηση θα πρέπει να είναι ορθολογική και να μην ξεπερνά τα όρια της ζωοχωρητικότητας του βιοτόπου. Στην αντίθετη περίπτωση η υπερβόσκηση είναι καταστροφική όχι μόνο για την άγρια πανίδα αλλά και το οικοσύστημα γενικότερα. Ανθρώπινες δηλαδή δραστηριότητες, όπως η υπερβόσκηση, οι εκχερσώσεις, η εξαφάνιση των φυσικών φραχτών, οι εκτεταμένες μονοκαλλιέργειες συνετέλεσαν στη σημαντική μείωση ορισμένων πληθυσμών της πέρδικας. Φαίνεται πως η

ύπαρξη ενός ετερογενούς – μωσαϊκού καλλιεργειών, καθώς και η ύπαρξη πληθώρας φυσικών φραχτών είναι ευεργετικά στοιχεία για την πυκνότητα των πληθυσμών των δύο ειδών πέρδικας.

2. **Αλλαγή κλίματος.** Στην περίπτωση της κοκκινοπέρδικας (*A. rufa*) διαπιστώθηκε ότι η ελάχιστη θερμοκρασία που σημειώνεται το χειμώνα και ο αριθμός των ημερών όπου η θερμοκρασία υπερβαίνει τους 25°C επηρεάζουν αρνητικά την πυκνότητα των πληθυσμών της (Villanua *et al.* 2005).
3. **Η χρήση εντομοκτόνων.** Η αλόγιστη χρήση εντομοκτόνων και άλλων τοξικών φυτοφαρμάκων στις γεωργικές καλλιέργειες - τα οποία προκαλούν τον άμεσο θάνατο των ζώων ή έχουν δυσμενή επίδραση στη φυσιολογία της αναπαραγωγής τους - συνέβαλε στη μείωση των πληθυσμών των ειδών. Ένα άλλο παράδειγμα αποτελούν οι αεροψεκασμοί που εφαρμόζονταν την προηγούμενη εικοσαετία με σκοπό τη δακοκτονία στους ορεινούς ελαιώνες της Ελλάδας ή εφαρμόζονται σήμερα για τον περιορισμό των πληθυσμών των κουνουπιών.
4. **Ο υβριδισμός της ορεινής με τη νησιώτικη πέρδικα.** Ένας ακόμα παράγοντας που επηρέασε αρνητικά τη διατήρηση των πληθυσμών της ορεινής πέρδικας είναι και ο υβριδισμός με τη νησιώτικη. Στη χώρα μας, μέχρι το 2001, προκειμένου να εμπλουτιστούν οι φυσικοί πληθυσμοί της ορεινής πέρδικας, πραγματοποιούνταν απελευθερώσεις εκτρεφόμενης πέρδικας *A. chukar* και σε περιοχές που είναι χώροι φυσικής εξάπλωσης της ορεινής (**Παράρτημα ΙΑ και ΙΒ**). Αποτέλεσμα αυτού ήταν να δημιουργηθούν υβρίδια ανάμεσα στα δύο είδη. Η απελευθέρωση ατόμων νησιώτικης πέρδικας στους χώρους εξάπλωσης της πρώτης είχε ως αποτέλεσμα τον ανταγωνισμό για τις ίδιες οικοθέσεις, την πιθανή παραγωγή λιγότερο προσαρμοσμένων υβριδίων και τη γενετική κατάπτωσή τους. Θα πρέπει να έχουμε υπόψη μας ότι η γενετική ρύπανση από την εισβολή ξενικών ειδών ή υποειδών και η ενδεχόμενη υποβάθμιση ή και εξαφάνιση αυτόχθονων γονιδιωμάτων, αντιπροσωπεύουν τη δεύτερη πλέον σημαντική αιτία κατάπτωσης των γονιδιακών αποθεμάτων των άγριων πληθυσμών (**Meriggi and Mazzoni Della Stella 2003**).

Οι φυσικοί πληθυσμοί όμως των θηραμάτων όλου του πλανήτη διαθέτουν ένα ανεκτίμητης αξίας γενετικό υλικό, το οποίο δημιουργήθηκε μέσα από τη διαδικασία της φυσικής επιλογής εκατοντάδων αιώνων και τους επιτρέπει να επιβιώνουν, να

αναπαράγονται, αλλά και να προσαρμόζονται στις νέες αλλαγές των συνθηκών του περιβάλλοντος. Κάθε λοιπόν τεχνητή νόθευση αυτού του μοναδικού γενετικού υλικού, στην περίπτωση μας της ορεινής πέρδικας με γενετικό υλικό της νησιώτικης, επιφέρει γενετική ρύπανση στους πληθυσμούς του είδους.

Τα υβρίδια, και κυρίως αυτά της πρώτης γενιάς, παρουσιάζουν χαρακτηριστικές φαινοτυπικές διαφορές σε σχέση με τα γονικά είδη, και παρά το γεγονός ότι στις μετέπειτα γενεές οι διαφορές αυτές τείνουν να αμβλυνθούν, η νόθευση του γονιδιώματος της ορεινής πέρδικας παραμένει. Πιθανή λόγω του υβριδισμού των δύο ειδών είναι και η αισθητική υποβάθμιση των πουλιών, μια και οι κυνηγοί θα ένιωθαν δυσάρεστα να κυνηγούν πουλιά με παράξενα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά ακόμα και με παράξενο κελάηδημα.

Ορθώς, συνεπώς, από το 2001 (Αρ. πρωτ. 91067/1724/9-4-2001 με θέμα “Εμπλουτισμός βιοτόπων με θηράματα κρατικών εκτροφείων”) το Υπουργείο Γεωργίας (νυν Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων) απαγορεύει την απελευθέρωση της νησιώτικης πέρδικας στην Ηπειρωτική Ελλάδα, ως ανταγωνιστική με την ορεινή πέρδικα. Επιπλέον, δεν επιτρέπει στους Κυνηγετικούς συλλόγους ούτε την αγορά νησιώτικης πέρδικας από Ιδιωτικά εκτροφεία και την απελευθέρωσή της στην Ηπειρωτική Ελλάδα.

- 5. Η τουριστική ανάπτυξη της χώρας.** Σε αρκετές απομακρυσμένες περιοχές και σε πολλά βουνά αναπτύχθηκε πυκνό δίκτυο δασικών δρόμων, που εκτός από την υποβάθμιση - διάσπαση των βιοτόπων συνετέλεσε στην ευκολότερη πρόσβαση των κυνηγών και των λαθροθηρών, γεγονότα που έχουν αρνητικές επιπτώσεις στον πληθυσμό της ορεινής πέρδικας. Επίσης, και η νησιώτικη πέρδικα σήμερα βρίσκεται υπό πίεση λόγω της εγκατάλειψης των αγρών και της καταστροφής των βιοτόπων της εξαιτίας της χρησιμοποίησής τους για τουριστικές δραστηριότητες.
- 6. Προσβολή από μολυσματικές ασθένειες.** Μεταφορά στα εκτροφεία πέρδικας ασθενειών από πτηνοτροφεία και η διάδοσή τους στους άγριους πληθυσμούς των ειδών, μέσω του εμπλουτισμού (απελευθερώσεων) ατόμων προερχόμενων από τεχνητή εκτροφή.
- 7. Η θήρευση από αρπακτικά και η καταστροφή των φωλεών.** Κατά τον Μανιό (2003), η αρπακτικότητα είναι ένας από τους κύριους παράγοντες θνησιμότητας των απελευθερούμενων περδίκων με αποτέλεσμα ο χρόνος επιβίωσης τους να εξαρτάται κυρίως από την επίδραση της αρπακτικότητας. Τα αρπακτικά πτηνά (χρυσαιτός, μπούφος, ποντικοβαρβακίνα) αποτελούν τους κύριους άρπαγες της ορεινής πέρδικας, ενώ

σημαντικός αριθμός άγριων περδίκων και αυγών φαγώνονται από σαρκοφάγα ζώα (αλεπού, πετροκούναβο, νυφίτσα). Η κύρια τακτική διαφυγής της πέρδικας από τα αρπακτικά πτηνά είναι η χρησιμοποίηση θάμνων για προστασία, γεγονός που καθιστά φανερό τη σπουδαιότητα ύπαρξης θαμνώδους φυτικής κάλυψης στους βιοτόπους του είδους.

- 8. Φαινόμενα λαθροθηρίας εντός και εκτός καταφυγίων Άγριας Ζωής.** Το γεγονός ότι και τα δύο είδη πέρδικας αποτελούν ιδιαίτερα δημοφιλή θηράματα έχει οδηγήσει ορισμένες φορές σε περιπτώσεις υπερκάρπωσης αλλά και σε συχνά φαινόμενα λαθροθηρίας που έχουν συμβάλλει με τη σειρά τους στην αισθητή μείωση των πληθυσμών των δύο ειδών. Η κατάσταση όμως έχει βελτιωθεί μετά το 2000 με την ίδρυση και λειτουργία του Σώματος της Ομοσπονδιακής Θηροφυλακής που χρηματοδοτούν οι Κυνηγετικές Οργανώσεις. Επιπλέον, στην Ελλάδα υπάρχουν περίπου 585 (στοιχεία ΕΚΒΥ) καταφύγια Άγριας Ζωής, όπου το κυνήγι απαγορεύεται σύμφωνα με τη νομοθεσία. Ωστόσο, στα περισσότερα καταφύγια, οι πληθυσμοί της πέρδικας δεν είναι σε ικανοποιητικό επίπεδο. Αυτό δείχνει ότι συχνά φαινόμενα λαθροθηρίας μάλλον έχουν συμβάλλει στην αισθητή μείωση των πληθυσμών των δύο ειδών. Πέρα από την λαθροθηρία η επιλογή των θέσεων ίδρυσης καταφυγίων είναι καθοριστική, διότι η πέρδικα δεν μετακινείται σε μεγάλες αποστάσεις οπότε όταν το καταφύγιο είναι τοπογραφικά απομονωμένο, με τη μόνιμη απαγόρευση θα φτάσει στο μέγιστο της ζωοχωρητικότητάς του και από εκεί και μετά επέρχεται σταθερότητα στο μέγεθος του πληθυσμού με μικρές διακυμάνσεις κάθε χρόνο. Στην πραγματικότητα όμως τις περισσότερες φορές δεν ισχύουν ούτε τα παραπάνω. Στα περισσότερα καταφύγια, εξαιτίας της συγκέντρωσης αρπακτικών (τα οποία εξειδικεύονται στο κυνήγι του είδους που αφθονεί), οι πληθυσμοί της πέρδικας είναι μικρότεροι από εκείνους στους οποίους ασκείται ελεύθερο κυνήγι.

2.6. ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΙ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ - ΜΕΤΡΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Ένα από τα σημαντικότερα μέτρα διαχείρισης των θηραματικών πληθυσμών και των βιοτόπων τους είναι η απελευθέρωση άριστης ποιότητας, υγείας και φυσικής κατάστασης θηραματικών ειδών, όταν εξασφαλίζονται παράλληλα και άριστες συνθήκες διαβίωσης στον τόπο απελευθέρωσης. Μάλιστα, κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών η εισαγωγή εκτρεφόμενων

ατόμων για την ενίσχυση της πανίδας διάφορων περιοχών αποτέλεσε μια από τις κύριες πρακτικές για τη διαχείριση ειδών οι πληθυσμοί των οποίων βρίσκονταν υπό πίεση. Στα είδη αυτά περιλαμβάνονται τόσο θηρεύσιμα (είδη για τα οποία, σύμφωνα με τη νομοθεσία, επιτρέπεται η θήρευση) όσο και μη θηρεύσιμα. Στην Ελλάδα τα τελευταία χρόνια πολλοί Κυνηγετικοί Σύλλογοι προβαίνουν σε απελευθερώσεις κυρίως θηρεύσιμων ειδών. Τα άτομα που απελευθερώνονται στη συντριπτική πλειοψηφία των περιπτώσεων αναπαράγονται τεχνητά και εκτρέφονται σε ειδικά εκτροφεία. Η όλη διαδικασία είναι γνωστή ως *εμπλουτισμός*.

Οι εμπλουτισμοί όταν δεν εφαρμόζονται ορθολογικά, σε πολλές περιπτώσεις, όχι μόνο δεν είναι χρήσιμοι αλλά δημιουργούν και σοβαρά προβλήματα, τόσο σε ότι αφορά τους προς ενίσχυση άγριους πληθυσμούς, όσο και τα ίδια τα απελευθερούμενα άτομα.

Τα προβλήματα εντοπίζονται στα εξής σημεία:

1. Απελευθέρωση ευαίσθητων ειδών με ταυτόχρονη άγνοια της οικολογίας του είδους και των απαιτήσεων του ως προς το βιότοπο.
2. Απελευθέρωση ειδών χωρίς να έχει διερευνηθεί η πρόκληση ζημιών σε παραγωγικές μονάδες και καλλιέργειες.
3. Απελευθέρωση ειδών χωρίς να έχει προβλεφθεί η φύλαξή τους.
4. Απελευθέρωση ειδών ξένων ως προς την περιοχή, τα οποία μπορεί να επιφέρουν αρνητικές επιπτώσεις στα ενδημικά είδη, είτε θηρευοντάς τα, είτε ανταγωνίζοντάς τα, και τέλος είτε διαταράσσοντας την οικολογική ισορροπία του ενδιαιτήματος.
5. Απελευθέρωση ειδών που είναι φορείς ασθενειών (ή ακόμα και παρασίτων), οι οποίες μεταφέρονται στους γηγενείς πληθυσμούς.
6. Απελευθέρωση ειδών για ενίσχυση των τοπικών πληθυσμών, τα οποία όμως προέρχονται από διαφορετική περιοχή, μπορεί να αποβεί μοιραία επειδή ο υβριδισμός μεταξύ των ατόμων του ίδιου είδους αλλά διαφορετικής περιοχής, μπορεί να οδηγήσει στο χάσιμο της προσαρμοστικότητας που έχει αποκτήσει ο γηγενής πληθυσμός με το πέρασμα των χρόνων για τη συγκεκριμένη περιοχή, μία προσαρμοστικότητα η οποία είναι δυνατό να γίνει αντιληπτή μόνο σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες.

Πότε είναι επιθυμητός ο εμπλουτισμός;

- Ο εμπλουτισμός είναι επιθυμητός στην περίπτωση που οι πληθυσμοί ενός είδους, π.χ. της ορεινής πέρδικας, ήταν πολύ μειωμένοι ή είχαν υποστεί αισθητά τη δύναμη της φύσης με

τέτοιο τρόπο (π.χ. ξηρασία) ώστε να ασκηθεί πάνω τους πίεση και φυσική επιλογή, και κατά συνέπεια να μειωθεί η γονιδιακή ποικιλότητα (Allendorf *et al.*, 2001). Με εμπλουτισμό και ταυτόχρονα υβριδισμό θα μπορούσε να αυξηθεί το γονιδιακό απόθεμα της ορεινής πέρδικας. Αλλά αυτός ο υβριδισμός θα έπρεπε να γινόταν με άλλα άτομα *A. graeca* κάποιας άλλης κοντινής περιοχής και με κανένα άλλο είδος, πόσο μάλλον την *A. chukar* που έχουν διαφορετικά φυσικά ενδιαίτηματα.

- Ο πληθυσμός ενός είδους σε μια συγκεκριμένη περιοχή έχει μειωθεί σημαντικά ή έχει εξαφανισθεί τελείως λόγω διαφόρων παραγόντων όπως ασθένειες, έντονη κυνηγετική πίεση, δυσμενείς καιρικές συνθήκες κ.τ.λ. και όχι λόγω της αλλαγής χρήσης του βιοτόπου ή της υποβάθμισης αυτού ώστε να μην πληρεί τις προϋποθέσεις που χρειάζονται για να καλύπτονται οι ανάγκες των θηραμάτων.
- Εισαγωγή ενός είδους σε περιοχή που αυτό δεν υπάρχει για τον εμπλουτισμό της «άγονης» περιοχής με θήραμα, αφού γίνει ο απαραίτητος έλεγχος και οι απαραίτητες επεμβάσεις και τελικά ο συγκεκριμένος βιότοπος θα πληρεί τις προϋποθέσεις για τη κάλυψη των βιοτικών αναγκών του είδους.

3. ΤΟ ΓΕΝΕΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ (DNA)

Το γονιδίωμα των πτηνών είναι μια τεράστια συλλογή πληροφοριών οι οποίες οργανώνονται στα χρωμοσώματα του πυρήνα του κυττάρου και στο κυκλικό DNA των μιτοχονδρίων. Οι πληροφορίες αυτές καταγράφονται με τον κώδικα των τεσσάρων γραμμάτων Α, Τ, C και G που αποτελούν συντομογραφίες των βάσεων αδενίνη, θυμίνη, κυτοσίνη και γουανίνη, αντίστοιχα. Η διαδοχή των βάσεων δίνει την πρωτοδιάταξη του μορίου του DNA, που έχει την ιδιότητα να είναι μοναδική για κάθε οργανισμό και περιέχει τις πληροφορίες εκείνες που είναι υπεύθυνες για την εκδήλωση των βιολογικών λειτουργιών, την οργάνωση και λειτουργία των κυττάρων του και, σε αλληλεπίδραση με το περιβάλλον, τα μοναδικά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά κάθε οργανισμού, καθώς και τη διαφοροποίηση και εξέλιξη των οργανισμών.

3.1. ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟ DNA

Το μιτοχόνδριο είναι ζωτικό οργανίδιο του κυττάρου, μια και αποτελεί το «εργοστάσιο» παραγωγής ενέργειας του κυττάρου και κατ' επέκταση του ζωντανού οργανισμού. Μιτοχόνδρια υπάρχουν σχεδόν σε όλα τα ευκαρυωτικά κύτταρα, π.χ. σε πολυκύτταρα ζώα. Κάθε κύτταρο περιέχει μερικές εκατοντάδες μιτοχόνδρια. Τα μιτοχόνδρια είναι ημιαυτόνομα οργανίδια που αυτοδιπλασιάζονται και περιέχουν το δικό τους γενετικό υλικό (DNA). Μάλιστα κάθε μιτοχόνδριο περιλαμβάνει αρκετά αντίγραφα DNA. Το μιτοχονδριακό DNA (mtDNA) όλων των πτηνών είναι απλοειδές, δίκλωνο, κυκλικό μόριο (**Εικ. 6**).

Το μέγεθος του μιτοχονδριακού γονιδιώματος στα ζώα ποικίλλει από 15-20kb και αποτελείται από 37 γονίδια. Τα γονίδια αυτά κωδικοποιούν για 22 μόρια tRNA, 2 μόρια rRNA (12S, 16S rRNA) και 13 μόρια mRNA. Τα τελευταία μεταφράζονται σε πρωτεΐνες που παίρνουν μέρος στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων και στην οξειδωτική φωσφορυλίωση. Οι πρωτεΐνες αυτές είναι το κυτόχρωμα b, επτά υπομονάδες της αφυδρογονάσης του NADH (ND1, 2, 3, 4, 4L, 5 και 6), τρεις υπομονάδες της οξειδάσης του κυτοχρώματος C (CO I, II και III) και δύο υπομονάδες (6^η και 8^η) της μιτοχονδριακής συνθετάσης του ATP. Τα πολυπεπτίδια που καθορίζονται από το μιτοχονδριακό γονιδίωμα αποτελούν το 5-10% του συνόλου των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών. Οι υπόλοιπες πρωτεΐνες που είναι απαραίτητες για τη βιογένεση των

μιτοχονδρίων κωδικοποιούνται από το πυρηνικό γονιδίωμα, μεταφράζονται στα κυτταροπλασματικά ριβοσώματα και μεταφέρονται στο μιτοχόνδριο.

Η δομή του mtDNA είναι πολύ συμπαγής καθώς περιοχές, όπως ιντρόνια, ψευδογονίδια καθώς και επαναλαμβανόμενο DNA συνήθως απουσιάζουν. Ωστόσο, υπάρχει μια μη κωδικοποιούσα περιοχή, η **περιοχή ελέγχου ή βρόχος D**, που περιέχει ακολουθίες απαραίτητες για την έναρξη της αντιγραφής και της μεταγραφής. Ένα μέρος της ποικιλίας που παρατηρείται στα mtDNA αρκετών μεταζώων όσον αφορά το μέγεθος τους οφείλεται σε διαφορές στα μήκη γονιδίων. Ωστόσο, οι πιο μεγάλες διαφορές μεγέθους αποδίδονται σε διαφορές στο μήκος της περιοχής ελέγχου.

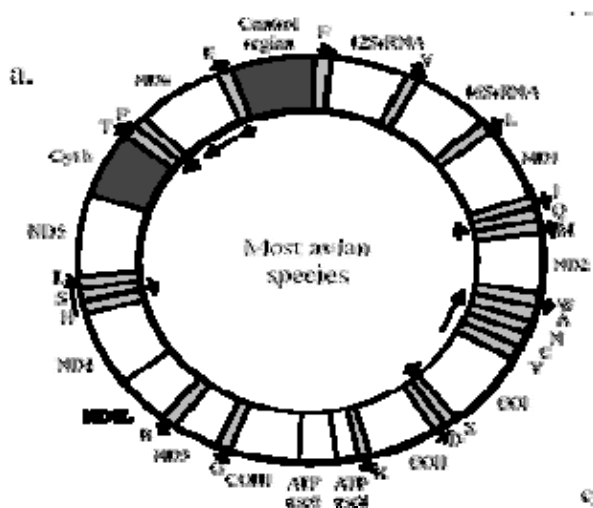
Το mtDNA στα περισσότερα ζωικά είδη είναι μητρικής προέλευσης. Έχουν καταγραφεί όμως και ορισμένες εξαιρέσεις πατρικής «διαρροής» στα ποντίκια, ή διπατρικής προέλευσης στα μύδια (**Zouros *et al.* 1992**). Το μιτοχονδριακό γονιδίωμα μάλλον δεν παρουσιάζει το φαινόμενο του ανασυνδυασμού. Τέλος, κάθε άτομο περιλαμβάνει στα κύτταρά του εκατοντάδες ή και χιλιάδες αντίγραφα του ίδιου μορίου μιτοχονδριακού DNA (**ομοπλασμία**). Έχουν καταγραφεί όμως περιπτώσεις, κατά τις οποίες μόρια mtDNA διαφορετικού μεγέθους ή διαφορετικής ακολουθίας βρίσκονται στο ίδιο κύτταρο. Αυτή η κατάσταση είναι γνωστή ως **ετεροπλασμία**.

Ως μοριακό εργαλείο, το mtDNA έχει πολλά πλεονεκτήματα. Εξελίσσεται γρηγορότερα (5-10 φορές υψηλότερος ρυθμός) από το πυρηνικό DNA, λόγω του ταχύτερου ρυθμού μεταλλάξεων που παρουσιάζει στην αλληλουχία των βάσεων του ή στον υψηλό ρυθμό εγκαθίδρυσής τους ή και στα δύο (**Brown *et al.* 1982**). Οι περισσότερες μεταλλάξεις συμβαίνουν στην τρίτη θέση του κωδικονίου, με αποτέλεσμα να μην αλλάζει η πρωτεϊνική αλληλουχία, οπότε οι μεταλλάξεις θεωρούνται ουδέτερες. Διαφορετικές περιοχές του μιτοχονδριακού γονιδιώματος εξελίσσονται με διαφορετικούς ρυθμούς, δίνοντας τη δυνατότητα επιλογής της κατάλληλης περιοχής ανάλογα με την κάθε μελέτη ξεχωριστά.

Γενικά το mtDNA σε διαειδικό επίπεδο μπορεί να προσδιορίσει και να ταυτοποιήσει με ακρίβεια τα είδη. Σε ενδοειδικό επίπεδο, λόγω των ταχύτερων ρυθμών αλλαγών που παρουσιάζει στην αλληλουχία των βάσεων του σε σχέση με το πυρηνικό DNA είναι δυνατόν να εντοπισθούν διαπληθυσμιακές διαφορές ακόμα και σε περιπτώσεις που οι πληθυσμοί εμφανίζονται όμοιοι στο πυρηνικό DNA. Επομένως δίνει τη δυνατότητα να βρεθούν ειδικοί δείκτες που θα συμβάλλουν στην ταυτοποίηση των διαφορετικών πληθυσμών του είδους.

Το μιτοχονδριακό DNA των πτηνών (Εικ. 6). Στα πτηνά, η πρώτη ολοκληρωμένη ακολουθία mtDNA που δημοσιεύτηκε, ήταν αυτή του mtDNA του κοτόπουλου (**Desjardins and Morais 1990**). Τα χαρακτηριστικά του mtDNA των πτηνών είναι κατά κύριο λόγο όμοια με των υπόλοιπων σπονδυλωτών. Ωστόσο, το mtDNA των πτηνών παρουσιάζει ορισμένες σημαντικές διαφορές σε σχέση με αυτό των υπόλοιπων σπονδυλωτών (**Desjardins and Morais 1990, Quinn and Wilson 1993**).

- Η σειρά των γονιδίων είναι διαφορετική σε σύγκριση με αυτή των θηλαστικών και των αμφιβίων. Το γονίδιο ND5 ακολουθείται από το κυτόχρωμα b, tRNA^{Thr}, tRNA^{Pro}, ND6, tRNA^{Glu} στην κατεύθυνση 5' → 3' στην αλυσίδα L των πτηνών.
- Η θέση έναρξης της αντιγραφής της αλυσίδας L που βρίσκεται μεταξύ των tRNA^{Cys} και tRNA^{Asn} σε άλλα σπονδυλωτά, απουσιάζει στο mtDNA των πτηνών.
- Η οξειδάση του κυτοχρώματος C (COI) ξεκινάει με το κωδικόνιο GTG αντί με ATG.
- Παρατηρείται μικρό ποσοστό θυμίνης (T) στις σιωπηλές περιοχές των κωδικονίων.
- Η γουανίνη απαντάται σχετικά σπάνια στην τρίτη θέση των κωδικονίων, σε ποσοστό μικρότερο του 5%.
- Γονίδια επικαλύπτονται, ενώ σε κάποια το κωδικόνιο λήξης συμπληρώνεται με πολυαδενυλίωση.



Εικόνα 6. Μιτοχονδριακό γονιδίωμα των πουλιών. Ο εξωτερικός κύκλος αντιπροσωπεύει τη βαριά (H) αλυσίδα και ο εσωτερικός την ελαφριά (L) αλυσίδα (**Kvist 2000**).

3.1.1. Κυτόχρωμα b

Το κυτόχρωμα b είναι πρωτεΐνη που λαμβάνει μέρος στο μονοπάτι μεταφοράς ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα των μιτοχονδρίων. Η ποικιλομορφία στο κυτόχρωμα b είναι σχετικά χαμηλή. Ωστόσο, ο εξελικτικός ρυθμός στις σιωπηλές θέσεις είναι σχετικά υψηλός. Το γονίδιο του κυτοχρώματος b θεωρείται αρκετά πολυμορφικό για μελέτες σε πληθυσμιακό επίπεδο, αλλά αρκετά συντηρημένο για τη διερεύνηση βαθύτερων φυλογενετικών σχέσεων. Το γονίδιο αυτό είναι από τα καλύτερα μελετημένα γονίδια σε πολλές ομάδες ζώων, και ειδικά στα πτηνά.

Ο Kornegay και οι συν. (1993) περιέγραψαν την πρωτοδιάταξη του DNA ολόκληρου του γονιδίου του κυτοχρώματος b από 9 γένη της τάξης Galliformes. Διαπίστωσαν ότι το γονίδιο για το κυτόχρωμα b αποτελείται από 1143 νουκλεοτίδια και κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη 380 αμινοξέων. Η αλληλουχία του κυτοχρώματος b του γένους *Alectoris* ξεκινάει με τρία συντηρημένα κωδικόνια ATG-GCA-CCC και λήγει με το κωδικόνιο λήξης TAA, όπως και στα περισσότερα Galliformes. Η ποικιλομορφία στη σύσταση της τρίτης θέσης των κωδικονίων μεταξύ των ειδών *Alectoris* είναι περίπου 1/3 χαμηλότερη από την ενδογενή ποικιλομορφία στα Galliformes. Οι περισσότερες αντικαταστάσεις στην τρίτη θέση των κωδικονίων είναι σιωπηλές και μεταλλάσσονται πολύ γρηγορότερα από τις αντικαταστάσεις στην πρώτη και τη δεύτερη θέση των κωδικονίων, που συνήθως οδηγούν και σε αλλαγή των αμινοξέων. Η συνεισφορά των αντικαταστάσεων της πρώτης και της δεύτερης θέσης των κωδικονίων, όσον αφορά τη μελέτη των γενετικών αποστάσεων μεταξύ των *Alectoris*, είναι αμελητέα. Οι γενετικές αποστάσεις καθορίζονται από τη συσσώρευση μεταλλάξεων στην τρίτη θέση των κωδικονίων (Randi 1996, Randi and Lucchini 1998).

3.1.2. Βρόχος εκτόπισης (D-loop)

Ο βρόχος εκτόπισης ή αλλιώς D-loop είναι μια μη κωδικοποιούσα περιοχή στο μιτοχονδριακό γονιδίωμα, που ρυθμίζει την αντιγραφή του κλώνου H και τη μεταγραφή όλων των mtDNA γονιδίων. Οι περιοχές D-loop θεωρούνται συνήθως ως τα πιο μεταβαλλόμενα τμήματα του μιτοχονδριακού DNA, όσον αφορά: i) σημειακές μεταλλάξεις, ii) προσθήκες / απώλειες μικρών τμημάτων, και iii) ύπαρξη μικροδορυφορικών περιοχών.

Το μέγεθος του βρόχου εκτόπισης είναι 1155 ± 2 νουκλεοτίδια. Η περιοχή D-loop περιέχει 1153 βάσεις στην *Alectoris philbyi*, 1154 βάσεις στις *Alectoris chukar* και *barbara*, 1155 στις *graeca*, *rufa* και *melanocephala* και 1157 στη *magna* (Randi and Lucchini 1998).

Αναλυτικότερα, η D-loop μπορεί να χωριστεί σε 3 περιοχές: Την **I** (1-316 nt) με 22% μεταβλητά μέρη, τη **II** (317-784 nt) με 5% μεταβλητά μέρη και την **III** (785-1160nt) με 14% μεταβλητά μέρη. Οι παρατηρούμενες διαφορές στους ρυθμούς αντικατάστασης μεταξύ των περιοχών της D-loop στο γένος *Alectoris* αντιστοιχούν σε διαφορές ανάμεσα σε άλλα είδη της ίδιας περιοχής. Η κατανομή των μεταβλητών μερών της περιοχής I δεν ήταν τυχαία. Τα πρώτα 161 nt που συνορεύουν με το tRNA^{Glu}, εξερίχθηκαν σε ασυνήθιστα χαμηλούς ρυθμούς μεταξύ των ειδών (5%), ενώ το δεύτερο μέρος σε υψηλότερους (39%) (Randi and Lucchini 1998).

Ο ρυθμός εξέλιξης της D-loop είναι λίγο μικρότερος από το κυτόχρωμα b. Οι γενετικές αποστάσεις κυμαίνονται 0-2% ενδοειδικά και 3-6% διαειδικά, ενώ περίπου 20% μεταξύ των ομάδων των *Alectoris* και των phasianids (Randi and Lucchini 1998).

3.1.3. Μεθοδολογίες ανάλυσης του mtDNA και Φυλογενετικές σχέσεις

Εφόσον η επιβίωση των ζώων εξαρτάται σημαντικά και από τις μιτοχονδριακές λειτουργίες, θα ήταν αναμενόμενο η εξέλιξη του μιτοχονδρίου να είναι αυστηρά συντηρημένη και το ίδιο να ισχύει και για το γονιδίωμά του. Κάτι τέτοιο δεν ισχύει. Έρευνες έχουν αποδείξει πως η εξέλιξη του mtDNA είναι τουλάχιστον εξίσου γρήγορη με την εξέλιξη μονόκλωνου πυρηνικού DNA.

Ο μητρικός τρόπος κληρονομής του mtDNA και η απλοειδής του φύση μειώνουν το δραστικό πληθυσμιακό μέγεθος στο $\frac{1}{4}$ του πυρηνικού και το καθιστούν πιο ευαίσθητο σε φαινόμενα γενετικής παρέκκλισης και το πλέον ικανό στην αποκάλυψη ειδικών πληθυσμιακών δεικτών (Birky *et al.* 1983). Έχει καθιερωθεί ως ένα από τα δημοφιλέστερα γενετικά συστήματα για τη μελέτη της γενετικής δομής των πληθυσμών, της γονιδιακής ροής, της βιογεωγραφίας και των φυλογενετικών σχέσεων σε ενδοειδικό και διαειδικό επίπεδο (Moritz *et al.* 1987). Ο προσδιορισμός της ακολουθίας του μιτοχονδριακού DNA έχει αποκαλύψει συχνά τεράστιες ποσότητες γενετικής ποικιλότητας τόσο μέσα όσο και ανάμεσα σε γειτονικούς πληθυσμούς (Avise 1994).

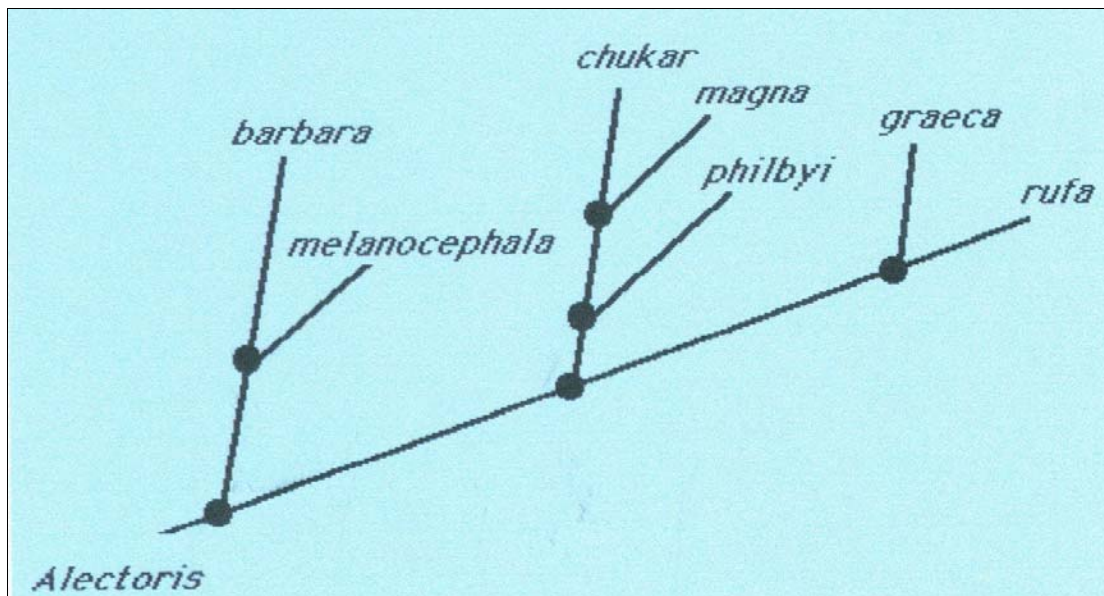
Δύο **μεθοδολογίες** χρησιμοποιούνται κυρίως για τη διερεύνηση της ποικιλομορφίας του μιτοχονδριακού DNA, η **μέθοδος RFLP (τεχνική ανάλυσης Πολυμορφισμού Μήκους Περιοριστικών Τμημάτων)** και η **αλληλούχιση**.

Η **μέθοδος RFLP** βασίζεται στη χρήση ειδικών ενζύμων, των ενδονουκλεασών περιορισμού (τα ψαλίδια της μοριακής βιολογίας). Οι ενδονουκλεάσες αυτές έχουν απομονωθεί από βακτήρια, τα οποία φυσιολογικά τα προστατεύουν από την εισβολή ξένου DNA. Οι ενδονουκλεάσες περιορισμού αναγνωρίζουν συγκεκριμένες ακολουθίες στο DNA οι οποίες έχουν μέγεθος συνήθως 4-6 νουκλεοτίδια. Κάθε ένζυμο περιορισμού εμφανίζει χαρακτηριστικό πρότυπο πέψης σε ένα τμήμα DNA, από τη δημιουργία συγκεκριμένου αριθμού κομματιών DNA καθορισμένου μεγέθους. Μετάλλαξη σε μια θέση θα οδηγήσει σε απώλεια ή δημιουργία μιας θέσης κοπής. Κάτι τέτοιο έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή του προτύπου. Επομένως, στη μέθοδο RFLP γίνεται σύγκριση, μεταξύ ατόμων, των περιοριστικών προτύπων που προκύπτουν από τις πέψεις του γενετικού υλικού με διάφορα ένζυμα περιορισμού.

Αρχικά για τη μελέτη του μιτοχονδριακού πολυμορφισμού χρησιμοποιούνταν όλο το μόριο του μιτοχονδριακού DNA. Με την ανακάλυψη της τεχνικής της **Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR-Polymerase Chain Reaction, Saiki et al. 1988)** κατέστη δυνατή η επιλεκτική ανάλυση συγκεκριμένων γονιδίων. Έτσι, για να επιτευχθεί η ενίσχυση του τμήματος στο οποίο θα εφαρμοστεί η τεχνική RFLP, χρησιμοποιείται η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Βλέπε **Κεφάλαιο Υλικά και Μεθοδολογία**) και με τη βοήθεια ειδικών ολιγονουκλεοτιδικών εκκινήτων για κάθε αλληλουχία, η πολυμεράση συνθέτει νέα αντίγραφα του επιθυμητού γονιδίου σε σύντομο χρονικό διάστημα. Η **μεθοδολογία του προσδιορισμού της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας** ομόλογων τμημάτων DNA εξασφαλίζει την πλέον ισχυρή και άμεση μέθοδο παροχής πληροφοριών για τη γενετική ποικιλομορφία ενός πληθυσμού, ενώ ταυτόχρονα επιτρέπει την άμεση σύγκριση των προς μελέτη ακολουθιών με άλλες ομόλογες ακολουθίες που έχουν δημοσιευτεί. Ο προσδιορισμός της ακολουθίας των νουκλεοτιδίων γίνεται σήμερα σε αυτόματα μηχανήματα.

Η ανάπτυξη της PCR βοήθησε την ανάλυση της ποικιλότητας του μιτοχονδριακού DNA σε φυσικούς πληθυσμούς συμπεριλαμβανομένων και των πουλιών της τάξης Galliformes (**Kornegay et al. 1993, Randi 1996, Lucchini and Randi 1998, Randi and Lucchini 1998, Barbanera et al. 2005, Barilani et al. 2006**). Μελέτες φυλογένεσης των ειδών *Alectoris* έχουν γίνει με ανάλυση αλλοενζύμων (**Randi et al. 1992**), του κυτοχρώματος b (**Randi 1996**) και της

περιοχής D-loop του μιτοχondριακού DNA (Randi and Luccini 1998). Οι φυλογενετικές αναλύσεις των περιοχών του κυτοχρώματος b (Randi 1996) και της D-loop (Randi and Lucchini 1998) διαίρεσαν τις πέρδικες σε τρεις ομάδες (Εικ. 7). Στην πρώτη κατατάσσονται τα πιο απομακρυσμένα είδη *A. melanocephala* και *A. barbara*. Η δεύτερη περιέχει τα Ευρασιατικά είδη με σχετικά πρόσφατες ρίζες, *A. chukar*, *A. magna*, *A. philbyi*. Η τρίτη ομάδα περιέχει τα πιο διαφοροποιημένα Ευρωπαϊκά είδη *A. graeca* και *A. rufa*. Τα είδη *A. graeca* και *A. chukar* δεν ανήκουν στην ίδια φυλογενετική ομάδα και άρα διαφέρουν σε μεγαλύτερο βαθμό μεταξύ τους.



Εικόνα 7. Σχηματική εξέλιξη των ειδών του γένους *Aleocharis*.

3.2. ΜΙΚΡΟΔΟΥΦΟΡΙΚΟ DNA

Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα περιλαμβάνει μικρές, διαδοχικά επαναλαμβανόμενες ακολουθίες που αποτελούν πάνω από το 5% του συνολικού πυρηνικού DNA. Το DNA αυτής της κατηγορίας είναι γνωστό ως «δορυφορικό DNA» (microsatellite DNA) και δεν αποτελεί φορέα πληροφοριών για τη σύνθεση πρωτεϊνών ή RNA.

Το δορυφορικό DNA διακρίνεται σε δύο επιμέρους κατηγορίες:

- το μινιδορυφορικό DNA (minisatellite DNA), όπου το μέγεθος της επαναλαμβανόμενης ακολουθίας κυμαίνεται από 7-90 bp.

- το μικροδορυφορικό DNA (microsatellite DNA), όπου το μέγεθος της επαναλαμβανόμενης ακολουθίας κυμαίνεται από 1-6 bp.

Το μικροδορυφορικό DNA αποτελεί περίπου το 3% του συνολικού γονιδιώματος. Μικροδορυφορικές περιοχές συνολικού μεγέθους 10-300 bp βρίσκονται διάσπαρτες σε όλο το πυρηνικό DNA ευκαρυωτών, αλλά και στο DNA των χλωροπλαστών των φυτών. Η διασπορά τους στα διάφορα χρωμοσώματα είναι σχετικά ίση, με ελαφρώς μικρότερη πυκνότητα στις τελομερικές και κεντρομερικές περιοχές.

Η πυκνότητα των μικροδορυφορικών γονιδιακών τόπων ποικίλει στα διάφορα είδη. Στο ανθρώπινο γονιδίωμα και στο μπακαλιάρο του Ατλαντικού (*Gadus morhua*) συναντάται ένας μικροδορυφορικός τόπος ανά 5 – 6 Kb αν και συνήθως στο ζωικό βασίλειο συναντώνται σε μικρότερη πυκνότητα (ένας μικροδορυφορικός τόπος ανά 30-50 Kb). Οι μικροδορυφορικοί τόποι ανάλογα με την ομοιογένεια ή όχι του επαναλαμβανόμενου μοτίβου χωρίζονται σε τέλειους, ατελείς και σύνθετους.

Κύριο χαρακτηριστικό του μικροδορυφορικού DNA είναι ο πολύ υψηλός ρυθμός μεταλλαξιγένεσης. Έχει υπολογιστεί ότι οι μεταλλακτικοί ρυθμοί είναι της τάξης του 10^{-5} με 10^{-2} (Amos *et al.* 1996), είναι δηλαδή υψηλότεροι από αυτούς του υπόλοιπου γονιδιώματος. Πάντως υπάρχουν μικροδορυφορικοί τόποι που αποκλίνουν από τη γενική αυτή εικόνα, εμφανίζοντας χαμηλότερους ή υψηλότερους ρυθμούς μεταλλαξιγένεσης. Οι υψηλοί αυτοί ρυθμοί προκαλούν τη δημιουργία νέων αλληλομόρφων και οδηγούν σε υψηλά επίπεδα πολυμορφισμού. Μάλιστα έχει διαπιστωθεί ότι οι τιμές ετεροζυγωτίας είναι ιδιαίτερα μεγάλες. Οι τιμές αυτές είναι της τάξης του 70% και σε μερικές περιπτώσεις φτάνουν και το 100% σε εξαιρετικά πολυμορφικούς τόπους. Το επίπεδο πολυμορφισμού των μικροδορυφορικών τόπων έχει συσχετιστεί με πλήθος παραγόντων, όπως το μέγεθος του επαναλαμβανόμενου μοτίβου, τη σύσταση του επαναλαμβανόμενου μοτίβου, την ομοιογένεια των γονιδιακών τόπων και το φύλο και την ηλικία.

Η αφθονία των μικροδορυφορικών γονιδιακών τόπων, ο υψηλός πολυμορφισμός και τα υψηλά ποσοστά ετεροζυγωτίας αποτελούν τα κύρια χαρακτηριστικά του μικροδορυφορικού DNA. Η μεντελική κληρονομήση και η συνυπεροχή διακριτών αλληλομόρφων καθώς επίσης και τα πολλά τεχνικά πλεονεκτήματα (πολλαπλασιασμός με τη μέθοδο PCR), οι λίγες μη-ειδικές ζώνες, ο εύκολος καθορισμός αλληλομόρφων που εμφανίζει το μικροδορυφορικό DNA αλλά και το γεγονός ότι οι μικροδορυφορικοί δείκτες επιτρέπουν την ανάλυση από κακής ποιότητας δείγματα, όταν το DNA είναι θρυμματισμένο, το καθιστούν πολύτιμο μοριακό εργαλείο σε μελέτες

σύνδεσης, χαρτογράφησης και πληθυσμιακής δομής σε πληθώρα οργανισμών (Morris 1993), ενώ βρίσκει σημαντικές εφαρμογές και στην ιατρική διάγνωση, την ιατροδικαστική, συμπεριλαμβανομένων και υποθέσεων αμφισβητούμενης πατρότητας (Edwards *et al.* 1991).

Πρέπει να τονιστεί στο σημείο αυτό ότι επειδή οι μικροδορυφορικοί τόποι δε μεταγράφονται και δε δημιουργούν πρωτεϊνικά προϊόντα, θεωρούνται επιλεκτικά, ουδέτερες περιοχές του γονιδιώματος. Αυτό σημαίνει ότι οι τόποι αυτοί δεν υπόκεινται στην εξελικτική πίεση της φυσικής επιλογής, αλλά ακολουθούν δικούς τους νόμους όσον αφορά την εξελικτική τους πορεία.

3.2.1. Γενετικές αναλύσεις με τη χρήση μικροδορυφορικών δεικτών σε πτηνά

Τα τελευταία χρόνια, η ανάπτυξη των μικροδορυφορικών δεικτών σε συνδυασμό με τα δεδομένα που προέκυψαν από την ανάλυση του μιτοχονδριακού γονιδιώματος έχουν αποκαλύψει αρκετές πληροφορίες για την εξελικτική διαδικασία, τη δημογραφική ιστορία και τη γενετική δομή φυσικών ζωικών πληθυσμών (Balding *et al.* 2001). Σήμερα υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός γενετικών χαρτών σύνδεσης, που έχουν κατασκευαστεί με τη χρήση μικροδορυφορικών δεικτών για διάφορα οικόσιτα είδη. Ωστόσο, αντίστοιχες προσπάθειες που έγιναν για οικόσιτα πουλερικά δεν στέφθηκαν με επιτυχία, εξαιτίας του μικρότερου αριθμού μικροδορυφορικών τόπων που βρίσκονται στο γονιδίωμα των πτηνών σε σχέση με αυτό των θηλαστικών (Primmer *et al.* 1997). Παρόλα αυτά, σημαντική πρόοδος σημειώθηκε στο είδος *Gallus gallus* (κότα), το οποίο αποτέλεσε αντικείμενο έντονης ερευνητικής δραστηριότητας λόγω της μεγάλης οικονομικής του σημασίας για τον άνθρωπο αλλά και της χρησιμοποίησης του ως αναπτυξιακό μοντέλο των ανώτερων σπονδυλωτών. Μετά από συντονισμένες διεθνείς ερευνητικές προσπάθειες δημιουργήθηκε ένας γενετικός χάρτης σύνδεσης για το *Gallus gallus* (Khatib *et al.* 1993, Crooijmans *et al.* 1994, 1996, 1997, Cheng *et al.* 1995, Gibbs *et al.* 1997), ο οποίος μεταξύ των 1889 γονιδιακών τόπων που περιλαμβάνει, εμπεριέχει και περισσότερους από 900 μικροδορυφορικούς τόπους. Πληροφορίες για τους μικροδορυφορικούς γονιδιακούς δείκτες του *Gallus gallus* υπάρχουν στην ηλεκτρονική διεύθυνση <http://poultry.mph.msu.edu/>. Αντίστοιχοι γενετικοί χάρτες για είδη πτηνών της τάξης *Galliformes*, όπως είναι το ορτύκι (*Coturnix japonica*) και η πέρδικα (*Alectoris sp*) δεν έχουν κατασκευαστεί μέχρι σήμερα.

Διάφορες μελέτες αποκάλυψαν ότι οι ακολουθίες που γειτονεύουν με το επαναλαμβανόμενο μοτίβο των μικροδορυφορικών τόπων συχνά είναι συντηρημένες μεταξύ

στενά συγγενικών *taxa*, επιτρέποντας έτσι τη χρήση των ίδιων εκκινητών που αναπτύχθηκαν για την ανάλυση του μικροδορυφορικού πολυμορφισμού σε ένα είδος και σε άλλα συγγενικά του είδη (Primmer *et al.* 1996, Pang *et al.* 1999, Van Hooft *et al.* 1999). Στην οικογένεια *Phasianidae* έγιναν προσπάθειες για να χρησιμοποιηθεί ένας μεγάλος αριθμός από τους διαθέσιμους, ειδικούς για το *Gallus gallus*, μικροδορυφορικούς δείκτες προκειμένου να αναπτυχθούν ειδικοί DNA δείκτες για τη γαλοπούλα (*Melagris gallopavo*) (Levin *et al.* 1995, Liu *et al.* 1996), το ορτύκι (*Coturnix japonica*) (Pang *et al.* 1999, Innoue-Murayama *et al.* 2001), το φασιανό (*Phasianus colchicus*) (Barrati *et al.* 2001), την ορεινή πέρδικα (*Alectoris graeca*) (Lucchini and Randi 1998, Randi *et al.* 2003, Barilani *et al.* 2006) και τη νησιώτικη της Κύπρου (*A. chukar cypriotes*) (Tejedor *et al.* 2005). Επίσης μικροδορυφορικοί δείκτες, ειδικοί για την *Alectoris rufa* βρέθηκε ότι μπορούν να ενισχυθούν με επιτυχία, παρουσιάζοντας πολυμορφισμό, στην *Alectoris graeca* (Gonzalez *et al.* 2005).

4. ΣΚΟΠΟΣ – ΣΤΟΧΟΙ

Τα δύο είδη πέρδικας του ελληνικού χώρου έχουν ευρεία εξάπλωση, ποικιλία βιοτόπων και αποτελούν δημοφιλή θηράματα. Ωστόσο, οι φυσικοί πληθυσμοί τους παρουσιάζουν κάμψη, με αποτέλεσμα σε πολλές περιοχές να έχουν γίνει απόπειρες τόνωσης των φυσικών πληθυσμών με εμπλουτισμούς από εκτρεφόμενες πέρδικες. Επιπλέον, λίγες επιστημονικές πληροφορίες υπάρχουν από τον ελληνικό χώρο για τη βιολογία, οικολογία και γενετική δομή των δύο ειδών. Έτσι, συνεχίζουν να παραμένουν άγνωστες βασικές πληροφορίες, όπως:

- Ο βαθμός της γενετικής ποικιλότητας των Ελληνικών φυσικών πληθυσμών των δύο ειδών.
- Η γενετική δομή των φυσικών πληθυσμών, καθώς και των πληθυσμών που χρησιμοποιούνται για τις απελευθερώσεις.
- Η ύπαρξη υβριδισμών, η πιθανή επέκταση τους ανάμεσα στους φυσικούς πληθυσμούς των ειδών, καθώς επίσης και ανάμεσα στα άτομα που απελευθερώνονται.

Η παρούσα ερευνητική εργασία επεδίωξε να δώσει απαντήσεις στα παραπάνω ερωτήματα και να καλύψει το κενό γνώσης στον τομέα αυτό.

Ειδικότερα, οι στόχοι του παρόντος έργου ήταν:

1. Η εκτίμηση του βαθμού της γενετικής ποικιλότητας αρκετών γεωγραφικών φυσικών πληθυσμών των δύο ειδών πέρδικας (*A. g. graeca* και *A. chukar*) με χρησιμοποίηση σύγχρονων τεχνικών στο επίπεδο DNA (μικροδορυφορικό και μιτοχονδριακό DNA).
2. Ο προσδιορισμός του βαθμού γενετικής διαφοροποίησης ή συγγένειας των γεωγραφικών πληθυσμών της ορεινής πέρδικας και της νησιώτικης πέρδικας.
3. Η εκτίμηση της γενετικής δομής των πληθυσμών των δύο ειδών.
4. Ο προσδιορισμός ειδικών μοριακών δεικτών, οι οποίοι θα επιτρέπουν τη σαφή διάκριση και ταυτοποίηση των ειδών, ή και των πληθυσμών.
5. Η ανάπτυξη της κατάλληλης μεθοδολογίας διαπίστωσης υβριδίων με τη χρήση DNA δεικτών. Η μεθοδολογία αυτή θα επιτρέπει να ιχνηλατηθούν οι γονείς στις εκτρεφόμενες πέρδικες.
6. Να εκπαιδευτούν νέοι επιστήμονες σε σύγχρονες τεχνικές μοριακής γενετικής.
7. Με βάση τα αποτελέσματα της γενετικής σύστασης των δύο ειδών πέρδικας να διατυπωθούν προτάσεις για την ορθολογική διαχείριση και αναβάθμιση των φυσικών πληθυσμών των δύο ειδών πέρδικας.

5.



5.1. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ

Για τις ανάγκες της παρούσας εργασίας, συλλέχθηκαν συνολικά 342 δείγματα βιολογικού υλικού (**Πίν. 6**). Το βιολογικό υλικό προέρχονταν από θήρευση που πραγματοποιήθηκε σε διάφορες περιοχές της ηπειρωτικής και νησιωτικής Ελλάδας, κατά τις κυνηγετικές περιόδους 15-9-2003 έως 30-11-2003, και 15-9-2004 έως 30-11-2004. Υπήρξε ειδική αρίθμηση κάθε δείγματος. Επίσης, χρησιμοποιήθηκαν δείγματα που προέρχονταν από την Κύπρο, την Ισπανία, τη Σερβία και την FYROM. Επίσης υπήρχαν και 3 δείγματα *A. rufa* (Ισπανία) και 6 δείγματα *A. c. kleini* (Κομοτηνή). Από τα δείγματα αυτά 25 είτε δεν κατέστη δυνατό να ενισχυθούν, είτε αργότερα (με τη βοήθεια του μικροδορυφορικού DNA) βρέθηκε ότι προέρχονταν από το ίδιο άτομο οπότε αφαιρέθηκαν. Οι οδηγίες συλλογής των δειγμάτων περιγράφονται στο Παράρτημα Ι.Δ.

Πίνακας 6: Περιοχές δειγματοληψίας, αριθμός ατόμων (n) και κατανομή δειγμάτων ανά είδος κατά τη συνολική διάρκεια του προγράμματος.

ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΕΣ	n		
ΑΙΤΩΛΟΑΚΑΡΝΑΝΙΑ	20	ΜΑΓΝΗΣΙΑ	1
ΑΤΤΙΚΗ	5	ΣΑΜΟΣ	10
ΑΤΤΙΚΗ-ΑΙΓΙΝΑ	8	ΣΚΥΡΟΣ	6
ΑΤΤΙΚΗ-ΕΚΤΡΟΦΕΙΟ	3	ΤΡΙΚΑΛΑ	1
ΑΤΤΙΚΗ-ΚΥΘΗΡΑ	8	ΦΘΙΩΤΙΔΑ	27
ΑΤΤΙΚΗ-ΠΟΡΟΣ	3	ΦΩΚΙΔΑ	29
ΑΤΤΙΚΗ-ΣΑΛΑΜΙΝΑ	4	ΧΙΟΣ	12
ΑΧΑΪΑ	1	ΚΥΠΡΟΣ <i>A. chukar</i>	11
ΒΟΙΩΤΙΑ	29	ΣΕΡΒΙΑ <i>A. graeca</i>	2
ΔΡΑΜΑ	3	FYROM <i>A. graeca</i>	3
ΕΥΒΟΙΑ	30	ΥΠΟΣΥΝΟΛΟ	308
ΕΥΡΥΤΑΝΙΑ	17	ΙΣΠΑΝΙΑ <i>A. rufa</i>	3
ΙΩΑΝΝΙΝΑ	24	ΚΟΜΟΤΗΝΗ <i>A. c. kleini</i>	6
ΚΑΡΔΙΤΣΑ	1	Μη αναλυθέντα δείγματα	25
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΑΜΟΡΓΟΣ	1	ΣΥΝΟΛΟ	342
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΑΝΔΡΟΣ	8		
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΔΗΛΟΣ	1		
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΘΗΡΑ	2		
ΜΑΚΡΟΝΗΣΟΣ	3		
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΜΗΛΟΣ	2		
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΝΑΞΟΣ	4		
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΠΑΡΟΣ	9		
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΣΙΦΝΟΣ	4		
ΚΥΚΛ-ΣΥΡΟΣ-ΕΚΤΡΟΦ	1		
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΤΗΝΟΣ	10		
ΛΑΚΩΝΙΑ	2		
ΛΕΥΚΑΔΑ	3		

5.2. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΟΛΙΚΟΥ DNA

Η απομόνωση ολικού γονιδιωματικού DNA έγινε από κατεψυγμένο μυϊκό ιστό ή ιστούς διατηρημένους σε αιθανόλη, ή από τον πολφό φτερών. Χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο εξαγωγής DNA που περιγράφεται από τους **Grewe *et al.* (1993)** και **Hillis *et al.* (1996)** και στηρίζεται στη χρήση της μεθοδολογίας CTAB (hexad-cyl-trimethylammonium bromide) ή την κλασική μέθοδο **Maniatis *et al.* (1982)**. Το καθαρό DNA διαλυόταν με την προσθήκη 50-150 μl κατάλληλου ρυθμιστικού διαλύματος TE. Τα δείγματα διατηρούνταν στους 4°C για 1-2 ημέρες, έως ότου ολοκληρωθεί η διάλυση του DNA και κατόπιν φυλάσσονταν στους -20 °C. Η ποιότητα του DNA ελεγχόταν με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης. Εφόσον η ποιότητα κρινόταν ικανοποιητική, ακολουθούσε ενίσχυση με τη μέθοδο PCR.

5.3. ΑΛΥΣΙΔΩΤΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ

Η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR) είναι μια εργαστηριακή ελεγχόμενη, εκτός οργανισμού, αντίδραση ενζυμικού πολλαπλασιασμού επιλεγμένων αλληλουχιών του DNA από ελάχιστες αρχικές ποσότητες μητρικού DNA (**Saiki *et al.* 1988**). Η *in vitro* αντίδραση αυτή πολυμερισμού του DNA μιμείται σε κάποιο βαθμό τη φυσική διαδικασία του αναδιπλασιασμού του DNA και πραγματοποιείται σε ειδικά όργανα, τους *θερμοκυκλοφορητές*. Συγκεκριμένα μια Taq DNA πολυμεράση, η οποία βάσει ενός πρότυπου δίκλωνου DNA και παρουσία κατάλληλου ρυθμιστικού διαλύματος και ενός ζεύγους ολιγονουκλεοτιδικών εκκινητών, των τεσσάρων τριφωσφορικών δεοξυνουκλεοτιδίων (dNTPs), ιόντων Μαγνησίου (Mg^{++}) συνθέτει, *in vitro*, εκατομμύρια νέα πιστά αντίγραφα μόρια DNA, ως προς εκείνο το τμήμα της ακολουθίας του αρχικού εκμαγείου, το οποίο περικλείεται ανάμεσα στους DNA εκκινητές. Η όλη διαδικασία περιλαμβάνει μία σειρά επαναλαμβανόμενων κύκλων (συνήθως 30-35):

- Θερμικής αποδιάταξης του δίκλωνου DNA-εκμαγείου στους 94⁰ C.
- Υβριδισμού των κατάλληλων ολιγονουκλεοτιδικών εκκινητών στις συμπληρωματικές ακολουθίες του δίκλωνου DNA-εκμαγείου.
- Σύνθεση-Επιμήκυνση των συμπληρωματικών ακολουθιών.

Τα κυριότερα πλεονεκτήματα της τεχνικής PCR είναι η ταχύτητα ανάλυσης και το γεγονός ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν πολύ μικρές ποσότητες αρχικού δείγματος ιστού από το οποίο θα απομονωθεί το DNA, ενώ τα προϊόντα της μπορούν να χρησιμοποιηθούν για μεγάλο εύρος αναλύσεων του γενετικού υλικού. Ωστόσο, συχνά είναι απαραίτητο να προϋπάρχει κάποια γνώση για την υπό εξέταση αλληλουχία. Ακόμη το μέγεθος της αλληλουχίας δεν μπορεί να υπερβαίνει μερικές χιλιάδες βάσεων. Υφίσταται, τέλος, και ο κίνδυνος επιμόλυνσης του υπό ενίσχυση DNA.

5.4. ΑΝΑΛΥΣΗ DNA

Στο ερευνητικό έργο, ο προσδιορισμός της γενετικής ταυτότητας των πληθυσμών των δύο ειδών πέρδικας πραγματοποιήθηκε με δύο διαφορετικές μοριακές (DNA) τεχνικές:

- A) Την ανάλυση του πολυμορφισμού δύο περιοχών του μιτοχονδριακού DNA.*
- B) Την ανάλυση του πολυμορφισμού μικροδορυφορικών δεικτών του πυρηνικού DNA.*

5.4.1. Ανάλυση πολυμορφισμού μιτοχονδριακού DNA

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) χρησιμοποιήθηκε για να ενισχυθούν δύο περιοχές του μιτοχονδριακού DNA, η περιοχή του βρόχου εκτόπισης (D-loop) και η περιοχή που κωδικοποιεί για το κυτόχρωμα b (Cyt-b).

5.4.1.1. Ενίσχυση του βρόχου εκτόπισης

Στην παρούσα μελέτη ενισχύθηκε, με τη μέθοδο PCR, ένα τμήμα 1250 περίπου βάσεων της περιοχής του βρόχου εκτόπισης (D-loop) του μιτοχονδριακού γονιδιώματος. Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν είναι αυτοί που υπάρχουν στη βιβλιογραφία γι' αυτά τα είδη (**Randi et al. 2003**) και συγκεκριμένα:

Εκκινητής L 5' - AGGACTACGGCTTGAAAAGC-3' και

Εκκινητής H 5' - CATCTTGGCATCTTCAGTGCC-3'.

Οι άριστες συνθήκες για την PCR βρέθηκαν με πειραματισμό.

Κατά τη διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας οφείλουμε να είμαστε ιδιαίτερα προσεκτικοί για να αποφευχθεί τυχόν επιμόλυνση του μίγματος αντίδρασης με εξωγενές DNA, πιθανές πηγές του οποίου είναι το εργαστηριακό περιβάλλον, οι πιπέττες, τα μικρορύγχη, τα χημικά αντιδραστήρια, αλλά ακόμη και η ομιλία ή ο βήχας.

5.4.1.2. Ενίσχυση της περιοχής του cyt- b

Σύμφωνα με την εργασία του **Randi (1996)** οι DNA - εκκινητές που θα έπρεπε να χρησιμοποιηθούν ήταν αυτοί που περιγράφηκαν στην εργασία των **Kornegay et al. (1993)**. Οι εκκινητές αυτοί είναι οι #2 και #10 που τα 5' άκρα τους αντιστοιχούν στα νουκλεοτίδια 14851 και 16065 του μιτοχονδριακού DNA του κοτόπουλου (*Gallus gallus*). Συνεπώς χρησιμοποιήθηκαν αυτοί οι εκκινητές στα αρχικά πειράματα ενίσχυσης του DNA με τη μεθοδολογία της PCR. Παρ' όλα αυτά τα αποτελέσματα δεν ήταν τα αναμενόμενα, αφού οι συγκεκριμένοι DNA εκκινητές φαίνεται να ενισχύουν κομμάτι 650-700 βάσεων αντί για κομμάτι 1143 βάσεων που αναμενόταν.

Για το λόγο αυτό παραγγέλθηκε ένα καινούριο ζευγάρι εσωτερικών εκκινητών το οποίο σχεδιάστηκε με βάση τις κατατεθειμένες ακολουθίες των δύο ειδών (**Randi 1996**) *Alectoris* (*A. graeca* και *A. chukar*) από μέλος της ερευνητικής ομάδας, το Λέκτορα Αλέξανδρο Τριανταφυλλίδη (**Πίν. 7**). Τελικά, ενισχύθηκε περιοχή μήκους 1113 bp. Οι ακολουθίες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν, η GI/747862 για το είδος *A. graeca* και η GI/336394 για το είδος *A. chukar*.

Πίνακας 7. Πρωτοταγής ακολουθία των εκκινητών για την ενίσχυση της περιοχής του cyt- b

Εκκινητές Kornegay	
Εκκινητής L14851	5'- TACCTGGGTTTCCTTCGCCCT-3'
Εκκινητής H16065	5'- AACTGCAGTCATCTCCGGTTTACAAGAC-3'
Νέοι Εκκινητές	
Εκκινητής R	5'- CCAATTATGGGGAAGAGGAT-3'
Εκκινητής F	5'- CACCCAATATCCGAAAATC-3'

Στα επόμενα πειράματα δοκιμάστηκαν οι εξής συνδυασμοί εκκινητών:

- *Εκκινητής L και Εκκινητής H*: Ενισχύθηκε κομμάτι περίπου 650-700 bp.
- *Εκκινητής L και Εκκινητής R*: Ενισχύθηκε κομμάτι περίπου 650-700 bp.
- *Εκκινητής H και Εκκινητής F*: Ενισχύθηκε κομμάτι περίπου 1100 bp.
- *Εκκινητής F και Εκκινητής R*: Ενισχύθηκε κομμάτι περίπου 1100 bp.

Οι δύο τελευταίοι συνδυασμοί δίνουν το αναμενόμενο κομμάτι DNA. Από τους δύο συνδυασμούς επιλέχθηκε το ζευγάρι των εκκινητών F και R γιατί με αυτούς λαμβανόταν καλύτερο και πιο σταθερό προϊόν στην PCR.

Οι άριστες συνθήκες για την PCR βρέθηκαν με πειραματισμό.

5.4.1.3. Πέψεις με ένζυμα περιορισμού

Οι δύο περιοχές του μιτοχονδριακού DNA που ενισχύθηκαν (D-loop και *cyt-b*), ελέγχθηκαν για την ύπαρξη πολυμορφισμών με τη **μέθοδο ανάλυσης του Πολυμορφισμού Μήκους Περιοριστικών Τμημάτων DNA** (Restriction Fragment Length Polymorphism-**RFLP**). Τα ενισχυμένα τμήματα του DNA κόπηκαν με 10 ένζυμα περιορισμού στην περιοχή του κυτοχρώματος b (*AluI*, *AseI*, *DpnII*, *HaeIII*, *HincII*, *HinfI*, *NlaIII*, *RsaI*, *StyI* και *TaqI*) και 5 στην περίπτωση της περιοχής του βρόχου εκτόπισης (*AseI*, *BglII*, *HindIII*, *NlaIII* και *RsaI*) σύμφωνα με τις οδηγίες των κατασκευαστών. Τα προϊόντα κάθε πέψης διαχωρίστηκαν σε ηλεκτροφόρηση με πηκτές αγαρόζης. Τα ένζυμα αυτά δεν επιλέχθηκαν τυχαία αλλά με βάση τις κατατεθειμένες ακολουθίες των δύο ειδών. Συγκεκριμένα σκοπός κατά την επιλογή ήταν να επιλεγθούν κάποια ένζυμα τα οποία να μπορούν:

I) να ταυτοποιήσουν τα δύο είδη (*A. g. graeca* και *A. chukar*), όπως στην περιοχή του κυτοχρώματος b τα ένζυμα περιορισμού *AluI*, *DpnII*, *AseI*, *TaqI*, *HincII*, *HinfI*, *TaqI* και *StyI* και στην περιοχή του βρόχου εκτόπισης τα *AseI*, *NlaIII* και *RsaI*.

II) να ταυτοποιήσουν το υποείδος *Alectoris graeca graeca* και να το διαχωρίζουν από το υποείδος της Σικελίας *A. g. whitakeri*, όπως στην περίπτωση της περιοχής του βρόχου εκτόπισης τα *BglII* και *HindIII*.

III) να ελέγξουν για ύπαρξη πολυμορφισμού μέσα στους πληθυσμούς.

5.4.1.4. Στατιστική ανάλυση

Κάθε διαφορετικό πρότυπο (σύνολο κομματιών DNA συγκεκριμένου αριθμού και μεγέθους) που προέκυπτε από την πέψη με ένα ένζυμο περιορισμού συμβολιζόταν με ένα κεφαλαίο αγγλικό γράμμα (π.χ. A, B, C). Έτσι, κάθε άτομο χαρακτηρίστηκε από ένα σύνολο γραμμμάτων που αποτελούσε το σύνθετο μιτοχονδριακό γενότυπό του. Με βάση τις διαφορές στα μήκη των κλασμάτων που προέκυπταν κατά τις πέψεις, προσδιορίστηκαν και οι διαφορές μεταξύ των περιοριστικών θέσεων κοπής, αποδίδοντας τις αλλαγές στον αριθμό και το μέγεθος των κομματιών αποκλειστικά σε απώλεια ή δημιουργία θέσεων κοπής (και όχι σε άλλες αναδιατάξεις). Οι επόμενες αναλύσεις έγιναν με βάση τις θέσεις περιορισμού.

Η επεξεργασία των δεδομένων που προέκυψαν από την ανάλυση με ένζυμα περιορισμού του κυτοχρώματος b του μιτοχονδριακού DNA έγινε με το στατιστικό πακέτο REAP (McElroy *et al.* 1991). Το πρόγραμμα αυτό υπολογίζει τις τιμές της νουκλεοτιδικής απόκλισης (D), που αντιπροσωπεύουν τον αριθμό των νουκλεοτιδικών υποκαταστάσεων ανά θέση, για κάθε ζεύγος απλοτύπων (Nei and Tajima 1981, Nei and Miller 1990). Η κατασκευή φυλογενετικών δέντρων και ο υπολογισμός των επιπέδων αξιοπιστίας στις διακλαδώσεις τους έγινε με το στατιστικό πακέτο PHYLIP 3.75c (Felsenstein 1995).

5.4.2. Ανάλυση πολυμορφισμού μικροδορυφορικού DNA

Πρόκειται για μια τεχνική που εντοπίζει μικρές επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες νουκλεοτιδίων στο πυρηνικό DNA, των οποίων ο αριθμός επαναλήψεων διαφέρει ακόμη και σε ατομικό επίπεδο. Οι δείκτες (τόποι) του μικροδορυφορικού DNA χαρακτηρίζονται από μεγάλο αριθμό αλληλομόρφων και ως εκ τούτου μπορεί να δοθεί ακόμη και το μοριακό πρότυπο κάθε ατόμου πέρδικας. Εξαιτίας της αφθονίας τους και του υψηλού βαθμού πολυμορφισμού τους, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να διακρίνουν άτομα, πληθυσμούς, είδη ή υβρίδια, ανάλογα με το βαθμό ποικιλομορφίας τους και την κατανομή των αλληλομόρφων. **Κατά συνέπεια, η μεθοδολογία επιτρέπει την αξιόπιστη ταυτοποίηση όλων των ατόμων ενός πληθυσμού.**

Πειραματική διαδικασία: Στα πλαίσια του προγράμματος της γενετικής ταυτοποίησης της πέρδικας και προκειμένου να μελετηθεί η γενετική δομή των φυσικών

πληθυσμών της ορεινής και της νησιωτικής πέρδικας στον Ελλαδικό χώρο αρχικά χρησιμοποιήθηκαν 28 μικροδορυφορικοί δείκτες. Οι 22 από αυτούς προέρχονταν από τη σειρά **MCW (Wageningen agricultural University)** και είναι ειδικοί για το είδος *Gallus gallus* (<http://www.zod.wau.nl/abg/index.html>). Οι MCW δείκτες που επιλέχθηκαν για το σκοπό αυτό είναι οι: **MCW4, MCW77, MCW118, MCW121, MCW135, MCW146, MCW195, MCW199, MCW209, MCW210, MCW211, MCW215, MCW225, MCW252, MCW276, MCW280, MCW295, MCW301, MCW316, MCW323, MCW331 και MCW333**. Οι υπόλοιποι έξι μικροδορυφορικοί δείκτες ήταν της σειράς **Aru (Gonzalez et al. 2005)**, οι **Aru1.09, Aru1.19, Aru1.22, Aru1.23, Aru1.27 και Aru1.29**, και ήταν ειδικοί για το είδος *Alectoris rufa*. Η επιλογή των προηγούμενων δεικτών στηρίχθηκε σε προγενέστερα ερευνητικά δεδομένα τα οποία ανέφεραν τη χρήση των δεικτών **MCW118, MCW121, MCW135, MCW146, MCW199, MCW215, MCW225, MCW252, MCW276, MCW280, MCW295 και MCW323** για τη μελέτη του πολυμορφισμού του μικροδορυφορικού DNA στο είδος *A. graeca* (**Randi et al. 2003, Gonzales et al. 2005**), και των δεικτών **Aru1.09, Aru1.19, Aru1.22, Aru1.23, Aru1.27 και Aru1.29**, αντίστοιχα στο είδος *A. rufa* (**Gonzalez et al. 2005**). Οι υπόλοιποι δείκτες της σειράς MCW που χρησιμοποιήθηκαν επελέγησαν τυχαία, εφόσον δεν υπήρχαν προγενέστερες αναφορές για χρήση τους στα είδη του γένους *Alectoris*. Κυριότερα κριτήρια για την επιλογή τους αποτέλεσαν η ομοιογένεια, επελέγησαν δηλαδή τέλειοι μικροδορυφορικοί τύποι, καθώς και το μέγεθος του επαναλαμβανόμενου μοτίβου (δινουκλεοτίδιο). Για 8 γενετικούς δείκτες (**MCW195, MCW209, MCW276, MCW316, MCW323, MCW331, Aru1.22 και Aru1.29**) δεν κατέστη δυνατή η ενίσχυση.

Η ενίσχυση των επιλεγμένων μικροδορυφορικών τύπων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (PCR). Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν 20 ζεύγη ολιγονουκλεοτιδικών εκκινήτων. Από τα 20 ζεύγη των εκκινήτων που επελέγησαν να χρησιμοποιηθούν περαιτέρω για τον προσδιορισμό των γενοτύπων, ο ένας (εκκινήτης F) ήταν επισημασμένος στο 5' άκρο του με τη φθορίζουσα χρωστική **IRDye800TM**. Η συγκεκριμένη χρωστική διαθέτει καρβοδιμιδικές μονάδες και έχει την ικανότητα να σχηματίζει ομοιοπολικό δεσμό με τη θυμίνη (T) και τη γουανίνη (G) τόσο μονόκλωνων όσο και δίκλωνων μόριων DNA. Η **IRDye800TM** έχει φάσμα

απορρόφησης στα 800 nm και ανήκει σε μια ευρύτερη κατηγορία φθορίζοντων χρωστικών (Near-Infrared (NIR) fluorescence) που απορροφούν στο εγγύς υπέρυθρο (670-1000 nm), συνδέονται με βιολογικά μακρομόρια και έχουν συμβάλει σημαντικά στην αυτοματοποίηση της DNA ανάλυσης (εύρεση πρωτοδιάταξης και γενοτύπηση).

Για τον προσδιορισμό των βέλτιστων συνθηκών ενίσχυσης των προεπιλεγμένων μικροδορυφορικών τόπων, πραγματοποιήθηκε ένας μεγάλος αριθμός δοκιμών. Οι δοκιμές αυτές περιελάμβαναν αλλαγές στη θερμοκρασία σύνδεσης των εκκινητών στο DNA εκμαγείο και της συγκέντρωσης $MgCl_2$ στο μίγμα της αντίδρασης για κάθε έναν από τους μικροδορυφορικούς τόπους που εξετάστηκαν. Με τον τρόπο αυτό καθορίστηκε ο συνδυασμός θερμοκρασίας σύνδεσης – συγκέντρωσης $MgCl_2$, που δίνει ικανοποιητική ενίσχυση για κάθε μικροδορυφορικό τόπο.

Ο έλεγχος της επιτυχίας της PCR γινόταν, με ηλεκτροφόρηση των δειγμάτων σε πηκτή αγαρόζης, παρουσία κατάλληλου μάρτυρα (100 bp οδηγού DNA), και ακολουθούσε παρατήρηση σε τράπεζα υπεριώδους φωτός. Εφόσον το αποτέλεσμα ήταν θετικό, πραγματοποιούνταν ηλεκτροφόρηση των δειγμάτων σε πηκτή πολυακρυλαμίδης 6,5% σε αυτόματο αναλυτή *LI-COR® Global Edition IR² System*, για να ακολουθήσει στη συνέχεια γενοτύπηση των δειγμάτων των γονιδιακών τόπων.

5.4.2.1. Στατιστική ανάλυση

Αρχικά, χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό DROPOUT (**McKelvey and Schwartz, 2005**), το οποίο είναι κατάλληλο για την εύρεση πιθανόν λαθών που έγιναν κατά τη γενοτύπηση και επίσης για τον αποκλεισμό διαφορετικών δειγμάτων που ανήκουν όμως στο ίδιο άτομο.

Οι συντελεστές ενδοπληθυσμιακής ανάλυσης στους οποίους περιλαμβάνονται: α) οι συχνότητες των αλληλομόρφων κάθε γονιδίου, β) ο μέσος αριθμός αλληλομόρφων ανά γονιδιακό τόπο, γ) το ποσοστό των πολυμορφικών γονιδιακών τόπων, και δ) ο βαθμός ετεροζυγωτίας υπολογίστηκαν με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος GENETIX 4.0 (**Belkhir 1999**), ή με τη βοήθεια του εργαλείου της Microsoft Excell, Microsatellite Toolkit (**Park 2001**).

Ο έλεγχος της ισορροπίας Hardy-Weinberg για κάθε γονιδιακό τόπο ξεχωριστά, για τους επιμέρους πληθυσμούς των δύο ειδών, καθώς και οι έλεγχοι πληθυσμιακής

διαφοροποίησης έγιναν με βάση την κατανομή των αλληλομόρφων με τη βοήθεια προσομοιώσεων (ακριβή τεστ) με το στατιστικό πρόγραμμα GENEPOP 3.3 (**Raymond and Rousset 1995**).

Η κατάταξη (assignment) των ατόμων σε είδη *A. graeca* και *A. chukar* αρχικά πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του προγράμματος GENECLASS (**Cornuet et al. 1999**). Το πρόγραμμα αυτό εντάσσει το κάθε άτομο με βάση το γενότυπό του, στο πληθυσμό εκείνο στον οποίο υπάρχει μεγαλύτερη πιθανότητα να ανήκει. Για να εκτιμηθεί η πιθανότητα να παρατηρηθεί ένας δεδομένος γενότυπος σε έναν από τους υπό μελέτη πληθυσμούς χρησιμοποιείται η προσέγγιση (Bayesian approach) των **Rannala and Mountain (1997)**, η οποία δέχεται την ύπαρξη ισορροπίας Hardy-Weinberg και ισορροπίας σύνδεσης σε όλους τους δυνατούς συνδυασμούς γονιδιακών τόπων-πληθυσμών. Στο τελικό στάδιο ανάλυσης των αποτελεσμάτων, η κατάταξη των ατόμων σε είδη *A. graeca* και *A. chukar* πραγματοποιήθηκε με χρήση του προγράμματος STRUCTURE 2.0, το οποίο στηρίζεται στη *Bayesian* μέθοδο ομαδοποίησης (**Pritchard et al. 2000**). Με βάση το συγκεκριμένο πρόγραμμα, κάθε άτομο εντάσσεται σε ένα πληθυσμό, ή ακόμη και σε δύο ή περισσότερους πληθυσμούς, ώστε στον κάθε πληθυσμό να υπάρχει ισορροπία Hardy – Weinberg.

Επιπρόσθετα, πραγματοποιήθηκε στους πληθυσμούς Παραγοντική Ανάλυση Αντιστοίχισης (Factorial Correspondence Analysis = AFC) με τη βοήθεια του προγράμματος GENETIX 4.0 (**Belkhir 1999**), από την οποία προέκυψαν τρισδιάστατα γραφήματα που χωρίζουν τη συνολική ποικιλότητα των ατόμων σε άξονες.

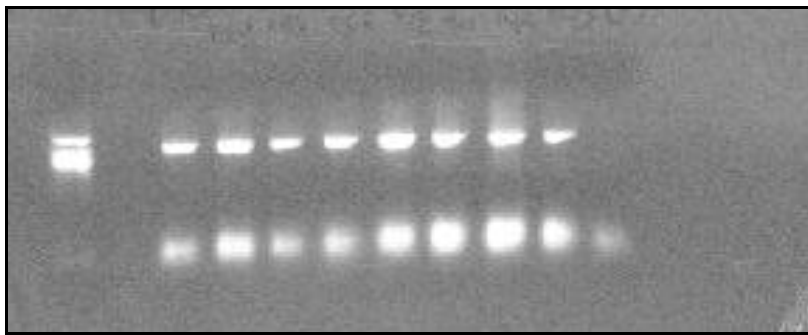
Τα άτομα του κάθε είδους χωρίστηκαν σε επί μέρους πληθυσμούς, ανάλογα με τη γεωγραφική τους προέλευση, και με βάση τις συχνότητες των αλληλομόρφων τους για τον κάθε μικροδορυφορικό τόπο, κατασκευάστηκαν φυλογενετικά δένδρα με τη μέθοδο Neighbor – Joining (**Saitou and Nei 1987**) με τη βοήθεια της παραμέτρου CONTML του προγράμματος PHYLIP 3.6 (**Felsenstein 1995**). Επίσης ξανά με τη βοήθεια του προγράμματος STRUCTURE 2.0, ομαδοποιήθηκαν τα άτομα των επί μέρους γεωγραφικών πληθυσμών, σε ένα ή και περισσότερους υποπληθυσμούς που πληρούν τα κριτήρια της ισορροπίας Hardy – Weinberg (**Pritchard et al. 2000**).

6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

6.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟΥ DNA

6.1.1. Βρόχος εκτόπισης

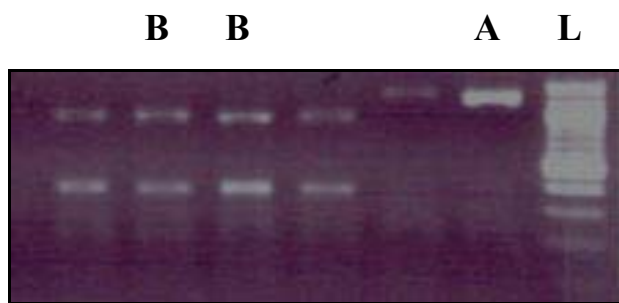
Η περιοχή του βρόχου εκτόπισης (D-loop) του μιτοχονδριακού γονιδιώματος ενισχύθηκε με PCR (**Εικ. 8**). Το μέγεθος της περιοχής που ενισχύθηκε προσδιορίστηκε σε ~1250 βάσεις. Οι εκκινητές στα δείγματα μας συνδέονται σε τμήμα εκτός του γονιδίου, που είναι κατατεθειμένο στην GENBANK, με αποτέλεσμα η περιοχή που ενισχύεται να είναι 100 βάσεις μεγαλύτερη από τις βιβλιογραφικές αναφορές, που είναι 1155 βάσεις (**Randi and Lucchini 1998**).



Εικόνα 8. Ενισχυμένα τμήματα της περιοχής D-loop ύστερα από PCR.

Εν συνεχεία τα ενισχυμένα τμήματα DNA κόπηκαν με ενδονουκλεάσες περιορισμού. Τα ένζυμα διαλέχτηκαν με βάση τις ακολουθίες που είναι κατατεθειμένες στη GENBANK. Τα ένζυμα *Bgl*III και *Hind*III χρησιμοποιήθηκαν για τη διάκριση του υποείδους *Alectoris graeca whittakeri* που εντοπίζεται στη Σικελία, από τα υπόλοιπα υποείδη του είδους. Το *Bgl*III δεν αναγνωρίζει αλληλουχία πέψης στο υποείδος της Σικελίας, ενώ το *Hind*III πέπτει το γονιδίωμα του σε ένα σημείο.

Τα ένζυμα *Ase*I, *Nla*III, *Rsa*I χρησιμοποιήθηκαν για τη διάκριση των ειδών *Alectoris graeca* και *Alectoris chukar* (**Εικ. 9 και 10**). Η γενοτύπηση των ατόμων για την περιοχή του βρόχου εκτόπισης έγινε με αυτά τα τρία περιοριστικά ένζυμα που αποκαλύπτουν πολυμορφισμό (*Ase*I, *Nla*III, *Rsa*I) στους Ελληνικούς πληθυσμούς.



Εικόνα 9. Πέψη στην περιοχή του βρόχου εκτόπισης με το ένζυμο περιορισμού *AseI*
A= *A. chukar*, B= *A. graeca*, L: Μάρτυρας 100 bp.



Εικόνα 10. Πέψεις στην περιοχή του βρόχου εκτόπισης με το ένζυμο περιορισμού *NlaIII*.

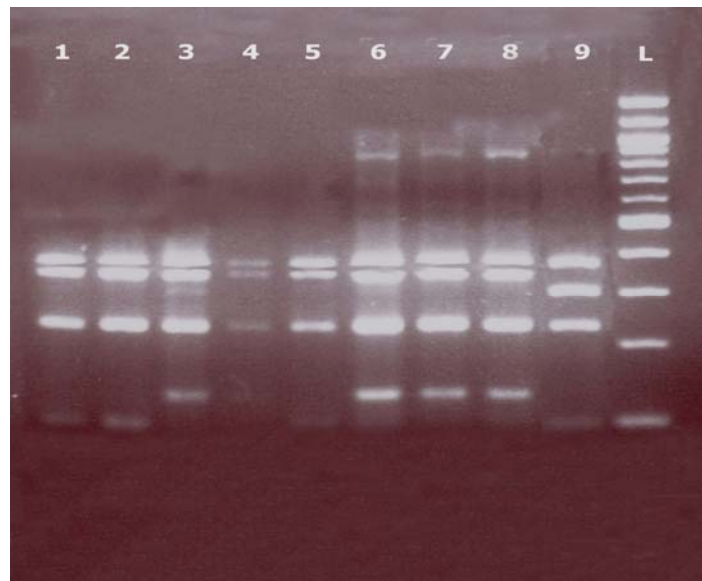
6.1.2. Κυτόχρωμα-b

Η ύπαρξη πολυμορφισμού ερευνήθηκε και στην περιοχή του κυτοχρώματος b του μιτοχονδριακού DNA ύστερα από ενίσχυση των δειγμάτων με τη μέθοδο PCR. Οι συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν έδιναν έντονες και καθαρές ζώνες κάθε φορά. Το μέγεθος της περιοχής του κυτοχρώματος b σε όλα τα πτηνά είναι 1143 ζεύγη βάσεων, ωστόσο επειδή χρησιμοποιήθηκαν εσωτερικοί εκκινητές ενισχύθηκε περιοχή 1113 ζευγών βάσεων. Σε όλα τα άτομα, προκειμένου να ελεγχθεί η ύπαρξη πολυμορφισμού, έγινε πέψη με 10 ένζυμα περιορισμού (*AluI*, *AseI*, *DpnII*, *HaeIII*, *HincII*, *HinfI*, *NlaIII*, *RsaI*, *StyI* και *TaqI*). Από τα ένζυμα αυτά, τα *AluI*, *AseI*, *DpnII*, *HincII*, *HinfI*, *StyI* και *TaqI* κάνουν δυνατή την ταυτοποίηση των δύο ειδών *Alectoris graeca* και *Alectoris chukar*. Παραδείγματα από τα αποτελέσματα των πέψεων φαίνονται στις **Εικόνες 11 και**

12. Τελικά, η γενотύπηση όλων των ατόμων στην περιοχή του *cyt-b* έγινε με τρία ένζυμα που αποκαλύπτουν πολυμορφισμό (*DpnII*, *HincII*, *HinfI*).



Εικόνα 11. Σχηματική απεικόνιση των προτύπων που προέκυψαν μετά από πέψη του κυτοχρώματος *b* με την ενδονουκλεάση *HincII*. Τα άτομα 1, 8-11 χαρακτηρίζονται από το πρότυπο Β, τα άτομα 4-7 από το πρότυπο Α και τα άτομα 2-3 από το πρότυπο C. Όπου L ο ladder (οδηγός, μάρτυρας).



Εικόνα 12. Σχηματική απεικόνιση των προτύπων που προέκυψαν μετά από πέψη του κυτοχρώματος *b* με την ενδονουκλεάση *HinfI*. Τα άτομα 3, 4, 6-8 χαρακτηρίζονται από το πρότυπο Β, το άτομο 9 από το πρότυπο Α και τα άτομα 1, 2 και 5 από το πρότυπο C. Όπου L ο ladder (οδηγός).

6.1.3 Κατανομή και ποικιλότητα μιτοχονδριακών απλοτύπων

Τα αποτελέσματα των πέψεων της ενίσχυσης της περιοχής του κυτοχρώματος *b* (*cyt-b*) και του βρόχου εκτόπισης (D-loop) έδωσαν διάφορα ενζυμικά πρότυπα. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα είδη μπορούν αρχικά να ταυτοποιηθούν με τη βοήθεια του

μιτοχονδριακού DNA. Έτσι λοιπόν τα άτομα μπορούν να διαχωριστούν σε δύο γενικές ομάδες την Α (*A. chukar*) και Β (*A. graeca*). Σε σύνολο 317 αναλυθέντων ατόμων τα 120 ανήκουν στην *A. chukar*, τα 188 στην *A. graeca*, ενώ τα 2 από 3 δείγματα ανήκουν στην *A. rufa*, και τα 6 στην *A. c. kleini* (Πίνακας 8).

Πίνακας 8. Περιοχές δειγματοληψίας, αριθμός ατόμων (n) και κατανομή δειγμάτων ανά είδος κατά τη συνολική διάρκεια του προγράμματος, όπως αυτά ταυτοποιήθηκαν με τη βοήθεια της ανάλυσης του μιτοχονδριακού DNA (Α= *A. chukar* Β= *A. graeca*)

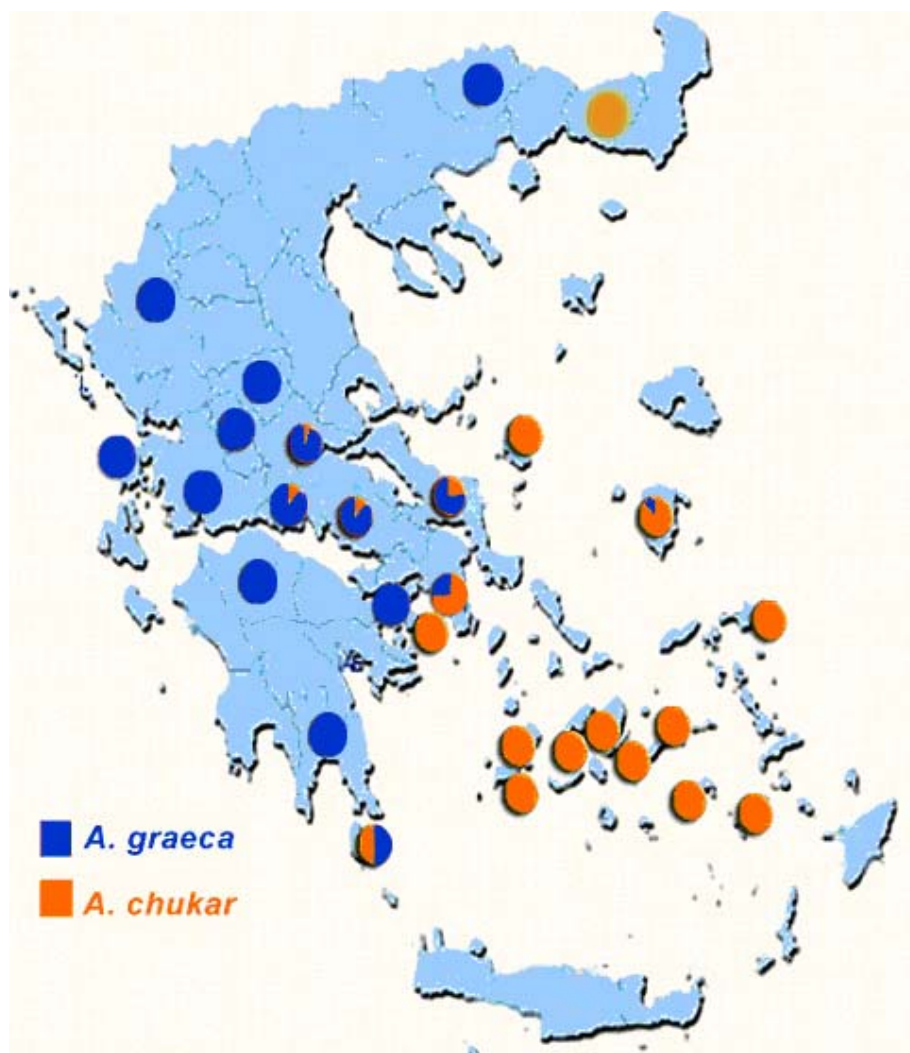
ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΕΣ	N	A	B
ΑΙΤΩΛΟΑΚΑΡΝΑΝΙΑ	20		20
ΑΤΤΙΚΗ	5	3	2
ΑΤΤΙΚΗ-ΑΙΓΙΝΑ	8	8	
ΑΤΤΙΚΗ-ΕΚΤΡΟΦΕΙΟ	3	3	
ΑΤΤΙΚΗ-ΚΥΘΗΡΑ	8	4	4
ΑΤΤΙΚΗ-ΠΟΡΟΣ	3		3
ΑΤΤΙΚΗ – ΣΑΛΑΜΙΝΑ	4	4	
ΑΧΑΪΑ	1		1
ΒΟΙΩΤΙΑ	29	3	26
ΔΡΑΜΑ	3		3
ΕΥΒΟΙΑ	30	8	22
ΕΥΡΥΤΑΝΙΑ	17		17
ΙΩΑΝΝΙΝΑ	24		24
ΚΑΡΔΙΤΣΑ	1		1
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΑΜΟΡΓΟΣ	1	1	
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΑΝΔΡΟΣ	8	8	
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΔΗΛΟΣ	1	1	
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΘΗΡΑ	2	2	
ΜΑΚΡΟΝΗΣΟΣ	3	3	
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΜΗΛΟΣ	2	2	
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΝΑΞΟΣ	4	4	
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΠΑΡΟΣ	9	9	
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΣΙΦΝΟΣ	4	4	
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΣΥΡΟΣ	1	1	
ΚΥΚΛΑΔΕΣ-ΤΗΝΟΣ	10	10	
ΛΑΚΩΝΙΑ	2		2
ΛΕΥΚΑΔΑ	3		3
ΜΑΓΝΗΣΙΑ	1		1
ΣΑΜΟΣ	10	10	
ΣΚΥΡΟΣ	6	6	
ΤΡΙΚΑΛΑ	1		1
ΦΘΙΩΤΙΔΑ	27	2	25
ΦΩΚΙΔΑ	29	2	27
ΧΙΟΣ	12	11	1
ΚΥΠΡΟΣ <i>A. chukar</i>	11	11	
ΣΕΡΒΙΑ <i>A. graeca</i>	2		2
FYROM <i>A. graeca</i>	3		3
ΣΥΝΟΛΟ	308	120	188
ΙΣΠΑΝΙΑ <i>A. rufa</i>	2		
ΚΟΜΟΤΗΝΗ <i>A. c. kleini</i>	6		
Μη αναλυθέντα δείγματα	25		
ΣΥΝΟΛΟ	342		

Για κάθε άτομο προσδιορίστηκαν αναλυτικά αποτελέσματα πέψεων των δύο περιοχών (κυτόχρωμα b για 10 ένζυμα και D-loop για 5 ένζυμα) του μιτοχονδριακού DNA, καθώς επίσης μόνο για τα τρία πολυμορφικά ένζυμα για κάθε περιοχή. Οι σύνθετοι γενότυποι και ο συνολικός αριθμός ατόμων για καθένα από αυτούς στον πρώτο χρόνο, το δεύτερο χρόνο και το σύνολο της δειγματοληψίας και για τις δύο περιοχές του μιτοχονδριακού γονιδιώματος που αναλύθηκαν παρουσιάζεται στον **Πίνακα 9**. Η κατανομή των μιτοχονδριακών απλοτύπων στον ελλαδικό χώρο συμφωνεί με τη γενικότερη γνώση για τη γεωγραφική εξάπλωση των ειδών (**Εικόνα 13**). Με βάση τα αποτελέσματα αποκλείστηκε η πιθανότητα να έχει μεταφερθεί το υποείδος *A. g. whitakeri* αφού δε βρέθηκε στον Ελληνικό χώρο κάποιο μιτοχονδριακό πρότυπο χαρακτηριστικό για αυτό το υποείδος.

Πίνακας 9. Σύνθετοι γενότυποι και συνολικός αριθμός ατόμων για καθένα από αυτούς στον πρώτο (1) και δεύτερο (2) χρόνο δειγματοληψίας. Η σειρά των ενζύμων περιορισμού που χρησιμοποιήθηκαν είναι: *AluI*, *AseI*, *DpnII*, *HaeIII*, *HincII*, *HinfI*, *NlaIII*, *RsaI*, *SpyI* και *TaqI* (κυτόχρωμα b) και *AseI*, *BglII*, *HindIII*, *NlaIII* και *RsaI* (D-loop)

No	Σύνθετος Γενότυπος	1	2	Σύνολο
C1	AAAAAAAAAA AAAAA	50	31	81
C2	AAAABAAAAA AAAAC	1	2	3
C3	AAAAAAAAAA AAADC	5	5	10
C4	AAAAAAAAAA AAAAC	3		3
C5	AACAACAAAA AAADC	4	1	5
C6	--A-AA---- A--DF		2	2
C7	--A-AA---- A--AD	4	4	8
C8	--A-AA---- A--AF		9	9
C9	----- C--EE		6	6
G1	BBBABBBAAB BAABB	99	81	183
G2	BBBACBAAB BAACB	3	1	4
G3	--B-CB---- B--CG		1	1
R1	--B-BD---- A--AG		2	2
Σύνολο		169	148	317

Ο συνολικός αριθμός των ατόμων στον πίνακα είναι χαμηλότερος από τον αριθμό των ατόμων που έχουν απλώς ταυτοποιηθεί γενετικά, επειδή σε κάποιες περιπτώσεις δεν ήταν δυνατή η συμπλήρωση των προτύπων σε όλα τα ένζυμα.



Εικόνα 13. Η κατανομή των μιτοχονδριακών απλοτύπων σε δείγματα πέρδικας στον Ελλαδικό χώρο.

Στις περιοχές του ελλαδικού χώρου όπου έγινε δειγματοληψία βρέθηκαν δώδεκα διαφορετικοί απλότυποι (σύνθετοι γενότυποι) στα είδη *A. chukar* και *A. graeca*. Από αυτούς οι εννιά ανήκουν στο είδος *A. chukar* (C1-C9) και οι τρεις στο *A. graeca* (G1-G3). Ένας διαφορετικός απλότυπος (C9) αντιστοιχεί στο υποείδος *A. chukar kleini* από την Κομοτηνή. Τα 2 άτομα της *A. rufa* παρουσιάζουν επίσης διαφορετικό απλότυπο (R1). Το τρίτο όμως άτομο εμφάνιζε τον απλότυπο C8 χαρακτηριστικό για το είδος *A. chukar* (βλ και συζήτηση για το μικροδορυφορικό DNA). Τα άτομα από τη Σερβία και τη FYROM εμφανίζουν τον κοινό απλότυπο της *A. graeca* (G1) και δε διακρίνονται από τα υπόλοιπα με βάση το μιτοχονδριακό τους αποτύπωμα. Τα άτομα από Κύπρο εμφανίζουν

σε μεγάλο ποσοστό (72%) έναν μιτοχονδριακό απλότυπο (C8) που κατά τα άλλα εμφανίζεται μόνο σε ένα άτομο από τη Σκύρο.

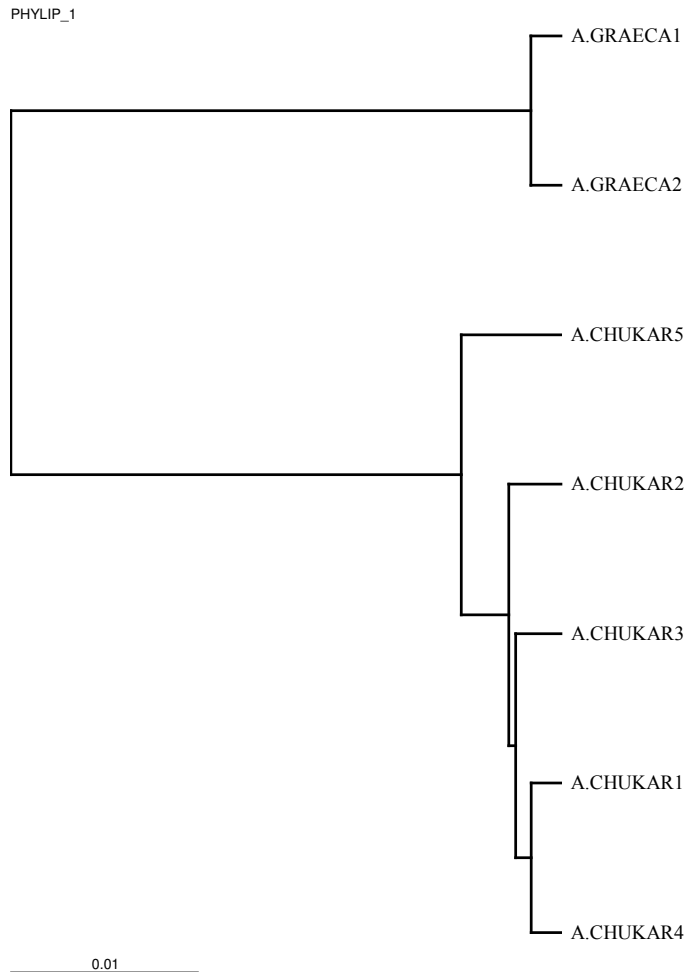
Οι πληθυσμοί της *A. graeca* εμφανίζουν γενικά ομοιογένεια με σχεδόν όλα τα άτομα (ακόμα και από Σερβία και τη FYROM) να χαρακτηρίζονται από έναν μόνο απλότυπο (G1). Οι πληθυσμοί της *A. chukar* εμφανίζουν υψηλότερη ποικιλομορφία αν και εδώ ένας απλότυπος (C1) εμφανίζεται με συχνότητα περίπου στο 70%. Ξεχωριστοί είναι οι πληθυσμοί της πέρδικας στα Κύθηρα, στην Άνδρο και στην Τήνο που εμφανίζουν απολειστικά ή σε υψηλές συχνότητες κάποιους μη συχνούς απλότυπους.

Οι τιμές της νουκλεοτιδικής απόκλισης υπολογίστηκαν ανάμεσα στα ζεύγη απλοτύπων της πρώτης χρονιάς μόνο όταν η ανάλυση έγινε για τα 15 ένζυμα περιορισμού. Οι τιμές κυμαινόταν από 0,6 – 1,3 % μέσα στο είδος *A. chukar*, ενώ η τιμή της νουκλεοτιδικής απόκλισης μεταξύ των δύο απλοτύπων στην *A. graeca* ήταν 0,3% (Πίν. 10). Η απόσταση μεταξύ των δύο ειδών ποικίλλει μεταξύ 6,4 - 6,6 %. Με βάση αυτές τις τιμές και για τη διερεύνηση των φυλογενετικών σχέσεων των ειδών *A. graeca* και *A. chukar*, κατασκευάστηκε ένα δένδρογραμμα UPGMA (Εικ. 14) με τη χρήση κατάλληλου στατιστικού πακέτου. Στο δένδρογραμμα αυτό αποκαλύπτονται δύο κύριες ομάδες πληθυσμών που αντιστοιχούν στα δύο είδη.

Πίνακας 10. Τιμές % της νουκλεοτιδικής απόκλισης ανάμεσα στα ζεύγη των 7 απλοτύπων που βρέθηκαν στα είδη *A. graeca* και *A. chukar* ύστερα από ανάλυση με τα 15 ένζυμα περιορισμού στον πρώτο χρόνο δειγματοληψίας

	Σύνθετοι Γενότυποι	CHUKAR1	CHUKAR2	CHUKAR3	CHUKAR4	CHUKAR5	GRAECA1	GRAECA2
CHUKAR1	AAAAAAAAAAAAAA	0,000						
CHUKAR2	AAAABAAAAAAAAAC	0,666	0,000					
CHUKAR3	AAAAAAAAAAAAADC	0,646	0,666	0,0000				
CHUKAR4	AAAAAAAAAAAAAAC	0,316	0,340	0,3163	0,000			
CHUKAR5	AACAACAAAAAADAC	1,314	1,325	0,6460	0,964	0,000		
GRAECA1	BBBABBAABBBAAAB	5,517	5,447	6,2995	5,823	5,517	0,0000	
GRAECA2	BBBACBAABBBAAACB	5,823	5,760	6,6082	6,126	5,823	0,3191	0,000

Εικ. 14. Δενδρόγραμμα που δείχνει τις φυλογενετικές σχέσεις των 7 απλοτύπων που βρέθηκαν από τη γενετική ταυτοποίηση των ατόμων στα είδη *A. graeca* και *A. chukar* ύστερα από ανάλυση με τα 15 ένζυμα περιορισμού στον πρώτο χρόνο δειγματοληψίας στο κυτόχρωμα b και τον βρόχο εκτόπισης

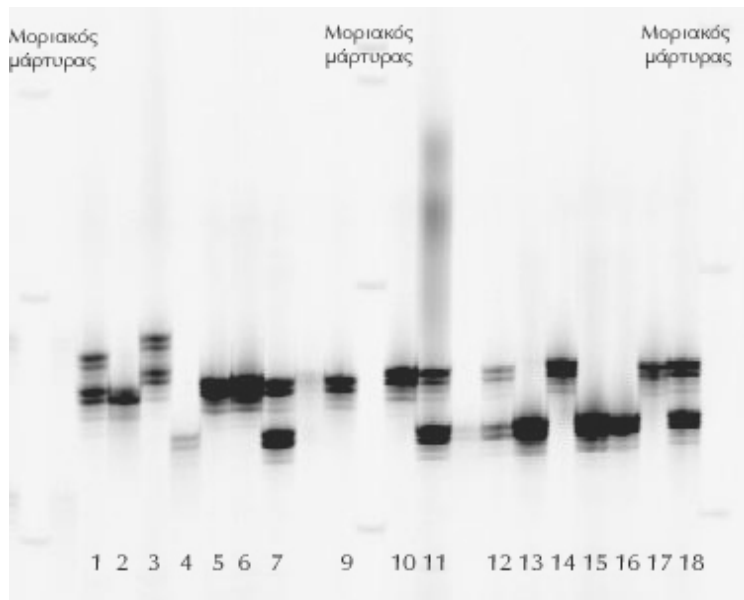


6.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΙΚΡΟΔΟΡΥΦΟΡΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Συνολικά εξετάστηκαν 28 μικροδορυφορικοί τόποι. Για τον προσδιορισμό των βέλτιστων συνθηκών ενίσχυσης για τον καθένα τους πραγματοποιήθηκε μεγάλος αριθμός δοκιμών, οι οποίες περιελάμβαναν αλλαγές στη θερμοκρασία σύνδεσης των εκκινητών στο DNA εκμαγείο καθώς επίσης και στη συγκέντρωση του $MgCl_2$ στο μίγμα της αντίδρασης. Τελικά ικανοποιητική ενίσχυση έδωσαν οι 20 από τους 28 μικροδορυφορικούς τόπους. Πρόκειται για τους δείκτες **MCW4, MCW77, MCW118, MCW121, MCW135, MCW146, MCW199, MCW210, MCW211, MCW215, MCW225, MCW252, MCW280, MCW295, MCW301, MCW333, Aru1.09, Aru1.19, Aru1.23** και **Aru1.27**, ενώ για τους υπόλοιπους οχτώ (**MCW195, MCW209, MCW276, MCW316, MCW323, MCW331, Aru1.22 και Aru1.29**) δεν ήταν δυνατή η ενίσχυση. Από τους 20 μικροδορυφορικούς τόπους που ενισχύθηκαν ικανοποιητικά, επελέγησαν αυτοί που θα αναλύονταν περαιτέρω, με βάση το αν οι ζώνες που προέκυψαν από την ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR σε πηκτή αγαρόζης παρουσίαζαν ή όχι ενδείξεις ύπαρξης πολυμορφισμού. Με βάση το παραπάνω σκεπτικό χρησιμοποιήθηκαν τελικά 16 μικροδορυφορικοί τόποι (**MCW77, MCW118, MCW121, MCW135, MCW146, MCW199, MCW215, MCW225, MCW252, MCW280, MCW295, MCW333, Aru1.09, Aru1.19, Aru1.23 και Aru1.27**).

Η γενοτύπηση των 16 μικροδορυφορικών δεικτών αποκάλυψε ότι οι τέσσερις από αυτούς (**MCW77, MCW252, MCW295 και MCW333**) είναι μονομορφικοί για το σύνολο των ατόμων που εξετάστηκαν, ενώ ο δείκτης **MCW280** παρουσίαζε χαμηλό βαθμό πολυμορφισμού. Για τη μελέτη των μονομορφικών τόπων, καθώς και του δείκτη **MCW280** αναλύθηκε μικρότερος αριθμός ατόμων που προέρχονταν από όλες τις διαφορετικές περιοχές δειγματοληψίας.

Οι γενότυποι όλων των ατόμων προσδιορίστηκε για τους 11 πολυμορφικούς δείκτες. Ενδεικτικά χαρακτηριστικά πρότυπα των γενοτύπων ενός μικροδορυφορικού δείκτη παρουσιάζονται στην **Εικ. 15**.



Εικόνα 15: Χαρακτηριστικά πρότυπα γενοτύπων του δείκτη MCW225.

1(117):	164/168
2(131), 5(139), 6(140), 9(143), 10(144), 14(149), 17(152):	164/164
3(137):	166/170
4(138), 13(148), 15(150), 16(151):	158/158
7(141), 11(145), 12(147), 18(153):	158/164

6.2.1. Αφαίρεση παρόμοιων δειγμάτων

Με βάση τους γενοτύπους που προέκυψαν από την εργαστηριακή ανάλυση, και με τη χρήση του προγράμματος DROPOUT, το οποίο δίνει τη δυνατότητα της σύγκρισης των γενοτύπων των δειγμάτων και αποκαλύπτει ποιοι από αυτούς είναι όμοιοι ή έχουν ελάχιστες διαφορές, αποκλείστηκαν τα δείγματα που φάνηκε ότι προέρχονταν από το ίδιο άτομο, ώστε από κάθε άτομο να υπάρχει μόνο ένα δείγμα .

Επίσης για να διευκολυνθεί η μελέτη των φυσικών πληθυσμών πέρδικας στον ελληνικό χώρο, αποκλείστηκαν 4 άτομα που προέρχονταν από εκτροφείο, καθώς και 5 άτομα *A. graeca* που προέρχονταν από το εξωτερικό FYROM και Σερβία). Ακόμη αποκλείστηκαν από την περαιτέρω στατιστική ανάλυση 3 δείγματα, στα οποία σε αρκετούς μικροδορυφορικούς τόπους δεν παρουσίασαν ενίσχυση με PCR. Επίσης,

αφαιρέθηκε το δείγμα της *A. rufa* από την Ισπανία που είχε μιτοχονδριακό απλότυπο καθώς και αλληλόμορφα στο μικροδορυφορικό DNA χαρακτηριστικά για την *A. chukar*.

6.2.2. Γενότυποι - Συχνότητες αλληλομόρφων

Με βάση τους γενοτύπους που προέκυψαν από την εργαστηριακή ανάλυση όλων των ατόμων και με τη βοήθεια κατάλληλων στατιστικών πακέτων προσδιορίστηκαν οι συχνότητες των αλληλομόρφων για όλους τους πολυμορφικούς μικροδορυφορικούς τόπους στα δύο είδη.

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης των μικροδορυφορικών δεικτών βρίσκονται σε συμφωνία με τα αντίστοιχα που προέκυψαν από την ανάλυση του μιτοχονδριακού πολυμορφισμού και επιτρέπουν τη διάκριση των δύο ειδών *A. chukar* (νησιώτικη πέρδικα) και *A. graeca* (ορεινή πέρδικα), αν και φαίνεται πως οι γονιδιακές συχνότητες των αλληλομόρφων ποικίλουν σημαντικά μεταξύ των δύο ειδών. Συγκεκριμένα, υπάρχουν κάποια αλληλόμορφα τα οποία εμφανίζονται με πολύ υψηλή συχνότητα στο ένα είδος, το οποίο και χαρακτηρίζουν, και με μικρή συχνότητα ή καθόλου στο άλλο. Επειδή για τη συγκεκριμένη εργαστηριακή ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν όλα τα δείγματα, η ύπαρξη πιθανών υβριδίων ενδεχομένως ευθύνεται για την εμφάνιση χαρακτηριστικών αλληλομόρφων του ενός είδους στο άλλο είδος με μεγάλη συχνότητα. Ίσως δηλ. να πρόκειται για διείσδυση γονιδίων από το ένα είδος στο άλλο.

6.2.3. Ύπαρξη υβριδίων

Με απλή οπτική παρατήρηση του συνόλου των γενοτύπων των δειγμάτων όλων των μικροδορυφορικών τόπων φαίνεται ότι κάποια δείγματα διακρίνονται από τη συνύπαρξη χαρακτηριστικών αλληλομόρφων για το καθένα από τα δύο είδη (νησιώτικη πέρδικα ή ορεινή πέρδικα), στο ίδιο άτομο, και ενδεχομένως να αποτελούν υβρίδια πρώτης ή δεύτερης γενιάς ή και επαναδιασταυρώσεις. Με τη βοήθεια κατάλληλων προγραμμάτων βρέθηκαν τα άτομα τα οποία είναι υποψήφια να αποτελούν υβρίδια μεταξύ των δυο ειδών. Ακολούθως έγινε επαναπροσδιορισμός των γονιδιακών συχνοτήτων.

Για τον προσδιορισμό των πιθανών υβριδίων εκτός από την οπτική παρατήρηση των γενοτύπων και τις συχνότητες των αλληλομόρφων, χρησιμοποιήθηκε και πρόγραμμα STRUCTURE, με βάση τα οποία ελέγχθηκε αν είναι δυνατός ο προσδιορισμός του είδους στο οποίο ανήκουν τα άτομα. Ο τρόπος αυτός αποτέλεσε επιβεβαίωση της αρχικής διαπίστωσης που αφορούσε την ύπαρξη υβριδίων στα υπό μελέτη δείγματα.

Συνολικά βρέθηκαν 34 υβρίδια.

Αν αφαιρεθούν από το συνολικό αριθμό των ατόμων τα 34 άτομα τα οποία χαρακτηρίστηκαν ως πιθανά υβρίδια, καθίσταται πλέον ξεκάθαρο ότι υπάρχουν συγκεκριμένα αλληλόμορφα που συναντώνται αποκλειστικά στο ένα από τα τρία είδη, το οποίο και χαρακτηρίζουν, ενώ δεν εμφανίζονται καθόλου στα υπόλοιπα είδη. Εκτός όμως από τα προαναφερθέντα αλληλόμορφα, υπάρχουν και κάποια άλλα τα οποία συναντώνται σε όλα τα είδη. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το αλληλόμορφο 260 του τόπου MCW215. Τα συγκεκριμένα αποτελούν κοινά αλληλόμορφα και, ακόμα και αν αφαιρεθούν από το σύνολο των υπό μελέτη δειγμάτων τα πιθανά υβρίδια, παραμένουν κοινά αλληλόμορφα και δεν χαρακτηρίζουν τα είδη.

Συνολικά προσδιορίστηκαν 127 αλληλόμορφα για το σύνολο των ατόμων σε όλα τα είδη. Μετά την αφαίρεση των υβριδίων ο αριθμός αλληλομόρφων που αντιστοιχούσαν σε κάθε είδος ήταν 20 για την *A. chukar* και 35 για την *A. graeca* (Πίν. 11). Βάση των συχνοτήτων στον γονιδιακό τόπο:

- MCW118, από τα 3 αλληλόμορφα που βρέθηκαν, το ένα (το 166) ήταν χαρακτηριστικό για το είδος *A. graeca*, το ένα (το 146) ήταν κοινό ανάμεσα στην *A. chukar* και την *A. rufa*, ενώ το τρίτο αλληλόμορφο ήταν κοινό ανάμεσα στα είδη *A. chukar* και *A. graeca*.
- MCW121, από τα 9 αλληλόμορφα που βρέθηκαν, τα 4 ήταν χαρακτηριστικά για την *A. chukar*, τα 2 για την *A. graeca* και τα άλλα 3 κοινά.

Πίνακας 11 Τα αλληλόμορφα που αντιστοιχούν σε κάθε είδος μετά την αφαίρεση των υβριδίων

Είδος	<i>A. graeca</i>	<i>A. chukar</i>	Κοινά	<i>A. c. kleini</i>	<i>A. c. cypriotes</i>	<i>A. rufa</i>	Σύνολο
MCW118	1		2				3
MCW121	2	4	3				9
MCW135		4	4	2			10
MCW146		1	4	1			6
MCW199	4	3	4	1			12
MCW215	7	1	5		1		14
MCW225	6	2		1		1	10
Aru1.09	4	1	18	1			24
Aru1.19		1	4	1			6
Aru1.23	1	1	2				4
Aru1.27	10	2	17				29
Σύνολο	35	20	63	7	1	1	127

- MCW135, από τα 10 αλληλόμορφα που βρέθηκαν, τα 4 ήταν χαρακτηριστικά για την *A. chukar*, 2 συναντώνται μόνο στα άτομα του υποείδους *A. chukar kleini* τα οποία προέρχονται από την περιοχή της Θράκης και τα άλλα 4 είναι κοινά.
- MCW146 βρέθηκαν συνολικά 6 αλληλόμορφα, από τα οποία το 1 ήταν χαρακτηριστικό της *A. chukar*, 1 συναντάται μόνο στα άτομα του υποείδους *A. chukar kleini* τα οποία προέρχονται από την περιοχή της Θράκης και τα άλλα 4 είναι κοινά.
- MCW199 βρέθηκαν συνολικά 12 αλληλόμορφα, από τα οποία 3 ήταν χαρακτηριστικά της *A. chukar*, τα 4 της *A. graeca* και 1 αλληλόμορφο συναντάται μόνο στην *A. chukar kleini* και τα άλλα 4 είναι κοινά.
- MCW215 βρέθηκαν 14 αλληλόμορφα, από τα οποία 1 ήταν χαρακτηριστικό της *A. chukar*, 7 της *A. graeca*, 1 αλληλόμορφο ήταν χαρακτηριστικό του υποείδους *A. chukar cypriotes* (τα δείγματα προέρχονται από την Κύπρο), ενώ τα άλλα 5 είναι κοινά.
- MCW225 βρέθηκαν συνολικά 10 αλληλόμορφα, από τα οποία 2 ήταν χαρακτηριστικά της *A. chukar*, ενώ ένα συναντάται αποκλειστικά στα άτομα *A. chukar*

kleini. Από τα υπόλοιπα 7 αλληλόμορφα, τα 6 ήταν χαρακτηριστικά της *A. graeca*, και 1 συναντάται μόνο στα άτομα του είδους *A. rufa* της Ισπανίας.

- Arg1.09 βρέθηκαν 24 αλληλόμορφα, από τα οποία 1 ήταν χαρακτηριστικό της *A. chukar*, 1 εμφανίστηκε μόνο στα άτομα *A. chukar kleini*, 4 ήταν χαρακτηριστικά της *A. graeca*, ενώ τα υπόλοιπα είναι κοινά.
- Arg1.19 βρέθηκαν συνολικά 6 αλληλόμορφα. Από αυτά, 1 χαρακτήριζε το είδος *A. chukar*, 1 εμφανίζεται αποκλειστικά σε άτομα *A. chukar kleini*, ενώ τα άλλα 4 είναι κοινά.
- Arg1.23 από τα 4 αλληλόμορφα που βρέθηκαν, τα δύο ήταν χαρακτηριστικά για τα δύο είδη, ενώ τα άλλα δυο αλληλόμορφα ήταν κοινά για τα δυο είδη.
- Arg1.27 βρέθηκαν συνολικά 29 αλληλόμορφα, από τα οποία 2 ήταν χαρακτηριστικά της *A. chukar*, 10 της *A. graeca* και τα υπόλοιπα είναι κοινά.

6.2.4. Γενετική διαφοροποίηση στα δυο είδη

Με τη βοήθεια του στατιστικού προγράμματος GENEPOP 3.3 (Raymond and Rousset 1995) πραγματοποιήθηκε έλεγχος της πληθυσμιακής διαφοροποίησης των συχνοτήτων των αλληλομόρφων για το κάθε είδος. Ο έλεγχος αυτός αποκάλυψε ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές στις συχνότητες στους περισσότερους γονιδιακούς τόπους.

Οι έλεγχοι της ισορροπίας Hardy – Weinberg για τα επιμέρους είδη όπως επίσης και ο υπολογισμός της παραμέτρου F_{IS} έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου GENEPOP 3.3 (Raymond and Rousset 1995). Ο εν λόγω έλεγχος πραγματοποιήθηκε τόσο για το σύνολο των δειγμάτων, όσο και για μέρος αυτού, μετά την αφαίρεση των ατόμων που είχαν χαρακτηριστεί ως πιθανά υβρίδια.

Οι έλεγχοι της ισορροπίας Hardy – Weinberg, οι οποίοι πραγματοποιήθηκαν στο σύνολο των δειγμάτων, έδειξαν ότι στο είδος *A. chukar* οι εννέα από τους έντεκα ελέγχους ήταν στατιστικά σημαντικοί, ίσχυε δηλαδή $P < 0,05$. Οι έλεγχοι αυτοί αφορούν τους γονιδιακούς τόπους, MCW121, MCW135, MCW146, MCW199, MCW215, MCW225, Arg1.09, Arg1.23 και Arg1.27 και καταδεικνύουν ότι ο πληθυσμός του είδους, με βάση τους συγκεκριμένους γονιδιακούς τόπους, δε βρίσκεται σε ισορροπία

Hardy – Weinberg. Αντίστοιχα για το είδος *A. graeca*, οι στατιστικά σημαντικοί έλεγχοι αφορούσαν τους ίδιους εννέα τόπους, με εξαίρεση τον MCW146, ο οποίος βρίσκεται σε ισορροπία Hardy – Weinberg. Οι συγκεκριμένοι γονιδιακοί τόποι, οι οποίοι δε βρίσκονται σε ισορροπία Hardy – Weinberg, έχουν θετικές τιμές της παραμέτρου F_{IS} , γεγονός που υποδηλώνει την περίσσεια ομοζυγωτών στο υπό μελέτη δείγμα.

Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι για τα άτομα του υποείδους *A. chukar kleini* της Θράκης, *A. chukar cypriotes* της Κύπρου και του είδους *A. rufa* της Ισπανίας, οι έλεγχοι δεν μπορούν να είναι ακριβείς εξαιτίας του μικρού αριθμού των δειγμάτων που αναλύθηκαν. Για το λόγο αυτό, τα συγκεκριμένα δείγματα αφαιρέθηκαν από τις περαιτέρω αναλύσεις.

Με την επεξεργασία των δεδομένων μετά από αφαίρεση των υβριδίων φαίνεται ότι το είδος *A. chukar* βρίσκεται σε ισορροπία Hardy – Weinberg με βάση τρεις από τους έντεκα γονιδιακούς τόπους, ενώ το είδος *A. graeca* βρίσκεται σε ισορροπία με βάση έξι από τους έντεκα. Για τους γονιδιακούς τόπους MCW121, MCW146, MCW199, MCW215, MCW225, Aru1.09, Aru1.23 και Aru1.27 του πρώτου είδους βρέθηκαν ισχυρά θετικές τιμές F_{IS} ακόμα και μετά από την αφαίρεση των υβριδίων. Αντίστοιχα θετικές τιμές F_{IS} βρέθηκαν και στο είδος *A. graeca* για τους γονιδιακούς τόπους MCW215, MCW225, Aru1.09 και Aru1.19. Η ύπαρξη τέτοιων τιμών F_{IS} υποδηλώνει την περίσσεια ομοζυγωτών για τους συγκεκριμένους γονιδιακούς τόπους.

Ο παρατηρούμενος **βαθμός ετεροζυγωτίας H_o** και ο αναμενόμενος βαθμός ετεροζυγωτίας **H_e (no bias)** για τον κάθε γονιδιακό τόπο, για τα είδη *A. chukar* και *A. graeca*, προσδιορίστηκαν με τη χρήση του add-in της Microsoft Excel, του Microsatellite Toolkit. Οι ίδιες παράμετροι προσδιορίστηκαν τόσο στο σύνολο των δειγμάτων, όσο και μετά από αφαίρεση των πιθανών υβριδίων.

Επιπλέον προσδιορίστηκε ο μέσος αναμενόμενος βαθμός ετεροζυγωτίας του είδους, ο μέσος παρατηρούμενος βαθμός ετεροζυγωτίας του είδους καθώς επίσης και ο μέσος αριθμός αλληλομόρφων ανά γονιδιακό τόπο πριν (**Πίνακας 12**), αλλά και μετά από την αφαίρεση των πιθανών υβριδίων (**Πίνακας 13**).

Πίνακας 12. Μέσος αναμενόμενος βαθμός ετεροζυγωτίας (He), μέσος παρατηρούμενος βαθμός ετεροζυγωτίας (Ho), μέσος αριθμός αλληλομόρφων ανά γονιδιακό τόπο (Na) και τυπικό σφάλμα (SD) για το σύνολο των δειγμάτων

Είδος	He	SD	Ho	SD	Na
<i>A. chukar</i>	0.642	0.05	0.466	0.01	8.55
<i>A. graeca</i>	0.542	0.08	0.482	0.01	8.82

Πίνακας 13. Μέσος αναμενόμενος βαθμός ετεροζυγωτίας (He), μέσος παρατηρούμενος βαθμός ετεροζυγωτίας (Ho), μέσος αριθμός αλληλομόρφων ανά γονιδιακό τόπο (Na) και τυπικό σφάλμα (SD) μετά την αφαίρεση των πιθανών υβριδίων

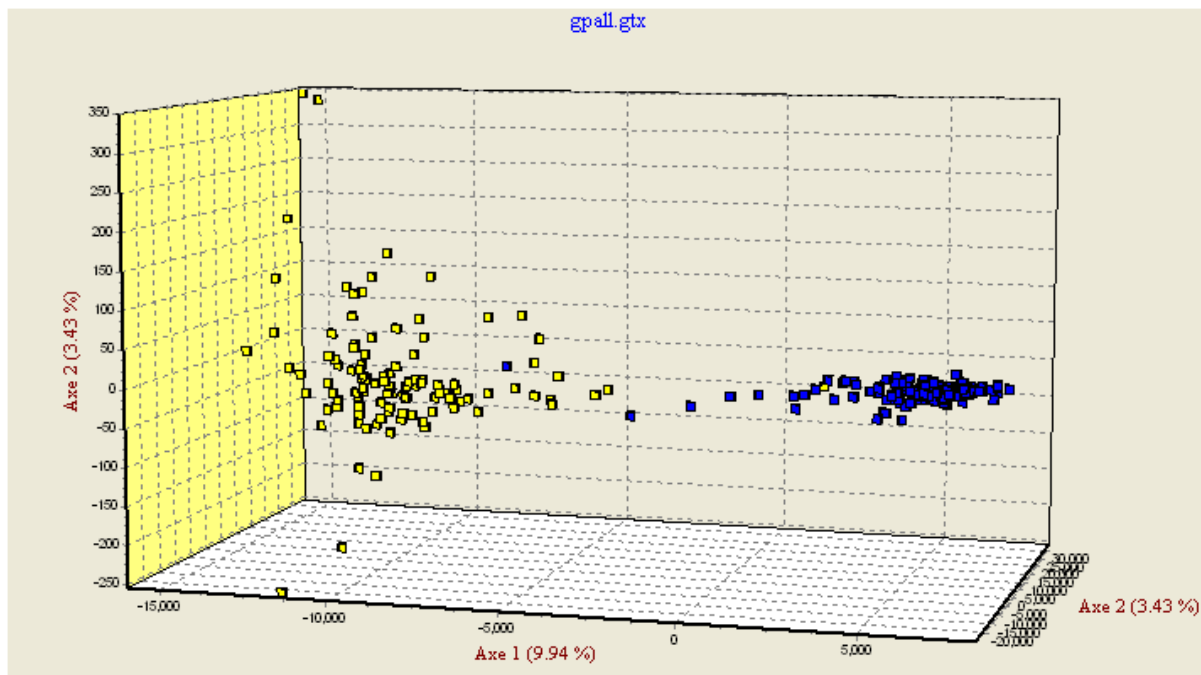
Είδος	He	SD	Ho	SD	Na
<i>A. chukar</i>	0.629	0.05	0.457	0.01	7.55
<i>A. graeca</i>	0.525	0.08	0.475	0.01	7.82

Τέλος, με τη βοήθεια του προγράμματος GENETIX 4.0 (Belkhir 1999), πραγματοποιήθηκε Παραγοντική Ανάλυση Αντιστοίχισης (Factorial correspondence analysis, AFC) (Benzeeri 1973), από την οποία προέκυψαν τρισδιάστατα γραφήματα που χωρίζουν τη συνολική ποικιλότητα των ατόμων σε άξονες (Εικ. 16 και 17).

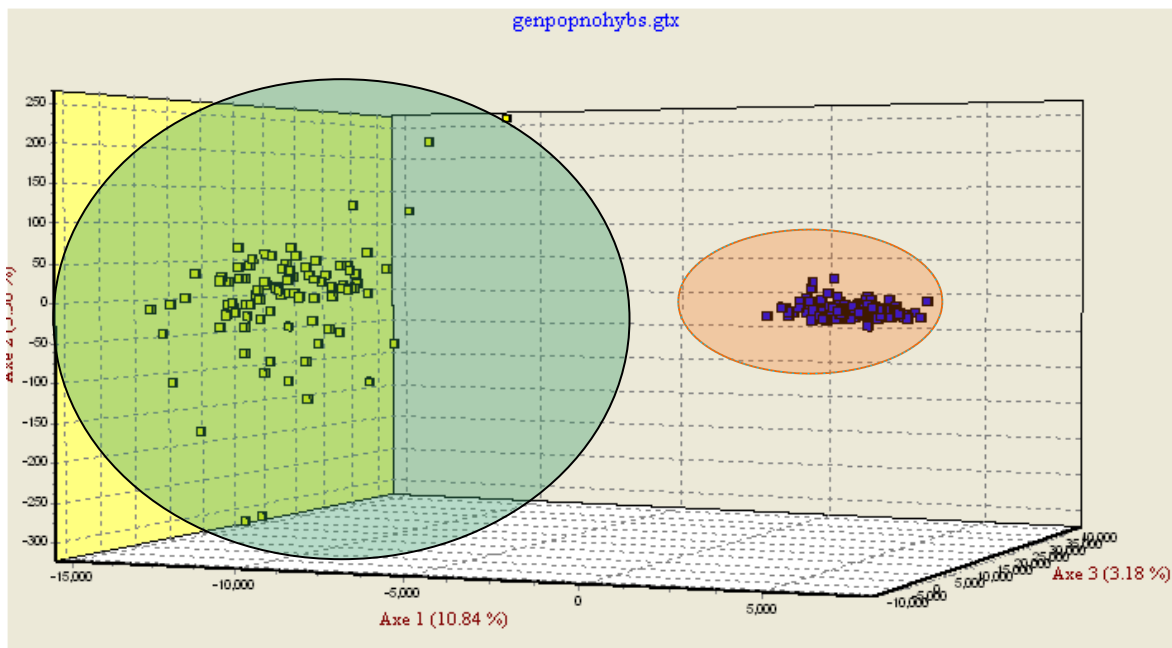
Τα άτομα του κάθε είδους χωρίστηκαν σε επί μέρους πληθυσμούς ανάλογα με τη γεωγραφική τους προέλευση. Ακολούθως χρησιμοποιήθηκαν οι συχνότητες των αλληλομόρφων για κάθε πληθυσμιακή ομάδα, για την κατασκευή των φυλογενετικών δένδρων (Εικόνες 18 και 19) με τη μέθοδο Neighbor – Joining (Saitou and Nei 1987) με τη βοήθεια του προγράμματος PHYLIP 3.6 (Felsenstein 1995).

Από την Εικόνα 18 προκύπτει ότι πιο απομακρυσμένος πληθυσμός είναι αυτός της Λευκάδας, γεγονός αναμενόμενο βάσει της γεωγραφικής του θέσης. Οι πληθυσμοί της Αιτωλοακαρνανίας, της Ευρυτανίας και της Φθιώτιδας παρουσιάζουν τις περισσότερες ομοιότητες μεταξύ τους, με τους υπόλοιπους 4 πληθυσμούς να είναι λιγότεροι απομακρυσμένοι από αυτούς σε σχέση με αυτόν της Λευκάδας.

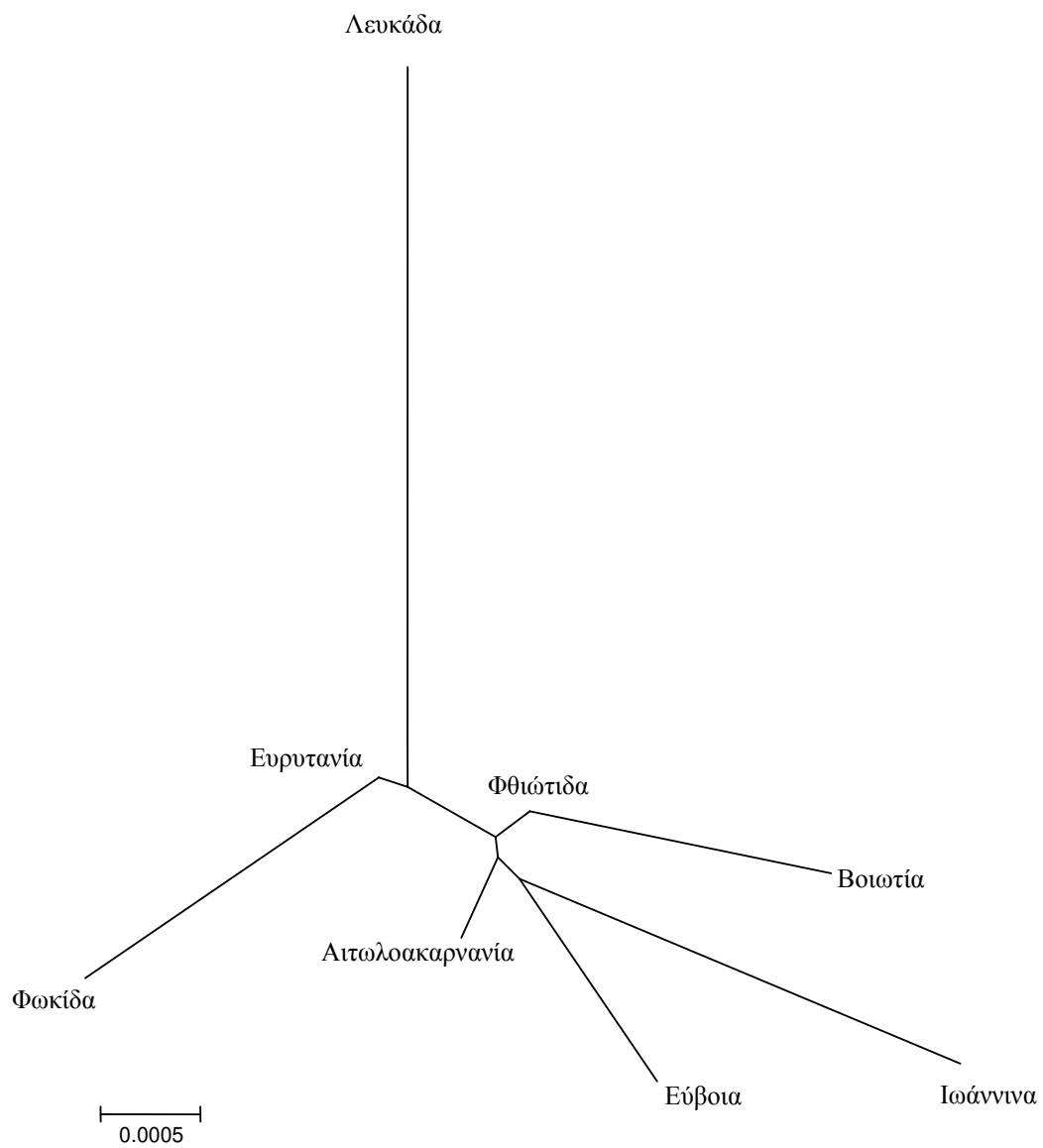
Αντίστοιχα στην Εικόνα 19 φαίνεται ότι οι πιο απομακρυσμένοι πληθυσμοί είναι αυτοί της Σκύρου και της Σάμου. Αυτό δικαιολογείται και βάσει της γεωγραφικής τους θέσης. Αρκετές ομοιότητες μεταξύ τους παρουσιάζουν οι πληθυσμοί της Άνδρου και της Χίου, ενώ και οι πληθυσμοί των Κυκλάδων μαζί με τους πληθυσμούς της Εύβοιας και της Αττικής, οι οποίοι είναι και γεωγραφικά πιο κοντά μεταξύ τους, εμφανίζουν μικρή γενετική διαφοροποίηση.



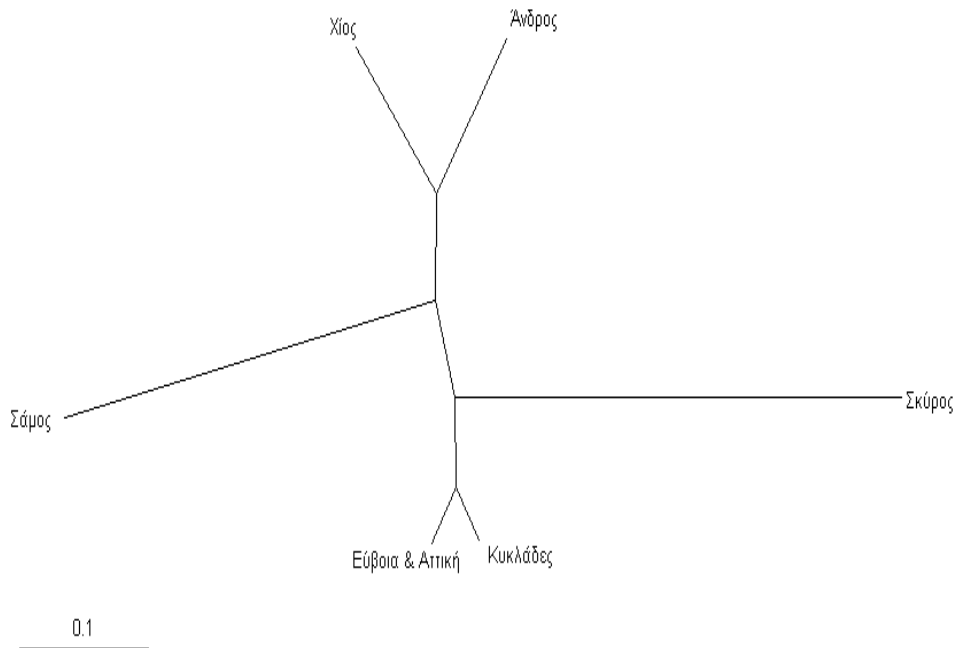
Εικόνα 16. Διάγραμμα AFC για το σύνολο των δειγμάτων (με τα υβρίδια). Στο διάγραμμα τα άτομα τοποθετούνται στο χώρο σε άξονες που εξηγούν την κατανομή της ποικιλότητας τους. Με κίτρινο χρώμα είναι τα άτομα *A. chukar* και με μπλε τα *A. graeca*.



Εικόνα 17. Διάγραμμα AFC για το σύνολο των δειγμάτων εξαιρουμένων των υβριδίων. Στο διάγραμμα τα άτομα τοποθετούνται στο χώρο σε άξονες που εξηγούν την κατανομή της ποικιλότητας τους. Με πράσινο πλαίσιο περιβάλλονται τα άτομα *A. chukar* και με πορτοκαλί πλαίσιο τα άτομα *A. graeca*.

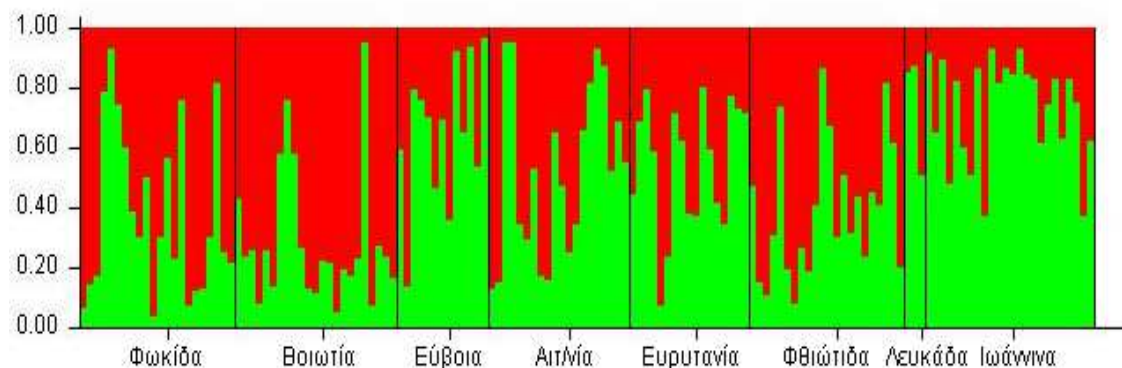


Εικόνα 18. Δενδρόγραμμα Neighbor - Joining που δείχνει τις σχέσεις ανάμεσα σε γεωγραφικούς πληθυσμούς του είδους *A. graeca*.

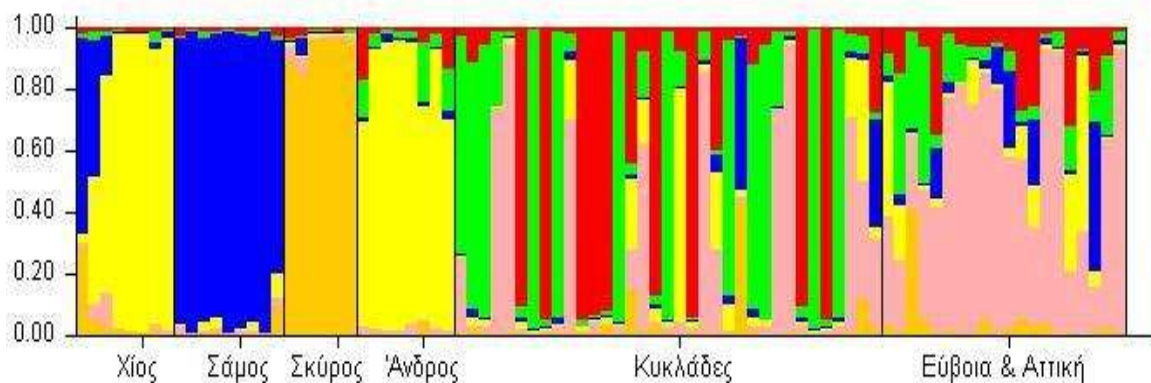


Εικόνα 19. Δενδρόγραμμα Neighbor - Joining που δείχνει τις σχέσεις ανάμεσα σε γεωγραφικούς πληθυσμούς του είδους *A. chukar*.

Επίσης βάσει των γενοτύπων των ατόμων των υποπληθυσμών από το κάθε είδους, έγινε προσπάθεια αντιστοίχισης του κάθε ατόμου στον υποπληθυσμό που φαίνεται να ταιριάζει καλύτερα. Αυτό έγινε με το πρόγραμμα STRUCTURE. Οι διάφοροι υποπληθυσμοί για το είδος *A. graeca* φαίνεται να παρουσιάζουν ομοιογένεια μεταξύ τους (**Εικόνα 20**), γεγονός αναμενόμενο λόγω του ότι βρίσκονται στην Ηπειρωτική Ελλάδα και δεν υφίστανται σε μεγάλο βαθμό γεωγραφική απομόνωση.



Εικόνα 20. Αντιστοίχιση των ατόμων του είδους *A. graeca* σε υποπληθυσμούς όπως προέκυψε από το πρόγραμμα STRUCTURE.



Εικόνα 21. Αντιστοίχιση των ατόμων του είδους *A. chukar* σε υποπληθυσμούς όπως προέκυψε από το πρόγραμμα STRUCTURE.

Οι υποπληθυσμοί του είδους *A. chukar* από ότι φαίνεται και από την **Εικόνα 21**, λόγω της γεωγραφικής απομόνωσης που έχουν μεταξύ τους (λόγω του ότι βρίσκονται σε νησιά ο καθένας), φαίνεται να διαφέρουν αρκετά μεταξύ τους βάσει των γενοτύπων των ατόμων τους. Ειδικότερα στη Χίο, στη Σάμο, στη Σκύρο και στην Άνδρο φαίνεται έντονα ότι οι πληθυσμοί τους είναι αρκετά γενετικά διαφοροποιημένοι σε σχέση με τους υπόλοιπους. Πάντως η Χίος και η Άνδρος φαίνεται να παρουσιάζουν αρκετά μεγάλη γενετική συγγένεια. Το ίδιο φαίνεται να συμβαίνει και μεταξύ της Εύβοιας και της Αττικής. Ο υποπληθυσμός των Κυκλάδων, για να μπορέσουν να εξαχθούν ασφαλέστερα συμπεράσματα, θα πρέπει να διαιρεθεί σε περισσότερους υποπληθυσμούς, αλλά δεν είναι δυνατό λόγω λίγων δειγμάτων.

7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα είδη του γένους *Alectoris* θεωρούνται πολύ σημαντικά ως θηράματα και για το λόγο αυτό εκτρέφονται προκειμένου να εμπλουτισθούν φυσικοί πληθυσμοί τους. Αποτελούν δε, σημαντικά μέλη των Μεσογειακών οικοσυστημάτων της Ν. Ευρώπης με εξάπλωση που περιλαμβάνει τις περισσότερες Μεσογειακές περιοχές και τα νησιά (Watson 1962a, b; Johnsgard 1988). Τα συγκεκριμένα είδη θεωρούνται απειλούμενα με βάση τη νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης (79/409 CEE Ap.2/I, 3/I; BERN Ap.3) κυρίως εξαιτίας της μεγάλης μείωσης των πληθυσμών τους. Οι κυριότεροι λόγοι που οδήγησαν σε αυτή τη μείωση περιγράφηκαν στην Εισαγωγή και ενδεικτικά αναφέρουμε τη συρρίκνωση των ενδιαιτημάτων τους καθώς επίσης και τη χρησιμοποίηση ατόμων από εκτροφεία για τον εμπλουτισμό των φυσικών πληθυσμών, μια πρακτική που μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική κατάπτωση των γονιδιακών αποθεμάτων των άγριων πληθυσμών (Meriggi and Mazzoni Della Stella 2003).

Όπως προαναφέρθηκε το γένος *Alectoris* στην Ελλάδα αντιπροσωπεύεται από δύο είδη: α) την ορεινή πέρδικα (*Alectoris graeca*) και β) τη νησιώτικη πέρδικα (*Alectoris chukar*). Τα δύο είδη μοιάζουν πολύ μορφολογικά και είναι δύσκολη η διάκρισή τους. Για να έχουμε αξιόπιστα στοιχεία για τη γενετική δομή των πληθυσμών τους και του ποσοστού υβριδίων πραγματοποιήθηκε ανάλυση του πολυμορφισμού περιοριστικών θραυσμάτων δύο περιοχών του μιτοχονδριακού DNA, καθώς και γενοτύπηση με 11 μικροδορυφορικούς δείκτες σε 342 δείγματα που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Ελλάδας, από την Κύπρο, τη Σερβία, τη FYROM και την Ισπανία (Πίν. 6).

7.1. ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΣΤΟ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑΚΟ DNA

7.1.1. Ενίσχυση του βρόχου εκτόπισης και του κυτοχρώματος b

Η ενίσχυση της περιοχής του βρόχου εκτόπισης έδωσε ένα κομμάτι με αναμενόμενο μέγεθος ~1250 βάσεις. Αντίθετα, η αρχική προσπάθεια ενίσχυσης της περιοχής του κυτοχρώματος b του μιτοχονδριακού DNA, με τη μέθοδο της PCR, χρησιμοποιώντας τους εκκινητές L14851 και H15298 (Kornegay *et al.* 1993, Randi

1996) ήταν ανεπιτυχής. Όταν ο Kornegay και συν. (1993) ανακοίνωσαν την πρωτοδιάταξη του DNA ολόκληρου του γονιδίου του κυτοχρώματος b από 9 είδη της τάξης Galliformes, στο δείγμα της πέρδικας *A. chukar* βρέθηκε ένα πιθανώς αναδιπλασιασμένο αντίγραφο του κυτοχρώματος b. Αυτή η αλληλουχία ήταν πιθανώς μέρος ενός διπλασιασμένου τμήματος μιτοχονδριακού DNA που μετατοπίστηκε στο πυρηνικό γονιδίωμα, αν και δεν μπορεί να αποκλειστεί και ο ενδομιτοχονδριακός διπλασιασμός. Επομένως, το γεγονός ότι ενισχύσαμε με τους εκκινητές L14851 και H15298 ένα κομμάτι 700 περίπου βάσεων, πρέπει να οφείλεται σε ενίσχυση τμήματος του πυρηνικού DNA, που αποτελεί μέρος διπλασιασμένου τμήματος μιτοχονδριακού DNA που μετατοπίστηκε. Με τους νέους εκκινητές που κατασκευάστηκαν έγινε δυνατή η ενίσχυση της περιοχής του κυτοχρώματος b.

Γενετική Ταυτοποίηση με τα ένζυμα περιορισμού. Η χρήση των ενζύμων περιορισμού επέτρεψε την εύρεση κατάλληλων ενζύμων περιορισμού που δίνουν πρότυπα ικανά για ταυτοποίηση και διάκριση των ειδών *Alectoris graeca* και *Alectoris chukar*. Τα ένζυμα αυτά είναι αντίστοιχα για την περιοχή του βρόχου εκτόπισης τα: *AseI*, *NlaIII*, *RsaI* και για την περιοχή του κυτοχρώματος b τα εξής 7: *AluI*, *AseI*, *DpnII*, *HincII*, *HinFI*, *StyI* και *TaqI*. Επίσης οι πέψεις με τα ένζυμα περιορισμού επέτρεψαν την ταυτοποίηση των *A. c. kleini* της Κομοτηνής και *A. rufa* της Ισπανίας (Πίν. 8). Δεν κατέστη όμως δυνατό να διαφοροποιηθούν τα δείγματα *A. graeca* από τη Σερβία και τη FYROM καθώς και τα δείγματα *A. chukar* από την Κύπρο. Τελικά βρέθηκε ότι σε σύνολο 317 αναλυθέντων ατόμων τα 188 ανήκουν στην *A. graeca*, τα 120 στην *A. chukar*, τα 6 ανήκουν στην *A.c. kleini*, τα 2 στην *A. rufa*, ενώ ένα άτομο *A. rufa* φάνηκε να παρουσιάζει απλότυπο της *A. chukar*. Συμπεραίνουμε δηλ. ότι:

- το 59,87% (188/314) των συνολικών δειγμάτων ανήκουν στο είδος *A. graeca*, ενώ το 40,13% (126/314) ανήκουν στο *A. chukar*.
- το 61,40% των Ελληνικών δειγμάτων ανήκουν στο είδος *A. graeca*, ενώ το 38,60% ανήκουν στο *A. chukar*, γεγονός που προφανώς οφείλεται στο ότι η πλειοψηφία των δειγμάτων προέρχονται από τα όρια γεωγραφικής εξάπλωσης της ορεινής πέρδικας και δεν είναι γεγονός βαρυνούσης σημασίας.

Οι απλοτυπικές κατανομές που προσδιορίστηκαν, με την ανάλυση του μιτοχονδριακού DNA, επιβεβαιώνουν τη φυσική εξάπλωση των ειδών (Εικόνα 13). Η

πετροπέρδικα εξαπλώνεται στη Μακεδονία, την Ήπειρο, τη Στερεά Ελλάδα, τη Λευκάδα, την Πελοπόννησο. Εντύπωση προκαλεί το γεγονός πάντως ότι βρέθηκε και ένα άτομο με μιτοχονδριακό απλότυπο χαρακτηριστικό για την *A. graeca* στη Χίο, περιοχή όπου φυσιολογικά απαντά η νησιωτική πέρδικα.

Η νησιωτική πέρδικα εξαπλώνεται κυρίως στα νησιά του Αιγαίου (**Πίν. 8 και Εικ. 13**). Ωστόσο άτομα με μιτοχονδριακό απλότυπο χαρακτηριστικό για τη νησιωτική πέρδικα εντοπίζονται και στις περιοχές εξάπλωσης της πετροπέρδικας. Συγκεκριμένα βρέθηκαν στην Αττική, την Εύβοια και στην Αίγινα σε μεγάλα ποσοστά, ενώ σε μικρότερα ποσοστά βρέθηκαν στη Φθιώτιδα, τη Φωκίδα, και τη Βοιωτία. Στο σύνολο δηλ. των δειγμάτων προερχόμενων από την περιοχή εξάπλωσης της πετροπέρδικας (κυρίως ηπειρωτική Ελλάδα), το 84,3% ανήκουν στο είδος *A. graeca*, ενώ περίπου το 15,7% ανήκουν στο *A. chukar*, γεγονός που υποδηλώνει ότι η νησιώτικη πέρδικα αρχίζει να εξαπλώνεται στην ηπειρωτική Ελλάδα. Η παρουσία αυτή πιθανότατα οφείλεται στην απελευθέρωση ατόμων νησιωτικής πέρδικας από τα εκτροφεία, στη προσπάθεια εμπλουτισμού των τοπικών πληθυσμών πέρδικας. Μπορεί επίσης να πρόκειται για απελευθερώσεις υβριδίων στη φύση. Τέλος, ίσως (αν και όχι ιδιαίτερα πιθανό) να έχει συμβεί φυσική μετανάστευση των ατόμων της νησιωτικής πέρδικας. Αξίζει να αναφερθεί ότι η μετανάστευση των περδίκων είναι περιορισμένη, καθώς είναι είδη που προτιμούν να περπατούν στο έδαφος (γεγονός που δυσκολεύει το κυνήγι της), παρά να πετούν.

Πιο αναλυτικά, με βάση τα αποτελέσματα από τις πέψεις με ένζυμα περιορισμού σε 2 περιοχές στο μιτοχονδριακό DNA παρατηρούμε ότι στα νησιά Αίγινα, Αμοργό, Άνδρο, Δήλο, Θήρα, Μακρόνησο, Μήλο, Νάξο, Πάρο, Σαλαμίνα, Σάμο, Σίφνο, Σκύρο, Σύρο και Τήνο εντοπίζεται μόνο το είδος *A. chukar* (νησιώτικη πέρδικα), ενώ στην Αιτωλοακαρνανία, την Αχαΐα, τη Δράμα, την Ευρυτανία, τα Ιωάννινα, την Καρδίτσα, τη Λακωνία, τη Λευκάδα, τη Μαγνησία, τον Πόρο και τα Τρίκαλα μόνο το είδος *A. graeca* (ορεινή πέρδικα). Δείγματα τόσο νησιώτικης όσο και ορεινής πέρδικας βρέθηκαν στην Αττική, τη Βοιωτία, την Εύβοια, τα Κύθηρα, τη Φθιώτιδα, τη Φωκίδα και τη Χίο.

7.1.2. Ποικιλότητα Απλοτύπων και Ποικιλομορφία πληθυσμών

Στο σύνολο των ατόμων της *A. graeca* λιγостоί είναι οι απλότυποι που βρέθηκαν (Πιν. 9). Ο απλότυπος G1 βρέθηκε στο 97,4% των δειγμάτων. Ο απλότυπος G2 βρέθηκε στα άτομα από τα Κύθηρα και μόνο σε αυτά, ενώ ο απλότυπος G3 στο μοναδικό άτομο της Αχαΐας. Η ύπαρξη αυτών των πολυμορφισμών στα Κύθηρα και στην Αχαΐα μαρτυρεί ότι οι πληθυσμοί είναι απομονωμένοι. Σε αυτό συντείνει και η γεωγραφική θέση του νησιού (γεωγραφική απομόνωση). Η μόνη περιοχή που πιθανώς να αναμέναμε παρόμοια πρότυπα είναι στο Νομό Λακωνίας στην άκρη του δεύτερου ποδιού της Πελοποννήσου που βρίσκεται απέναντι από τα Κύθηρα, αλλά παρ' όλα αυτά και εκεί εμφανίζεται ο κοινός απλότυπος.

Υψηλότερα επίπεδα πολυμορφισμού αποκαλύφθηκαν στους πληθυσμούς της νησιώτικης πέρδικας (*A. chukar*). Συνολικά βρέθηκαν εννιά διαφορετικοί απλότυποι (Πιν 9). Ο πιο κοινός C1 εμφανίζεται στο 64% των δειγμάτων με εξάπλωση σε όλες τις περιοχές κατανομής της *A. chukar*. Οι υπόλοιποι απλότυποι συνήθως εμφανίζονται σε συγκεκριμένες τοποθεσίες όπως οι C3 (Άνδρο και Μακρόνησο), C4 (Κύθηρα και Άνδρο), C5 (μόνο στην Τήνο) και C7 (Νάξο, Σάμο και Σίφνο). Ο απλότυπος C8 εμφανίζεται στα περισσότερα άτομα της Κύπρου, ενώ είναι ενδιαφέρον ότι βρέθηκε και σε ένα άτομο της Σκύρου. Τέλος τα άτομα *A. c. kleini* της Κομοτηνής χαρακτηρίζονται από δικό τους απλότυπο, τον C9. Το φαινόμενο εμφάνισης συγκεκριμένων απλοτύπων σε λίγες ή και μοναδικές περιοχές δείχνει πιθανώς ότι οι πληθυσμοί της νησιώτικης πέρδικας βρίσκονται αρκετά απομονωμένοι με πιθανό αποτέλεσμα την ελάττωση της γονιδιακής ροής με άλλους πληθυσμούς και τη δημιουργία ενός ελάχιστα διαφορετικού γονιδιακού αποτυπώματος, το οποίο όμως θα διαφοροποιηθεί ακόμα περισσότερο στο μέλλον εάν συνεχιστούν να υπάρχουν οι φραγμοί αυτοί (βλ και συζήτηση για μικροδορυφορικό DNA).

Συμπερασματικά και με βάση την κατανομή των απλοτύπων ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι πληθυσμοί των Κυθήρων (συνύπαρξη και των δύο ειδών με ιδιαίτερους απλοτύπους), της Χίου (συνύπαρξη και των δύο ειδών), της Τήνου (ύπαρξη ξεχωριστού απλότυπου *A. chukar*), της Σκύρου (όπου βρέθηκε απλότυπος που σχετίζεται με τους πληθυσμούς Κύπρου) και της Άνδρου (όπου απουσιάζει παντελώς ο κοινός απλότυπος C1). Περαιτέρω έρευνα θα μπορούσε να ελέγξει αν έγιναν προσπάθειες

μεταφοράς ατόμων πέρδικας σε αυτές τις περιοχές (βλ και συζήτηση για μικροδορυφορικό DNA).

Γενικά πάντως τα είδη πέρδικας του Ελλαδικού χώρου παρουσιάζουν χαμηλό επίπεδο πολυμορφισμού στο μιτοχονδριακό DNA. Η έλλειψη γενετικής ποικιλομορφίας προκύπτει συχνά λόγω μείωσης του πληθυσμιακού μεγέθους. Η ποικιλομορφία είναι το αποτέλεσμα μεταλλάξεων, που παρέχουν την πρώτη ύλη για πειραματισμό του βιολογικού συστήματος με σκοπό την κατάκτηση νέων περιβαλλόντων ή την αντιμετώπιση μελλοντικών περιβαλλόντων που εγείρουν απαιτήσεις διαφορετικές από αυτές που οι οργανισμοί μπορούν να αντιμετωπίζουν σήμερα. Παρέχονται, δηλαδή, στους οργανισμούς δυνατότητες για εκμετάλλευση ή αντιμετώπιση αλλαγών του περιβάλλοντος. Άμεση συνέπεια της προσαρμογής αυτής είναι και η εξέλιξη των βιολογικών ομάδων. Η εξάλειψη της προϋπάρχουσας γενετικής ποικιλομορφίας από έναν πληθυσμό καλείται *γενετική κατάπτωση*. Αυτή μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένο αριθμό χρήσιμων αλληλομόρφων στο σύνολο του πληθυσμού και συνεπώς ελαττωμένη ικανότητα του πληθυσμού να προσαρμόζεται σε αλλαγές του περιβάλλοντος με επακόλουθο τον αυξημένο κίνδυνο εξαφάνισης του είδους. Όταν οι πληθυσμοί δεν έρχονται σε επαφή για μεγάλο χρονικό διάστημα η γονιδιακή ροή λόγω μετανάστευσης σταματά και ένας σημαντικός μηχανισμός διατήρησης της γενετικής ποικιλότητας χάνεται. Όπως φαίνεται οι πληθυσμοί της πέρδικας είναι απομονωμένοι, γεγονός που οφείλεται κυρίως στο ότι οι πέρδικες δε συνηθίζουν να πετούν για μεγάλες αποστάσεις. Σε μικρούς πληθυσμούς, ένας επιπλέον κίνδυνος μείωσης της γενετικής ποικιλομορφίας είναι η *γενετική παρέκκλιση*. Συγκεκριμένα, σε μικρούς πληθυσμούς μπορούν να ενσωματωθούν και να διατηρηθούν τόσο επιβλαβείς, όσο και ωφέλιμες μεταλλάξεις. Υπάρχει, επομένως, το ενδεχόμενο μια ωφέλιμη λειτουργία να τροποποιηθεί ή να αυξηθούν κληρονομικές ασθένειες και ο πληθυσμός να τείνει προς εξαφάνιση.

Γενετικές αποστάσεις. Οι γενετικές αποστάσεις που καταγράφονται στα είδη *Alectoris*, συνήθως, είναι 0-2% ενδοειδικά και 3-6% διαειδικά, ενώ περίπου 20% μεταξύ των ομάδων των διαφορετικών γενών *Alectoris* και *Phasianus* (Randi and Lucchini 1998). Μεταξύ των ατόμων του φασιανού (*Phasianus colchicus colchicus*) π.χ. της Ελλάδας και της Βουλγαρίας – ύστερα από αλλοενζυμική εξέταση- η γενετική απόσταση είναι μικρότερη του 2% (Paralidikis *et al.* 1997). Οι γενετικές αποστάσεις D που

υπολογίστηκαν από την εξέταση του μιτοχονδριακού DNA στην παρούσα ανάλυση κυμαινόταν από 0,6 – 1,3 % μέσα στο *A. chukar*, ενώ η τιμή της νουκλεοτιδικής απόκλισης μεταξύ των δύο απλοτύπων στην *A. graeca* ήταν 0,3% (**Πίν. 10**). Η απόσταση μεταξύ των δύο ειδών ποικίλλει μεταξύ 6,4 - 6,6 %. Οι τιμές αυτές είναι σε συμφωνία με τις προηγούμενες αναλύσεις (**Randi and Lucchini 1998**). Για να μελετηθούν οι σχέσεις μεταξύ των απλοτύπων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος κατασκευής φυλογενετικών δένδρων UPGMA με βάση τις γενετικές αποστάσεις. Η επεξεργασία βασίστηκε στις τιμές των γενετικών αποστάσεων του **Πίνακα 10**. Οι απλότυποι ομαδοποιούνται σε δύο φυλογενετικές ομάδες, στους απλότυπους της πετροπέρδικας και στους απλότυπους της νησιώτικης (**Πίν. 9**). Άρα, φαίνεται ξεκάθαρα ότι το μιτοχονδριακό DNA στα δύο είδη μπορεί εύκολα να χρησιμοποιηθεί για την ταυτοποίηση του είδους (εφόσον βέβαια δεν είναι υβρίδιο).

Σύμφωνα με τον **Randi και συν. (1992)** η μελέτη της εξέλιξης των πτηνών με την ανάλυση αλλοενζύμων έδειξε έναν συγκριτικά χαμηλό ρυθμό γενετικής διαφοροποίησης. Οι **Avise και Aquadro (1982)** υπολόγισαν μια μέση τιμή γενετικής απόστασης D (**Nei 1972**) 0,08 για 173 είδη πουλιών του ίδιου γένους. Η τιμή αυτή είναι πολύ χαμηλότερη από την αντίστοιχη που υπολογίστηκε για το σύνολο των σπονδυλωτών. Η ηλεκτροφορητική ανάλυση αλλοενζύμων των τεσσάρων Μεσογειακών ειδών πέρδικας *A. rufa*, *A. graeca*, *A. chukar* και *A. barbara* έδειξε πως η μέση γενετική απόσταση D (**Nei 1978**) ήταν 26 φορές μεγαλύτερη μεταξύ των τυπικών ειδών *Alectoris* (D=0,208) από ότι μεταξύ των πληθυσμών μέσα στα είδη *Alectoris* (D=0,008). Αυτή η διαφορά γενικά είναι τυπική για τα πουλιά και ιδιαίτερα για τα Galliformes (**Randi et al. 1992**). Είναι ενδιαφέρον πάντως ότι σύμφωνα με τις τιμές της απλοτυπικής απόκλισης μέσα σε κάθε είδος η γενετική ετερογένεια μεταξύ των πληθυσμών της *A. chukar* είναι μεγαλύτερη από τις τιμές που παρατηρούνται στην *A. graeca*. Αυτό αποδεικνύει την ύπαρξη μιας σημαντικής γεωγραφικής διαφοροποίησης μέσα στο είδος της *A. chukar* (**Randi et al. 1992**).

7.2. ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΔΟΥΡΥΦΟΡΙΚΩΝ ΤΟΠΩΝ

Την τελευταία δεκαετία υψηλά πολυμορφικοί δείκτες, όπως το μικροδορυφορικό DNA, αποτελεί χρήσιμο εργαλείο στις έρευνες της γενετικής των πληθυσμών (**Angers and Bernatchez 1998**). Σε συνδυασμό με την PCR δημιούργησε νέες προοπτικές τα τελευταία χρόνια. Η ευκολία ενίσχυσης του μικροδορυφορικού DNA, η αφθονία του στο γονιδίωμα των οργανισμών, οι υψηλές τιμές ετεροζυγωτίας που έχει και η δυνατότητα να επιλεγεί κάποιος μικροδορυφορικός τόπος με βάση το επίπεδο ποικιλομορφίας του ώστε να χρησιμοποιηθεί ως γενετικός δείκτης σε μικρογεωγραφική ή μακρογεωγραφική κλίμακα, αποτελούν τα κύρια πλεονεκτήματα για τη χρήση του μικροδορυφορικού DNA σε μελέτες πληθυσμιακής γενετικής, αποκάλυψης της εξελικτικής διαδικασίας, τη δημογραφική ιστορία και τη γενετική δομή φυσικών πληθυσμών (**Balding *et al.* 2001**). Απόρροια της υψηλής δημοτικότητας του μικροδορυφορικού DNA στις πληθυσμιακές μελέτες, είναι η ύπαρξη μιας πληθώρας πληροφοριών που αφορούν στη γενετική ποικιλότητα μεγάλου αριθμού διαφορετικών ειδών (**De Woody and Avise 2000; Reinartz *et al.* 2000; Markert *et al.* 2001**).

Οι **Primmer *et al.* (1996)** αναφέρουν ότι οι γειτονικές ακολουθίες του επαναλαμβανόμενου μοτίβου των μικροδορυφορικών τόπων συχνά είναι συντηρημένες μεταξύ στενά συγγενικών *taxa*. Συνεπώς, είναι δυνατή η χρήση των ίδιων εκκινητών που αναπτύχθηκαν για την ανάλυση του μικροδορυφορικού πολυμορφισμού σε ένα είδος, και σε άλλα συγγενικά του είδη. Πάντως, επειδή οι συγκεκριμένες ακολουθίες είναι ευάλωτες στις μεταλλάξεις (**Harr *et al.* 2000**), ένα ποσοστό μη-ομολογίας είναι αναμενόμενο. Το ποσοστό ενίσχυσης μικροδορυφορικών τόπων για ένα είδος, με εκκινητές που προέρχονται από άλλο είδος, αυξάνει όσο ελαττώνεται η γενετική απόσταση μεταξύ των δύο ειδών (**Primmer *et al.* 2005**).

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 28 ζεύγη DNA εκκινητών για την ανάλυση του πυρηνικού μικροδορυφορικού πολυμορφισμού στα δύο είδη *A. chukar* (νησιώτικη πέρδικα) και *A. graeca* (ορεινή πέρδικα). Τα 22 ζεύγη εκκινητών ανήκαν στη σειρά MCW, η οποία περιλαμβάνει εκκινητές σχεδιασμένους για το είδος *G. gallus*. Τα υπόλοιπα έξι ζεύγη των εκκινητών προερχόντουσαν από τη σειρά Agu, η οποία περιλάμβανε μικροδορυφορικούς εκκινητές κατασκευασμένους για την ευρωπαϊκή

πέρδικα *A. rufa* (Gonzalez *et al.* 2005).

Από τους 28 μικροδορυφορικούς τόπους που μελετήθηκαν οι 20 ενισχύθηκαν επιτυχώς, εκ των οποίων οι τέσσερις ήταν εκκινητές Agu και οι υπόλοιποι 16 οι εκκινητές MCW, αν και τελικά επελέγησαν 16 τόποι για περαιτέρω εργαστηριακή ανάλυση (βλέπε αποτελέσματα). Με βάση τα προηγούμενα, το 72,73% (16/22) των γονιδιακών τόπων του *Gallus gallus* που αναλύθηκαν, ενισχύθηκαν επιτυχώς στα δύο είδη *Alectoris*, ενώ για τους εκκινητές Agu το ποσοστό ήταν 66% (4/6). Το ποσοστό της ενίσχυσης ήταν αρκετά ικανοποιητικό, αν λάβουμε υπόψη ότι σε αντίστοιχη μελέτη, με τη χρήση 120 διαφορετικών μικροδορυφορικών δεικτών του *Gallus gallus* στο στενά συγγενικό του είδος *Coturnix japonica* ήταν δυνατή η επιτυχής ενίσχυση μόνον 31 δεικτών (25,8%) (Inoue-Murayama *et al.* 2001). Επιπρόσθετα, οι Barrati *et al.* (2001) χρησιμοποιώντας 154 εκκινητές της σειράς MCW του είδους *Gallus gallus* και 32 εκκινητές της σειράς MTW του είδους *Meleagris gallopavo* (γαλοπούλα), στο είδος *Phasianus colchicus*, είχαν μικρό ποσοστό επιτυχούς ενίσχυσης με τους εκκινητές MCW, ενώ πολύ μεγαλύτερο (31%) με τους εκκινητές MCW, γεγονός μη αναμενόμενο μια και τα είδη *Phasianus colchicus* και *Meleagris gallopavo* είναι εξελικτικά πιο απομακρυσμένα (ανήκουν σε διαφορετικές οικογένειες). Πάντως σε πρόσφατη εργασία οι 8 επιλεγμένοι εκκινητές MCW που χρησιμοποιήθηκαν για ενίσχυση στην ορεινή πέρδικα παρουσίασαν 100% επιτυχία (Barilani *et al.* 2006). Η μη ενίσχυση ορισμένων εκκινητών, π.χ. δύο 2 εκκινητών Agu, στην παρούσα εργασία, ενώ αποδεδειγμένα είχαν ενισχυθεί επιτυχώς στο *A. graeca* (Baratti *et al.* 2005), ίσως να οφείλεται σε θέμα φτωχής ποιότητας των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν.

Στα πτηνά και γενικά σε όλους τους οργανισμούς, το ποσοστό των γονιδιακών τόπων που ενισχύονται σε ένα είδος επιτυχώς χρησιμοποιώντας εκκινητές από συγγενικό είδος μειώνεται όσο αυξάνεται η γενετική απόσταση μεταξύ των ειδών. Σε περιπτώσεις που χρησιμοποιήθηκαν εκκινητές που σχεδιάστηκαν για κάποιο συγκεκριμένο είδος για την ενίσχυση μικροδορυφορικών τόπων ατόμων του ίδιου είδους καταγράφηκαν υψηλά ποσοστά πολυμορφικών τόπων, ενώ σε περιπτώσεις που έγινε προσπάθεια ενίσχυσης μικροδορυφορικών τόπων σε άτομα άλλου είδους τα ποσοστά ήταν χαμηλότερα (Primmer *et al.* 1996). Για τα πτηνά ισχύει ότι 50% επιτυχία εύρεσης πολυμορφισμού σε συγγενικά είδη αντιστοιχεί σε χρόνο διαχωρισμού μεταξύ των ειδών περίπου 11

εκατομμύρια χρόνια στα Passeriformes και 23 εκατομμύρια χρόνια στα μη Passeriformes. Με βάση την επιτυχή ενίσχυση των μικροδορυφορικών τόπων MCW του *G. gallus* στην παρούσα μελέτη (72,73%), θα μπορούσε να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι ο χρόνος διαχωρισμού των δύο υπό μελέτη ειδών του γένους *Alectoris* και του συγγενικού είδους *G. gallus* δεν θα πρέπει να υπερβαίνει τα 16 εκατομμύρια χρόνια.

7.2.1. Ταυτοποίηση ειδών και υβριδίων

Με μία απλή οπτική παρατήρηση των αποτελεσμάτων της γενοτύπησης, προκύπτει ότι από τους 11 πολυμορφικούς γονιδιακούς τόπους που ενισχύθηκαν, οι 8 δύναται να χρησιμοποιηθούν για τη διάκριση των ειδών της νησιωτικής και της ορεινής πέρδικας. Αυτό είναι κατορθωτό λόγω των διαφορών των γονιδιακών συχνοτήτων των αλληλομόρφων στο κάθε είδος. Για παράδειγμα κάποια αλληλόμορφα απαντώνται στο ένα είδος ενώ απουσιάζουν εντελώς στο άλλο. Αυτά είναι τα χαρακτηριστικά αλληλόμορφα του είδους. Παραδείγματα αποτελούν το αλληλόμορφο 156 του τόπου MCW146 το οποίο είναι χαρακτηριστικό για τα *A. chukar*, και το αλληλόμορφο 169 του Agu1.23 το οποίο χαρακτηρίζει το *A. graeca*. Παρομοίως, χαρακτηριστικά αλληλόμορφα παρουσιάζονται στο υποείδος *A. chukar kleini*, όπως το αλληλόμορφο 271 στον τόπο MCW199 και το αλληλόμορφο 152 στον MCW225. Υπάρχουν όμως και χαρακτηριστικά αλληλόμορφα για διάφορες περιοχές, αλληλόμορφα δηλαδή που εμφανίζονται μόνο σε μία συγκεκριμένη περιοχή δειγματοληψίας ενός είδους, και σε καμία άλλη. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν το αλληλόμορφο 224 του τόπου MCW121 που συναντάται μόνο στα άτομα *A. chukar* της Σκύρου, και το αλληλόμορφο 248 του MCW215 το οποίο εντοπίστηκε μόνο στα άτομα με καταγωγή την Κύπρο. Με τον τρόπο αυτό καθίσταται δυνατή τόσο η διάκριση και ταυτοποίηση των ειδών μεταξύ τους, η διάκριση σε επίπεδο υποείδους, η εύρεση των πιθανών υβριδίων και η εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με το πόσο γενετικά συγγενικοί είναι κάποιοι γεωγραφικοί πληθυσμοί μεταξύ τους.

Οι μικροδορυφορικοί δείκτες εκτός από τη συμβολή τους στη διάκριση και ταυτοποίηση των ειδών, παίζουν σπουδαίο ρόλο και στην αναγνώριση *υβριδίων* λόγω της δι-πατρικής τους προέλευσης. Σύμφωνα με τον **Hanfling et al. (2005)** τα υβρίδια ανάλογα με τα αλληλόμορφα που φέρουν μπορούν να ταξινομηθούν σε άτομα πρώτης,

δεύτερης γενιάς ή σε άτομα που προέρχονται από διασταύρωση του υβριδίου με ένα από τα δύο γονικά είδη. Τα υβρίδια της πρώτης γενιάς περιέχουν γενοτύπους που περιέχουν από ένα χαρακτηριστικό αλληλόμορφο για το καθένα από τα πατρικά είδη σε κάθε τόπο, τα υβρίδια της δεύτερης γενιάς γενοτύπους που περιέχουν τουλάχιστον από ένα τόπο ομόζυγο τόσο για το ένα είδος όσο και για το δεύτερο είδος, και τέλος τα υβρίδια που προέρχονται από επαναδιασταυρώσεις έχουν γενοτύπους που αποτελούνται από γονιδιακούς τόπους που φέρουν χαρακτηριστικά αλληλόμορφα για ένα είδος μαζί με γονιδιακούς τόπους που φέρουν χαρακτηριστικά αλληλόμορφα και για τα δυο είδη.

Πάντως, αν και σύμφωνα με τους **Boecklen and Howard (1997)**, 4-5 μικροδορυφορικοί τόποι είναι αρκετοί για την ταυτοποίηση των ατόμων στα πατρικά τους είδη, την αναγνώριση των υβριδίων πρώτης και δεύτερης γενιάς, και της πρώτης γενιάς επαναδιασταυρώσεων, όσο ανεβαίνει ο αριθμός των μικροδορυφορικών τόπων που αναλύονται, δίνεται μία πιο ολοκληρωμένη όψη και τόσο πιο αξιόπιστα είναι και τα αποτελέσματα που παίρνουμε. Μάλιστα οι **Vaha and Primmer (2006)** αναφέρουν ότι για την αξιόπιστη ανίχνευση των υβριδίων της πρώτης γενιάς απαιτούνται 12-24 μικροδορυφορικοί τόποι, ενώ για την ανίχνευση των επαναδιασταυρώσεων απαιτούνται 48 μικροδορυφορικοί τόποι. Υπάρχει δηλαδή η πιθανότητα ότι αν αναλύσουμε 10 επιπλέον μικροδορυφορικούς τόπους, να πάρουμε διαφορετικά αποτελέσματα σχετικά με την ταυτοποίηση των ατόμων που αποτελούν υβρίδια. Όσο ανεβαίνει, δηλαδή, ο αριθμός των μικροδορυφορικών τόπων που αναλύονται, δίνεται μία πιο ολοκληρωμένη όψη και τόσο πιο αξιόπιστα είναι και τα αποτελέσματα που παίρνουμε.

Αρχικά χρησιμοποιήθηκαν 6 μικροδορυφορικοί τόποι και στη συνέχεια 5 επιπλέον. Έτσι, 3 άτομα που αναγνωρίστηκαν ως υβρίδια με τους 5 τόπους, δεν είχαν αναγνωριστεί ως τέτοια με τους 6, ενώ το αντίστροφο ισχύει σε άλλα 10 άτομα. Ως τελικό αποτέλεσμα έχουμε 7 λιγότερα πιθανά υβρίδια μιας και αρχικά αναφέρονται 41 άτομα ως πιθανά υβρίδια σε σχέση με τα 34 της επόμενης χρονιάς. Με βάση τα παραπάνω αυτό πιθανότατα οφείλεται στην ανάλυση 5 επιπλέον μικροδορυφορικών τόπων, μιας και χρησιμοποιήθηκαν 11 μικροδορυφορικοί τόποι για να βρεθούν τα υβρίδια, σε σχέση με τους 6 που είχαν χρησιμοποιηθεί αρχικά.

Για την εύρεση των ατόμων που πιθανόν είναι υβρίδια χρησιμοποιήσαμε το λογισμικό STRUCTURE. Η ανάλυση που έγινε στον ηλεκτρονικό υπολογιστή, και στηρίχθηκε στα αποτελέσματα της γενοτύπησης και των 11 μικροδορυφορικών τόπων που ενισχύθηκαν επιτυχώς στα πλαίσια του προγράμματος της πέρδικας τα τελευταία 3 χρόνια, αποκάλυψε ότι στα **285** άτομα (Ελληνικά *A. graeca* & *A. chukar*), 34 άτομα ενδεχομένως να αποτελούν υβρίδια μεταξύ της ορεινής και νησιωτικής πέρδικας, μια και έφεραν χαρακτηριστικά αλληλόμορφα και από τα δύο είδη και τα οποία ενδεχομένως να αποτελούν υβρίδια μεταξύ της νησιώτικης και ορεινής πέρδικας. Με βάση τους **Hanfiling et al. (2005)** από τα 34 πιθανά υβρίδια τα 10 χαρακτηρίστηκαν ως υβρίδια δεύτερης γενιάς και τα υπόλοιπα 24 προήλθαν από επαναδιασταυρώσεις. Το γεγονός ότι δε βρέθηκε κανένα υβρίδιο πρώτης γενιάς πιθανότατα οφείλεται στην απαγόρευση των απελευθερώσεων νησιωτικής πέρδικας σε περιοχές φυσικής εξάπλωσης της ορεινής. Το πλέον πιθανό είναι τα συγκεκριμένα υβρίδια να προήλθαν από παλιότερους εμπλουτισμούς.

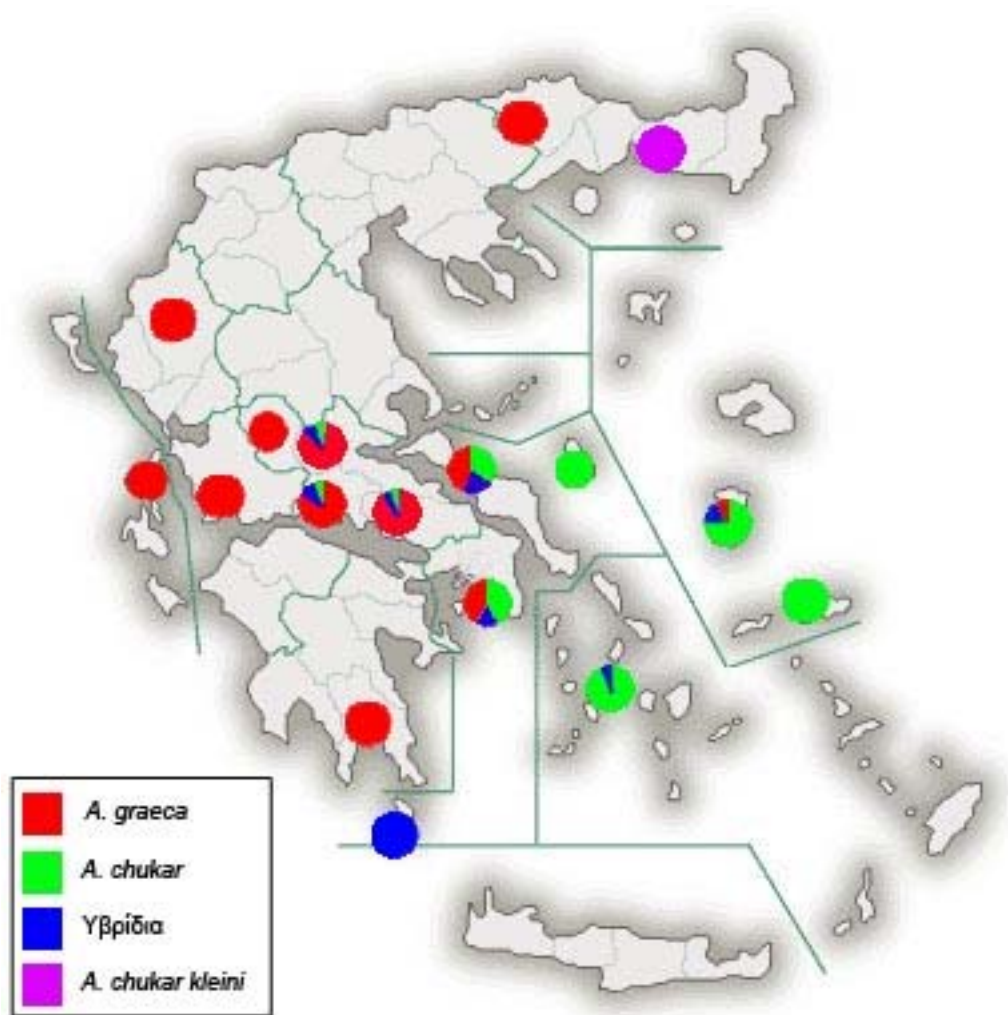
Τα υβρίδια αποτελούν το 11,93% του συνόλου των δειγμάτων. Από τα 34 δείγματα τα 21 ήταν ταυτοποιημένα με τη μέθοδο του μιτοχονδριακού DNA ως *A. graeca* και 13 ως *A. chukar*. Λαμβάνοντας υπόψη ότι το μιτοχονδριακό DNA κληρονομείται από τη μητέρα στο 61,76% των υβριδίων ο θηλυκός γονέας ήταν η ορεινή πέρδικα και στο 38,24% η νησιωτική πέρδικα.

Αφού αναγνωρίστηκαν τα άτομα που πιθανόν αποτελούν υβρίδια, επιχειρήθηκε να εξεταστούν τα αποτελέσματα αυτά σε γεωγραφικό επίπεδο. Στον **Πίνακα 14** παρουσιάζονται τα ποσοστά των δύο ειδών και των υβριδίων ανά δειγματοληπτική περιοχή. Η πλειονότητα των υβριδίων προέρχονταν από τα Κύθηρα (100,00%), την Εύβοια (26,67%), τη Φωκίδα (17,24%), την Πάρο (22,23%), τον Πόρο (66,67%), τη Φθιώτιδα (11,20%) και τη Χίο (25,00%), ενώ με μικρότερο αριθμό εμφάνισης διαπιστώθηκε η παρουσία υβριδίων και σε δείγματα προερχόμενα τη Βοιωτία, τη Μήλο, και την Καρδίτσα.

Πίνακας 14. Τα ποσοστά εμφάνισης της νησιώτικης και της ορεινής πέρδικας, αλλά και των υβριδίων (συνολικά 285 άτομα) ανά δειγματοληπτική περιοχή στον Ελληνικό χώρο (στην παρένθεση βρίσκονται οι απόλυτοι αριθμοί των ατόμων)

ΠΕΡΙΟΧΗ	<i>A. graeca</i>	<i>A. chukar</i>	Υβρίδια
Αιτωλοακαρνανία	100,00% (20)	-	-
Αττική	40,00% (2)	60,00% (3)	-
Αττική (Αίγινα)	-	100,00% (7)	-
Αττική (Κύθηρα)	-	-	100,00% (8)
Αττική (Μακρόνησος)	-	100,00% (3)	-
Αττική (Πόρος)	33,33% (1)	-	66,67% (2)
Αττική (Σαλαμίνα)	-	100,00% (4)	-
Αχαΐα	100,00% (1)	-	-
Βοιωτία	89,65% (26)	6,89% (2)	3,46% (1)
Δράμα	100,00% (1)	-	-
Εύβοια	50,00% (15)	23,33% (7)	26,67% (8)
Ευρυτανία	100,00% (17)	-	-
Ιωάννινα	100,00% (24)	-	-
Καρδίτσα	-	-	100,00% (1)
Κυκλάδες (Αμοργός)	-	100,00% (1)	-
Κυκλάδες (Ανδρος)	-	100,00% (8)	-
Κυκλάδες (Δήλος)	-	100,00% (1)	-
Κυκλάδες (Θήρα)	-	100,00% (2)	-
Κυκλάδες (Μήλος)	-	50,00% (1)	50,00% (1)
Κυκλάδες (Νάξος)	-	100,00% (4)	-
Κυκλάδες (Πάρος)	-	77,77% (7)	22,23% (2)
Κυκλάδες (Σίφνος)	-	100,00% (4)	-
Κυκλάδες (Τήνος)	-	100,00% (10)	-
Λακωνία	100,00% (2)	-	-
Λευκάδα	100,00% (3)	-	-
Μαγνησία	100,00% (1)	-	-
Σάμος	-	100,00% (10)	-
Σκύρος	-	100,00% (6)	-
Τρίκαλα	100,00% (1)	-	-
Φθιώτιδα	85,10% (23)	3,70% (1)	11,20% (3)
Φωκίδα	75,86% (22)	6,90% (2)	17,24% (5)
Χίος	8,33% (1)	66,67% (8)	25,00% (3)
ΣΥΝΟΛΟ	55,78% (159)	32,28% (92)	11,93% (34)

Βάσει του **Πίνακα 14** παρουσιάζεται η γεωγραφική κατανομή των δύο ειδών και των υβριδίων τους στις διάφορες περιοχές δειγματοληψίας του Ελλαδικού χώρου στην **Εικόνα 22**. Πάντως όσο αφορά την εμφάνιση των υβριδίων, δεν υπάρχει σημαντική διαφορά στα ποσοστά που εντοπίζονται, στη νησιωτική και στην ορεινή πέρδικα (**Πίν. 15**).



Εικόνα 22. Γεωγραφική κατανομή των δύο ειδών *Alectoris* και των υβριδίων τους.

Πίνακας 15. Τιμές εμφάνισης υβριδίων στα δύο είδη (Στην παρένθεση είναι τα ποσοστά)

	<i>A. graeca</i>	<i>A. chukar</i>	Σύνολο
Κανονικά άτομα	159 (88,33%)	92 (87,62%)	251 (88,07%)
Υβρίδια	21 (11,66%)	13 (12,38%)	34 (11,93%)
Σύνολο	180	105	285

Το ποσοστό των υβριδίων που βρέθηκε για τον Ελλαδικό χώρο είναι 11,93% (Πίνακας 14 και 15), ποσοστό που δεν μπορεί να θεωρηθεί αμελητέο. Για να εξαχθούν όμως συμπεράσματα σχετικά με την πιθανή μόλυνση του γενετικού αποθέματος του

κάθε είδους πρέπει να μελετηθούν τα αποτελέσματα για τους φυσικούς βιότοπους του κάθε είδους ξεχωριστά (**Πίν. 16**). Οι φυσικοί βιότοποι της ορεινής πέρδικας από τους οποίους είχαμε άτομα εντοπίζονται στην ηπειρωτική Ελλάδα, στην Λευκάδα, στην Εύβοια, στον Πόρο και στα Κύθηρα. Οι βιότοποι για την νησιωτική πέρδικα από τους οποίους είχαμε δείγματα, εντοπίζονται στις Κυκλάδες, στην Αίγινα, στη Σαλαμίνα, στη Μακρόνησο, στη Χίο, στη Σάμο και στη Σκύρο.

Πίνακας 16. Ποσοστά εμφάνισης των δύο ειδών και των υβριδίων τους στους φυσικούς βιότοπους των δύο ειδών (Στην παρένθεση είναι οι απόλυτοι αριθμοί)

Περιοχή	<i>A. graeca</i>	<i>A. chukar</i>	Υβρίδια
Φυσικοί βιότοποι <i>A. graeca</i>	78,21% (158)	7,92% (16)	13,86% (28)
Φυσικοί βιότοποι <i>A. chukar</i>	1,22% (1)	91,56% (76)	7,22% (6)
Σύνολο	55,78% (159)	32,28% (92)	11,93% (34)

Όπως προκύπτει από τους **Πίνακες 14-16** το μεγαλύτερο πρόβλημα με τα υβρίδια και με τη μόλυνση του γονιδιακού αποθέματος τους, το αντιμετωπίζουν οι φυσικοί πληθυσμοί *A. graeca* με ποσοστό υβριδίων που φτάνει το 13,86% και με ποσοστό ατόμων *A. chukar* 7,92% μέσα σε αυτούς. Το γεγονός αυτό πιστοποιείται και με το εύρημα ότι μεταξύ των 34 πιθανών υβριδίων, το μεγαλύτερο ποσοστό προέρχεται από τα Κύθηρα (23,52%), την Εύβοια (23,52%) και τη Φωκίδα (17,70%), οι οποίες είναι περιοχές που συναντώνται φυσικοί βιότοποι ορεινής πέρδικας. Στους φυσικούς πληθυσμούς *A. chukar* είχαμε ποσοστό υβριδίων 7,22% και μόλις ένα άτομο *A. graeca* σε σύνολο 83 ατόμων, το οποίο εντοπίστηκε στη Χίο. Με τη μελέτη, λοιπόν κατά βάση τη γεωγραφική προέλευση των ατόμων μας, αποφύγαμε λανθασμένα συμπεράσματα, στα οποία θα οδηγούμασταν αν είχαμε υπόψη μας μόνο τον **Πίνακα 15** που φαινομενικά παρουσιάζεται το είδος *A. graeca* να διατρέχει τον ίδιο κίνδυνο από τους υβριδισμούς σε σχέση με το *A. chukar*.

Επίσης, από τον **Πίνακα 14** φαίνεται ότι υπάρχουν περιοχές στις οποίες εντοπίζεται μόνο το ένα ή το άλλο είδος, περιοχές που εντοπίζονται και τα δύο είδη μαζί, περιοχές που υπάρχουν υβρίδια κλπ. Για να έχουμε πιο ολοκληρωμένη όψη των αποτελεσμάτων ομαδοποιήθηκαν οι περιοχές ανάλογα με τα είδη που απαντώνται σε αυτές καθώς και με το αν περιέχουν υβρίδια στον **Πίνακα 17**.

Πίνακας 17. Ομαδοποίηση των περιοχών δειγματοληψίας ανάλογα με τα είδη που εντοπίστηκαν σε αυτή και καθώς με το αν αναγνωρίστηκαν υβρίδια σε αυτές

Είδη	Περιοχές
<i>A. graeca</i> μόνο	Αιτωλοακαρνανία, Αχαΐα, Δράμα, Ευρυτανία, Ιωάννινα, Λακωνία, Λευκάδα, Μαγνησία, Τρίκαλα
<i>A. chukar</i> μόνο	Αίγινα, Αμοργός, Άνδρος, Δήλος, Θήρα, Μακρόνησος, Νάξος, Σαλαμίνα, Σάμος, Σίφνος, Σκύρος, Τήνος
<i>A. graeca</i> & <i>A. chukar</i>	Αττική
<i>A. graeca</i> , <i>A. chukar</i> & υβρίδια	Βοιωτία, Εύβοια, Φθιώτιδα, Φωκίδα, Χίος
<i>A. graeca</i> & υβρίδια	Πόρος
<i>A. chukar</i> & υβρίδια	Μήλος, Πάρος
Υβρίδια μόνο	Κύθηρα, Καρδίτσα

Στον **Πίνακα 17** φαίνεται ότι υπάρχουν περιοχές που απαντώνται τόσο άτομα νησιωτικής όσο και ορεινής πέρδικας. Πιο συγκεκριμένα σε 5 περιοχές φυσικών βιότοπων της ορεινής πέρδικας (Αττική, Βοιωτία, Εύβοια, Φθιώτιδα, Φωκίδα), στις οποίες δεν υπάρχει γεωγραφική αλληλοεπικάλυψη της κατανομής των δύο ειδών, ενώ το αντίστροφο ισχύει σε μία περιοχή της νησιωτικής πέρδικας (Χίος). Πιθανότατα η παρουσία ατόμων *A. chukar* στη Στερεά Ελλάδα, οφείλεται σε συστηματικές απελευθερώσεις νησιωτικής πέρδικας και όχι σε μετακινήσεις από τη νησιωτική Ελλάδα, αφού η πέρδικα είναι πουλί που προτιμά το περπάτημα από το πέταγμα. Ο μικρός αριθμός ατόμων *A. chukar* που βρέθηκαν στη Φθιώτιδα και τη Φωκίδα δείχνει ότι τα απελευθερωμένα άτομα έχουν μειωμένη βιωσιμότητα αφενός λόγω της έντονης θήρευσης τους και αφετέρου λόγω της ελλιπούς προσαρμογής τους σε βιότοπους που δεν είναι οι φυσικοί τους. Στην Εύβοια και στην Αττική όμως, τα άτομα της νησιωτικής πέρδικας εμφανίζονται σε μεγαλύτερα ποσοστά, γεγονός που υποδηλώνει είτε ότι οι εμπλουτισμοί στις περιοχές αυτές ήταν πιο συστηματικοί, είτε ακόμη ότι τα ενδιαιτήματα σε αυτές τις περιοχές ήταν καταλληλότερα για τη διαβίωση ατόμων νησιωτικής πέρδικας. Αντίστοιχα στη Χίο, φυσικό χώρο εξάπλωσης της νησιωτικής πέρδικας βρέθηκε ένα άτομο ορεινής γεγονός το οποίο εξηγείται μάλλον με μεταφορά από την ηπειρωτική Ελλάδα.

Σε δύο νησιά των Κυκλάδων (Μήλος, Πάρος), στα οποία δεν υπάρχουν φυσικοί πληθυσμοί *A. graeca*, βρέθηκαν άτομα νησιωτικής πέρδικας που συνυπάρχουν με υβρίδια. Η εμφάνιση υβριδίων οφείλεται είτε στην απελευθέρωση λίγων ατόμων ορεινής πέρδικας στα νησιά, με προέλευση την ηπειρωτική Ελλάδα, είτε στην απελευθέρωση υβριδίων που βρίσκονταν στις μονάδες εκτροφής της νησιωτικής πέρδικας. Το αντίστροφο πρέπει να συνέβη στον Πόρο, ο οποίος αποτελεί φυσικό χώρο εξάπλωσης της ορεινής πέρδικας που βρέθηκε να συνυπάρχει με υβρίδια σε αυτό το νησί.

Στα Κύθηρα, φυσικό βιότοπο της ορεινής πέρδικας, βρέθηκαν μόνο υβρίδια. Μάλιστα όπως αναφέρθηκε μερικά από αυτά παρουσιάζουν μιτοχονδριακό απλότυπο μοναδικό για τη νησιωτική πέρδικα. Η απελευθέρωση ατόμων νησιωτικής πέρδικας, σε συνδυασμό με το φαινόμενο της γεωγραφικής απομόνωσης, αφού τα Κύθηρα είναι νησί, πιθανότατα ευθύνονται για αυτή την τροπή που πήρε ο τοπικός πληθυσμός. Η περίπτωση αυτή του πληθυσμού χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Μόνο υβρίδια βρέθηκαν και για την Καρδίτσα, αλλά το δείγμα μας ήταν μόλις ένα άτομο, οπότε πιθανό είναι τυχαίο γεγονός.

Σε ότι αφορά τα άτομα *A. chukar kleini* της Θράκης που μελετήθηκαν δεν διαπιστώθηκαν υβρίδια μεταξύ του συγκεκριμένου υποείδους και της ορεινής πέρδικας αν και τα όρια των περιοχών εξάπλωσης των δύο ειδών βρίσκονται σε σχετικά μικρή απόσταση. Πρέπει να σημειωθεί όμως ότι είχαμε μικρό αριθμό ατόμων από την Θράκη, έτσι δεν μπορούμε να προβούμε σε ασφαλή συμπεράσματα.

Τέλος, στην παρούσα εργασία βρήκαμε ποσοστό υβριδίων για την *A. graeca*, της τάξης του 11,66% (Πίν. 15), ποσοστό μεγαλύτερο από το 8,78% που αντιστοιχεί στα 28 υβρίδια από τα 319 συνολικά δείγματα *A. graeca* του ελληνικού χώρου (Α. Μακεδονία, Πελοπόννησος, Ήπειρος και Όλυπος), που μελέτησαν οι **Barilani et al. (2006)**. Οι **Barilani et al. (2006)** με τη χρήση εξομοιώσεων, δημιούργησαν τυχαίους γενοτύπους διαφόρων κατηγοριών υβριδίων μεταξύ των *A. chukar* x *A. rufa*, *A. chukar* x *A. graeca*, και *A. graeca* x *A. rufa*. Με τη χρήση αυτών των τυχαίων γενοτύπων υβριδίων, ξανατρέξανε το STRUCTURE και βρήκαν ότι μπορεί να υπάρχει ακόμα ένα 10% ποσοστό ατόμων τα οποία είναι υβρίδια που προέρχονται από επαναδιασταυρώσεις, τα οποία δεν αναγνωρίστηκαν στην πρώτη ταυτοποίηση. Σε αυτή την περίπτωση, το ποσοστό υβριδισμού των ατόμων *A. graeca* στην εν λόγω εργασία, φτάνει το 20%. Ακόμα οι ίδιοι συγγραφείς διαπίστωσαν υβρίδια μεταξύ του *A. graeca* και της

κοκκινοπέρδικας *A. rufa* το οποίο δεν ήταν αναμενόμενο, αφού δεν υπήρχαν στο φως τέτοια δεδομένα όσο αφορά την Ελλάδα. Οι **Barilani et al. (2006)** εικάζουν ότι η προέλευση αυτών των υβριδίων προέρχεται από άτομα *A. rufa* τα οποία απελευθερώθηκαν αυθαίρετα για κυνηγετικούς σκοπούς. Βέβαια, σε κάποιες περιπτώσεις ενδέχεται να πρόκειται για υβριδισμό ατόμων *Alectoris chukar kleini* με άτομα *A. graeca* και όχι υβριδισμό *A. rufa* με άτομα *A. graeca*, αφού στην εργασία αυτή δεν υπήρχαν τέτοια δείγματα προς σύγκριση. Γεγονός είναι πάντως ότι όλα τα ευρήματα φανερώνουν ότι τα εκτρεφόμενα άτομα που απελευθερώθηκαν, έχουν αναπαραχθεί και υβριδιστεί με τα γηγενή *A. graeca*, επηρεάζοντας έτσι το γονιδιακό απόθεμα των άγριων πληθυσμών πετροπέρδικας στην Ελλάδα. Πιστοποιείται έτσι, το πρόβλημα γενετικής ρύπανσης που αντιμετωπίζουν οι φυσικοί πληθυσμοί ορεινής πέρδικας στη χώρα μας. Προς αποφυγή, όμως οποιασδήποτε δυσάρεστης συνέπειας ορθώς όλες αυτές οι απελευθερώσεις έχουν πλέον απαγορευτεί από το αρμόδιο Υπουργείο.

Σύμφωνα με τον **Haldane (1922)**, στα πουλιά συνήθως μόνο τα αρσενικά υβρίδια της πρώτης γενιάς (F1) πιστεύεται ότι είναι γόνιμα. Πειραματικά δεδομένα αποκαλύπτουν ότι η διαπίστωση του **Haldane** για τον υβριδισμό στα πουλιά, δεν ισχύει στην περίπτωση της πέρδικας. Πειράματα υβριδισμού μεταξύ νησιωτικής και ορεινής πέρδικας που πραγματοποιήθηκαν στα πλαίσια της διδακτορικής διατριβής του **Δρ. Ν. Μανιού**, αποκάλυψαν ότι: α) η ορεινή και νησιωτική πέρδικα διασταυρώνονται σε συνθήκες τεχνητής εκτροφής και προκύπτει η F1 γενιά των υβριδίων, β) τα ποσοστά γονιμότητας και εκκολαπτικότητας των αβγών που προκύπτουν από αυτή τη διασταύρωση είναι υψηλά και παρόμοια με αυτά που υπολογίστηκαν από ζευγάρια μάρτυρες της νησιωτικής πέρδικας, γ) τα υβρίδια F1 είναι γόνιμα και μπορούν να διασταυρωθούν μεταξύ τους, δίνοντας τα υβρίδια της F2 γενιάς, δ) τα ποσοστά της γονιμότητας και εκκολαπτικότητας των αβγών της διασταύρωσης αυτής είναι υψηλά.

7.2.2. Επίπεδα ποικιλομορφίας

7.2.2.1 Ανάλυση γενετικών παραμέτρων στα δυο είδη και σύγκριση με σχετικές μελέτες

Τα επίπεδα της ποικιλομορφίας που βρέθηκαν για τα δύο είδη μπορούν να συγκριθούν με αυτά άλλων μελετών, αν και απευθείας συγκρίσεις δεν είναι δυνατές

αφού γίνονται σε διαφορετικούς γονιδιακούς τόπους, ή/και οι περιοχές δειγματοληψίας είναι διαφορετικές.

Τα επίπεδα της ποικιλομορφίας που βρέθηκαν για το *A. graeca* μπορούν να συγκριθούν με αυτά άλλων δύο σχετικών μελετών (**Πίνακας 18**), και πιο συγκεκριμένα με τις εργασίες των **Randi et al. 2003** (μόνο για τον ελληνικό χώρο) και **Barilani et al. 2006**. Για το *A. chukar* δεν υπάρχει αντίστοιχη εργασία για τον ελληνικό χώρο. Υπάρχει όμως μία πρόσφατη εργασία των **Tejedor et al. (2005)** που μελέτησαν τη γενετική ποικιλομορφία των *A. chukar cypriotes* του Κυπριακού χώρου. Έτσι κάναμε μία σύγκριση των ατόμων νησιωτικής πέρδικας της Ελλάδας, με αυτά της Κύπρου. Ακόμα, συγκρίναμε τα αποτελέσματα που πήραμε για 11 άτομα *A. chukar* που αναλύσαμε, τα οποία προέρχονταν από την Κύπρο, σε σχέση με τα αποτελέσματα της προαναφερθείσας εργασίας. Ως μέτρα της ποικιλομορφίας χρησιμοποιούνται ο μέσος αριθμός αλληλομόρφων ανά γονιδιακό τόπο και οι τιμές της ετεροζυγωτίας.

7.2.2.2. Μέσος αριθμός αλληλομόρφων

Ο μέσος αριθμός αλληλομόρφων σε αυτή τη μελέτη υπολογίστηκε στο 8,82 για το είδος *A. graeca* και 8,55 για το *A. chukar* στο σύνολο των δειγμάτων, και σε 7,55 για το *A. graeca* και 7,82 για το *A. chukar* μετά την αφαίρεση των υβριδίων (**Πίν. 12 και 13**). Για το *A. graeca* το 8,82 ή ακόμη και το 7,55 είναι τιμή αρκετά υψηλότερη από τις τιμές που βρέθηκαν στις αντίστοιχες αναλύσεις των **Randi et al. (2003)** και των **Barilani et al. (2006)** στις οποίες βρέθηκαν 5,5 αλληλόμορφα ανά γονιδιακό τόπο και στις δυο εργασίες. Αυτό οφείλεται μάλλον στους διαφορετικούς μικροδορυφορικούς τόπους που χρησιμοποιήθηκαν για την κάθε μελέτη.

Όσο αφορά το *A. chukar*, τα ελληνικά άτομα παρουσιάζουν σημαντικά μεγαλύτερη ποικιλομορφία από τα κυπριακά (**Tejedor et al. 2005**), με μέσο αριθμό αλληλομόρφων 7,82 έναντι 3,25. Μεταξύ των κυπριακών ατόμων της παρούσας εργασίας και αυτών των **Tejedor et al. (2005)**, δεν υπάρχει διαφορά σε αυτή την παράμετρο.

Πίνακας 18. Σύγκριση αποτελεσμάτων παρούσας εργασίας με τρεις σχετικές εργασίες (**Randi *et al.*, 2003; Barilani *et al.*, 2006; Tejedor *et al.*, 2005**). Στα αποτελέσματα που αναφέρονται για την παρούσα εργασία είναι αυτά που πάρθηκαν μετά την αφαίρεση των υβριδίων ενώ σε παρένθεση αφορούν το σύνολο των δειγμάτων

	Αριθμός δειγμάτων (n)	Αριθμός γονιδιακών τόπων (K)	Μέσος αριθμός αλ/φων (A)	Παρατηρούμενη ετεροζυγωτία (Ho)	Αναμενόμενη ετεροζυγωτία (He)
Παρούσα εργασία <i>A. graeca</i> (Ελλάδας)	158 (180)	11	7,82 (8,82)	0,47 (0,48)	0,52 (0,54)
Παρούσα εργασία <i>A. chukar</i> (Ελλάδας)	90 (105)	11	7,55 (8,55)	0,45 (0,47)	0,63 (0,64)
Παρούσα εργασία <i>A. chukar</i> (Κύπρου)	11	11	3,27	0,40	0,49
Randi <i>et al.</i> (2003) <i>A. graeca</i> (Ελλάδας)	186	8	5,5	0,33	0,38
Barilani <i>et al.</i> (2006) <i>A. graeca</i> (Ελλάδας)	319	8	5,5	0,33	0,37
Tejedor <i>et al.</i> (2005) <i>A. chukar</i> (Κύπρου)	33	4	3,25	0,45	0,49

7.2.2.3. Παρατηρούμενη και αναμενόμενη ετεροζυγωτία

Οι τιμές της παρατηρούμενης και αναμενόμενης ετεροζυγωτίας είναι 0,47 και 0,64 για το είδος *A. chukar* και 0,48 και 0,54 για το *A. graeca* στο σύνολο των δειγμάτων (Πίν. 12). Οι αντίστοιχες τιμές που προκύπτουν μετά την αφαίρεση των πιθανών υβριδίων είναι 0,45 και 0,63 για το *A. chukar* και 0,48 και 0,52 για το *A. graeca* (Πίν. 13 και 18). Η μικρή μείωση στις τιμές της ετεροζυγωτίας μετά την αφαίρεση των υβριδίων είναι γεγονός αναμενόμενο, εφόσον η αφαίρεση των υβριδίων συνεπάγεται την αφαίρεση ετεροζυγωτών από το δείγμα. Επειδή όμως είναι μικρή η μείωση, το πιο πιθανό είναι τα υβρίδια που αφαιρέθηκαν να μην είναι πρώτης γενιάς, τα οποία είναι πιο ετερόζυγα σε σχέση με αυτά της δεύτερης γενιάς και τα υβρίδια που προέρχονται από επαναδιασταυρώσεις. Πάντως σε σχέση με συγγενικά είδη, οι τιμές της αναμενόμενης και παρατηρούμενης ετεροζυγωτίας είναι παρόμοιες.

Για τα άτομα *A. graeca*, σε σχέση με τη μελέτη των **Barilani *et al.* (2006)**, που είναι και η πιο σχετική εργασία με τη δική μας, ο παρατηρούμενος βαθμός ετεροζυγωτίας (της τάξης του 0,48) είναι μεγαλύτερος από αυτόν της αντίστοιχης

εργασίας, ο οποίος κυμαίνεται στο 0,38. Επίσης είναι μεγαλύτερος και από αυτόν της εργασίας του **Randi et al. (2003)**, ο οποίος είναι 0,33 για τα ελληνικά άτομα. Από αυτές τις διαφορές δεν μπορούν να προκύψουν ασφαλή συμπεράσματα λόγω των διαφορετικών περιοχών που έγινε η δειγματοληψία των *A. graeca* για κάθε μελέτη.

Για τα *A. chukar*, δεν υπάρχουν ουσιαστικές διαφορές μεταξύ των ελληνικών ατόμων της εργασίας μας, των κυπριακών ατόμων της εργασίας μας, και των κυπριακών ατόμων που χρησιμοποίησαν οι **Tejedor et al. (2005)**.

7.2.2.4. Συμπεράσματα

Όσο αφορά το είδος *A. graeca*, αν και φαίνονται πιο πολυμορφικοί οι πληθυσμοί της δικής μας εργασίας, δεν είναι δυνατό να γίνει άμεση σύγκριση, αφού αν και οι δύο μελέτες (**Randi et al. 2003; Barilani et al. 2006**) ασχολούνται με πληθυσμούς *A. graeca* του Ελλαδικού χώρου, πρέπει να ληφθεί υπόψη το γεγονός ότι ενισχύονται διαφορετικοί μικροδορυφορικοί γονιδιακοί τόποι, και ότι οι περιοχές δειγματοληψίας έχουν διαφορετική γεωγραφική κατανομή για την κάθε μελέτη. Με πιο λεπτομερή ανάλυση μπορούν να συγκριθούν οι τιμές της ποικιλομορφίας ανά γεωγραφική περιοχή. Ενδέχεται οι υποπληθυσμοί *A. graeca* των περιοχών που αποτελούν τον πυρήνα αυτής της εργασίας (Ιωάννινα, Φθιώτιδα, Φωκίδα, Ευρυτανία, Βοιωτία, Αιτωλοακαρνανία), να είναι πιο πολυμορφικοί από τους υποπληθυσμούς των περιοχών που αποτελούν τον πυρήνα των άλλων δύο εργασιών (Πελοπόννησος, Θεσσαλία, Α. Μακεδονία, Πίνδος).

Στο υποείδος *A. chukar cypriotes*, οι ελληνικοί πληθυσμοί βρέθηκαν να έχουν μεγαλύτερη γενετική ποικιλομορφία από τους κυπριακούς. Αυτό είναι γεγονός αναμενόμενο, αφού ο ελληνικός χώρος είναι αρκετά μεγαλύτερος, με αρκετούς γεωγραφικούς υποπληθυσμούς που είναι απομονωμένοι μεταξύ τους, σε σχέση με τον μικρότερο κυπριακό χώρο στον οποίο οι πληθυσμοί *A. chukar* είναι γενετικά ομοιογενείς μεταξύ τους, λόγω της έλλειψης γεωγραφικών φρακτών (**Tejedor et al. 2005**). Επίσης στην Κύπρο οι συνεχείς εμπλουτισμοί με άτομα που μάλλον προέρχονται από μικρό αριθμό γεννητόρων έχουν οδηγήσει τους πληθυσμούς *A. chukar cypriotes* σε φαινόμενα ομομιξίας και γενετικής στενωπού (**Tejedor et al. 2005**). Πάντως τα αποτελέσματα που πήραμε για τα κυπριακά άτομα στην παρούσα εργασία, έρχονται σε πλήρη συμφωνία με αυτά της προαναφερθείσας μελέτης που έγινε στην Κύπρο.

Σε ότι αφορά τις επιμέρους τιμές ετεροζυγωτίας ξεχωριστά στο καθένα από τα δυο είδη παρατηρούμε ότι οι τιμές της παρατηρούμενης ετεροζυγωτίας είναι χαμηλότερες από αυτές που αναμένονταν, με ή χωρίς την αφαίρεση των υβριδίων (**Πίν. 12 και 13**). Ο αριθμός αλληλομόρφων/γονιδιακό τόπο από σχετικές μελέτες μικροδορυφορικού πολυμορφισμού σε άλλα είδη πτηνών παρατίθεται στον **Πίνακα 19**. Συγκρίνοντας το μέσο αριθμό αλληλομόρφων ανά γονιδιακό τόπο που προσδιορίστηκε στην παρούσα μελέτη, με τις αντίστοιχες τιμές του πίνακα, διαπιστώνουμε ότι η τιμή του για τα δύο υπό μελέτη είδη *A. chukar* και *A. graeca*, αν και είναι σχετικά μικρή είναι πλησιέστερη με τις αντίστοιχες τιμές των στενότερα συγγενικών τους ειδών (*Gallus gallus*, *Phasianus colchicus*, *Coturnix japonica*) κι όχι των πιο φυλογενετικά απομακρυσμένων.

Πίνακας 19. Συνοπτικός πίνακας αποτελεσμάτων ποικιλομορφίας μικροδορυφορικού DNA σε διάφορα είδη πουλιών. Δίνονται: το είδος, το πληθυσμιακό δείγμα **N**, ο αριθμός των εξεταζόμενων γονιδιακών τόπων **K**, ο αριθμός αλληλομόρφων/γονιδιακό τόπο **m.n.a.**, η μέση παρατηρούμενη **Ho** και η αναμενόμενη ετεροζυγωτία **He**.

Είδος	N	K	m.n.a.	Ho	He
<i>Gallus gallus</i> (κότα)	12	28	2,9	0,19	-
<i>Phasianus colchicus</i> (φασιανός)	40	8	2,0	0,19	0,27
<i>Coturnix japonica</i> (ορτύκι)	20	100	3,7	0,42	0,52
<i>Thalassarche cauta</i> (άλμπαντρος)	67	6	4,0	0,40	0,50
<i>Tetrao tetrix L.</i> (black grouse)	349	13	5,4	0,74	0,75
<i>Tympanuchus pallidicinctus</i> (lesser prairie-chicken)	49	6	6,1	0,54	0,70

7.2.3. Ανισορροπία Hardy – Weinberg & Ύπαρξη Υποπληθυσμών

Οι έλεγχοι της ισορροπίας Hardy – Weinberg, οι οποίοι πραγματοποιήθηκαν στο σύνολο των δειγμάτων και στο σύνολο των 11 γονιδιακών τόπων, έδειξαν ότι στο είδος *A. chukar* οι εννέα από τους έντεκα ελέγχους ήταν στατιστικά σημαντικοί. Οι έλεγχοι αυτοί αφορούν τους γονιδιακούς τόπους Arg1.09, Arg 1.23, Arg1.27, MCW121,

MCW135, MCW146, MCW199, MCW215 και MCW225 και καταδεικνύουν ότι ο πληθυσμός του είδους, με βάση τους συγκεκριμένους γονιδιακούς τόπους, βρίσκεται σε ανισορροπία Hardy – Weinberg. Αντίστοιχα για το είδος *A. graeca*, οι στατιστικά σημαντικοί έλεγχοι αφορούσαν τους ίδιους τόπους, με εξαίρεση τον MCW146 ο οποίος βρίσκεται σε ισορροπία Hardy – Weinberg. Οι συγκεκριμένοι γονιδιακοί τόποι, οι οποίοι δεν βρίσκονται σε ισορροπία Hardy – Weinberg, έχουν θετικές τιμές της παραμέτρου F_{IS} . Μετά την αφαίρεση των υβριδίων ξανακάναμε έλεγχο Hardy – Weinberg και φάνηκε ότι το είδος *A. chukar* βρίσκεται σε ανισορροπία Hardy – Weinberg, με θετικές τιμές F_{IS} , με βάση οκτώ από τους έντεκα γονιδιακούς τόπους, ενώ το είδος *A. graeca* βρίσκεται σε ανισορροπία με βάση πέντε από τους έντεκα. Για τους γονιδιακούς τόπους Arg1.09, Arg1.23, Arg1.27, MCW121, MCW135, MCW146, MCW199, MCW215 και MCW225 βρέθηκαν ισχυρά θετικές τιμές F_{IS} ακόμα και μετά από αφαίρεση των υβριδίων. Αντίστοιχα θετικές τιμές F_{IS} βρέθηκαν και στο είδος *A. graeca* για τους γονιδιακούς τόπους Arg1.09, Arg1.19, MCW215 και MCW225. Η ύπαρξη τέτοιων τιμών F_{IS} υποδηλώνει την περίσσεια ομοζυγωτών για τους συγκεκριμένους γονιδιακούς τόπους.

Για να είναι ο έλεγχος Hardy – Weinberg πιο αυστηρός, χρησιμοποιήσαμε την διόρθωση του **Bonferroni (Bonferroni 1935)** που δηλώνει ότι όταν γίνεται έλεγχος σε n υποθέσεις χρησιμοποιώντας τα ίδια δεδομένα, τότε η τιμή P , που καθορίζει αν είναι στατιστικά σημαντικός ο έλεγχος, πρέπει να είναι n φορές μικρότερη, παρά όπως συνήθως. Στην προκειμένη περίπτωση η τιμή P θα ισούται με 0,05 διαιρεμένου διά του 11 που είναι ο αριθμός των μικροδορυφορικών τόπων για τους οποίους διεξάγουμε τον έλεγχο. Τα αποτελέσματα του φαίνονται στον **Πίνακα 20** και παρουσιάζουν 6 από τους 11 μικροδορυφορικούς τόπους στο *A. chukar* να παρουσιάζουν ανισορροπία Hardy – Weinberg, σε αντίθεση με τον ένα τόπο μόνο που συναντάται το ίδιο φαινόμενο στο *A. graeca*. Φαίνεται τελικά ότι στο *A. chukar* παρουσιάζεται σε αρκετά μεγαλύτερο βαθμό ανισορροπία Hardy – Weinberg σε σχέση με το *A. graeca*, που δεν είναι τόσο σημαντική η ανισορροπία που παρουσιάζει αφού αφορά μόνο ένα τόπο.

Πίνακας 20. Οι έλεγχοι της ισορροπίας Hardy – Weinberg με τη χρήση της διόρθωσης Bonferroni.
Όπου: - για $P > 0,05/11$ και ***για $P < 0,05/11$

Hardy – Weinberg test (χωρίς τα υβρίδια)		
Γονιδιακός Τόπος	Τιμή – P	
	<i>A. chukar</i>	<i>A. graeca</i>
MCW121	***	-
MCW118	-	-
MCW135	-	-
MCW146	***	-
MCW199	***	-
MCW215	***	***
MCW225	-	-
Aru1.09	***	-
Aru1.19	-	-
Aru1.23	-	-
Aru1.27	***	-

Το φαινόμενο που παρατηρείται κυρίως στη νησιώτικη πέρδικα, δηλαδή στατιστικά σημαντικές τιμές σε ελέγχους Hardy – Weinberg σε συνδυασμό με υψηλά σημαντική τιμή F_{IS} έχουν συσχετισθεί με διάφορους παράγοντες: **i)** φαινόμενα ομομιξίας, δηλαδή διασταύρωσης μεταξύ «ομοίων» που οδηγεί σε απώλεια της γενετικής ποικιλότητας του πληθυσμού, **ii)** μη τυχαίας αναπαραγωγής, η οποία μπορεί να ήταν αποτέλεσμα των εμπλουτισμών των τελευταίων χρόνων, **iii)** στην παρουσία μηδενικών αλληλομόρφων, στα οποία συνήθως έχουμε απουσία του γονιδιακού προϊόντος σε μοριακό επίπεδο, και προκαλούν έλλειψη ετεροζυγωτών αφού ανιχνεύονται μόνο σε ομοζυγωτική κατάσταση, **iv)** το φαινόμενο του Wahlund (Wahlund 1928), της ύπαρξης δηλαδή υποπληθυσμών στον υπό μελέτη πληθυσμό, η οποία οδηγεί σε φαινομενική ανισορροπία Hardy – Weinberg και είναι γεγονός αναμενόμενο αφού οι πέρδικες δε μετακινούνται σε μεγάλες αποστάσεις και μετακινούνται περισσότερο με το περπάτημα, **iv)** περιπτώσεις φυλοσύνδετης κληρονομικότητας αν οι μικροδορυφορικοί τόποι βρίσκονται σε φυλετικά χρωμοσώματα, και **v)** στον παράγοντα τύχη λόγω του περιορισμένου αριθμού των ατόμων που μελετήθηκαν (σε λίγους υποπληθυσμούς).

Με βάση τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας η απόκλιση από την ισορροπία Hardy – Weinberg, η οποία παρατηρείται πιο έντονα στο είδος *A. chukar*, φαίνεται να οφείλεται κυρίως στο φαινόμενο Wahlund. Η ανάλυση των επί μέρους γεωγραφικών πληθυσμών που έγινε με το πρόγραμμα STRUCTURE (**Εικ. 20 και 21**) κατέδειξε ότι ειδικά για το είδος *A. chukar*, οι υποπληθυσμοί του είναι αρκετά απομακρυσμένοι μεταξύ τους, εμφανίζοντας γενετική διαφοροποίηση. Ειδικότερα στη Χίο, στη Σάμο, στη Σκύρο και στην Άνδρο φαίνεται ότι οι πληθυσμοί τους είναι αρκετά γενετικά διαφοροποιημένοι σε σχέση με τους υπολοίπους, γεγονός που πιστοποιείται και με την εύρεση χαρακτηριστικών αλληλομόρφων που βρίσκονται μόνο σε συγκεκριμένους υποπληθυσμούς (π.χ. το αλληλόμορφο 224 στον μικροδορυφορικό τόπο MCW121, που συναντιέται μόνο σε άτομα της Σκύρου). Αυτό οφείλεται στο φαινόμενο της γεωγραφικής απομόνωσης, αφού οι υποπληθυσμοί της νησιωτικής πέρδικας εμφανίζονται ο καθένας σε διαφορετικό νησί και ως γνωστό η πέρδικα προτιμά το περπάτημα παρά το πέταγμα και δεν μεταναστεύει.

Πάντως η Χίος και η Άνδρος φαίνονται στο STRUCTURE να μοιάζουν γενετικά αρκετά μεταξύ τους (γεγονός που πιστοποιείται και στο δένδρογραμμα της **Εικ. 19**, όπως επίσης και η Εύβοια με την Αττική. Για τις περιοχές της Εύβοιας και Αττικής είναι αρκετά ευνόητο να μοιάζουν τόσο πολύ οι πληθυσμοί τους αφού είναι και πολύ κοντά γεωγραφικά. Για την Άνδρο και τη Χίο δεν είναι τόσο ευνόητο αν και η Άνδρος είναι το πιο κοντινό νησί των Κυκλάδων στη Χίο. Η Σκύρος και η Σάμος φαίνονται να είναι οι πιο διαφοροποιημένοι από όλους τους υποπληθυσμούς (**Εικ. 19**), γεγονός που δικαιολογείται και βάση της γεωγραφικής τους θέσης, αφού είναι σχετικά πιο μακριά από τις θέσεις των άλλων υποπληθυσμών. Οι Κυκλάδες φαίνεται να αποτελούνται από υποπληθυσμούς νησιωτικής πέρδικας, στους οποίους αν είχαμε περισσότερα δείγματα και κάναμε την επεξεργασία για το κάθε νησί ξεχωριστά, ίσως να μπορούσαμε να ανιχνεύσουμε γενετική διαφοροποίηση και μεταξύ των υποπληθυσμών του κάθε νησιού αυτού του νησιωτικού συμπλέγματος. Υπάρχει λοιπόν ένα παράθυρο για μελλοντικές αναλύσεις.

Η έντονη γενετική διαφοροποίηση μεταξύ των υποπληθυσμών *A. chukar*, πιθανότατα οφείλεται στο φαινόμενο της γεωγραφικής απομόνωσης σε συνδυασμό με τη γενετική παρέκκλιση, αφού οι υποπληθυσμοί της νησιωτικής πέρδικας εμφανίζονται σε

νησιά και ως γνωστό η πέρδικα προτιμά το περπάτημα παρά το πέταγμα και δεν μεταναστεύει. Επίσης πιθανώς επηρεάζει τη γενετική δομή των πληθυσμών και φαινόμενα όπως ομομιξίας μεταξύ των ατόμων των μικρών πληθυσμών της πέρδικας σε κάθε νησί. Η ομομιξία μέσα σε απομονωμένους υποπληθυσμούς οδηγεί στην μείωση της γενετικής ποικιλότητας του κάθε υποπληθυσμού (Nei *et al.* 1975), που με τη σειρά της αυτή η μείωση οδηγεί στην αύξηση της γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ των υποπληθυσμών. Αν συνεχίσουν έτσι τα πράγματα είναι πιθανό, με το πέρασμα του χρόνου, να διαφοροποιηθούν αρκετά οι υποπληθυσμοί, εμφανίζοντας και μορφολογικές διαφορές όπως έχει συμβεί μεταξύ υποπληθυσμών *A. chukar* στο Ισραήλ, λόγω των διαφορετικών κλιματικών και οικολογικών παραμέτρων κάθε γεωγραφικά απομονωμένης περιοχής (Randi *et al.* 2006). Για να μην συμβεί αυτό, και να διατηρηθεί η γενετική ποικιλότητα των περιφερειακών υποπληθυσμών θα πρέπει να υπάρχει γονιδιακή ροή μεταξύ τους (Huang *et al.* 2005), ώστε να αποφευχθεί η γενετική διαφοροποίηση. Σε αυτή την περίπτωση μόνο η φυσική επιλογή μπορεί να δράσει ως αντιστάθμισμα στην γονιδιακή ροή, όπως δηλώνει το «αποκλίνων με γονιδιακή ροή» μοντέλο ειδογένεσης (Rice and Hostert 1993). Εν τούτοις, δεν θα πρέπει να ξεχνάμε ότι σε όρους διασποράς και εγκλιματισμού στα διάφορα ενδιαιτήματα, το *A. chukar* θεωρείται το πιο επιτυχημένο από τα επτά είδη *Alectoris* παγκοσμίως (Johnsgard 1988). Αυτό οφείλεται στη γενετική διαφοροποίηση που παρατηρείται, η οποία μπορεί να συσχετιστεί με την ευρεία οικολογική εξάπλωση και την ποικιλία οικοθέσεων όπου συναντάται το είδος (Prentice *et al.* 1995).

Όσο αφορά τους υποπληθυσμούς του *A. graeca*, βρίσκονται σε ισορροπία Hardy – Weinberg, και όπως φαίνεται και στο STRUCTURE (Εικ. 20 και 21), είναι γενετικά ομοιογενείς μεταξύ τους, αν και σύμφωνα με το δενδρόγραμμα Neighbor – Joining (Εικ. 18), ο υποπληθυσμός της Λευκάδας φαίνεται να είναι πιο απομακρυσμένος από τους υπόλοιπους, αφού πρόκειται για νησί και έτσι έχει μεγαλύτερο βαθμό γεωγραφικής απομόνωσης από τους άλλους υποπληθυσμούς που βρίσκονται στην Ηπειρωτική Ελλάδα.

Η κύρια αιτία για την γενετική ομοιογένεια των υποπληθυσμών *A. graeca*, είναι η έλλειψη γεωγραφικών φραγμών μεταξύ τους, αφού όλοι βρίσκονται στην Ηπειρωτική Ελλάδα (εκτός της Λευκάδας). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ύπαρξη γονιδιακής ροής

μεταξύ των υποπληθυσμών, την διατήρηση της γενετικής τους ποικιλομορφίας (**Huang et al. 2005**), και την ύπαρξη γενετικής ομοιογένειας μεταξύ τους.

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι τα αποτελέσματα της ανάλυσης των μικροδορυφορικών δεικτών βρίσκονται σε πλήρη συμφωνία με τα αντίστοιχα που προέκυψαν από την ανάλυση του μιτοχονδριακού πολυμορφισμού, δηλαδή με τον διαχωρισμό των ειδών όπως αυτός προέκυψε από την ανάλυση του κυτοχρώματος b και της περιοχής D-Loop του μιτοχονδριακού DNA.

8. ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΗΣ ΠΕΡΔΙΚΑΣ ΤΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

Όπως αναφέρθηκε και πριν, τα τελευταία 30 χρόνια έχει παρατηρηθεί μία μείωση στους φυσικούς πληθυσμούς της πέρδικας, της τάξης του 30%. Αυτή η πτωτική πορεία πρέπει να σταματήσει, και ο μόνος που μπορεί να κάνει κάτι προς αυτή την κατεύθυνση, είναι αυτός που κυρίως ευθύνεται για όλη αυτή την πτώση, και δεν είναι άλλος από τον άνθρωπο. Βέβαια δεν μπορούν να αποκλειστούν και αβιοτικοί παράγοντες, π.χ. πλημμύρες.

Σήμερα η αναγκαιότητα διατήρησης των πληθυσμών του ενδημικού θηράματος ανάγκασε το κράτος, αλλά και διάφορους άλλους φορείς, να προχωρήσουν στην εκπόνηση επιστημονικών μέτρων διαχείρισης της άγριας πανίδας. Σ' αυτά τα μέτρα προστέθηκαν οι πολύ μεγάλες προσπάθειες σε μελέτες και υποβολή μέτρων διαχείρισης από τις κυνηγετικές οργανώσεις που φαίνεται καθαρά πλέον σήμερα πως σε μερικά τουλάχιστον είδη αποδίδουν αποτελέσματα. Αυτό κατορθώθηκε για τον Φασιανό στη Θεσσαλία (Καρδίτσα και Τρίκαλα), με το αγριογούρουνο και με τις νησιώτικες πέρδικες σε διάφορα νησιά της Ελλάδας.

Οι τακτικοί εμπλουτισμοί πληθυσμών, επιπρόσθετα, ωφέλησαν και συνεχίζουν να ωφελούν, αν και η έλλειψη γνώσης και οι αυθαίρετες επιλογές πολλές φορές εγκυμονούν κινδύνους για υβριδοποίηση των δύο ειδών πέρδικας. Σήμερα, οι δυνατότητες που δίνει η τεχνολογία του DNA με την ταυτοποίηση των ειδών και υποειδών πέρδικας που ζουν στη χώρα μας, μπορεί να υποδείξει σωστές απελευθερώσεις πουλιών, πιο εύκολα με τη νησιώτικη πέρδικα και πιο δύσκολα με την ορεινή πέρδικα.

8.1. ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΗΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΣΤΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΗΣ ΠΕΡΔΙΚΑΣ

Η γενετική ποικιλότητα είναι εξαιρετικά σημαντική για τη βραχυπρόθεσμη και μακροπρόθεσμη επιβίωση των οργανισμών, παρέχοντας τους τη δυνατότητα της προσαρμογής σε μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες. Πρέπει επομένως πριν από οποιαδήποτε διατύπωση πρότασης διαχειριστικών μέτρων που αφορούν τους φυσικούς πληθυσμούς ενός είδους, να λαμβάνονται υπόψη – πέρα από τις οικολογικές και βιολογικές απαιτήσεις του είδους – και οι γενετικές μελέτες για το συγκεκριμένο είδος.

Γι' αυτό η Δ' ΚΟΣΕ χρηματοδότησε ερευνητικό έργο με τίτλο "ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΠΕΡΔΙΚΑΣ". Με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την ανάλυση δύο περιοχών (βρόχος εκτόπισης και D-loop) του μιτοχονδριακού DNA, καθώς και την ανάλυση αρκετών μικροδορυφορικών δεικτών, τα κυριότερα συμπεράσματα είναι τα εξής:

- Στο σύνολο της δειγματοληψίας (342 άτομα) τα 188 ανήκουν στην *A. graeca*, τα 120 στην *A. chukar*, τα 25 δεν αναλύθηκαν, τα 6 στην *A. c. kleini*, τα 2 ανήκουν στην *A. rufa*, ενώ ένα υποτιθέμενο δείγμα *A. rufa* είχε απλότυπο χαρακτηριστικό για την *A. chukar*.
- Οι κατανομές που προσδιορίστηκαν με την ανάλυση του DNA, επιβεβαιώνουν την φυσική εξάπλωση των δύο ειδών, αν και διαπιστώθηκαν ορισμένες εξαιρέσεις.
- Με τη χρήση κατάλληλων ενζύμων περιορισμού και μικροδορυφορικών τόπων μπορεί να γίνει: ι) αξιόπιστη ταυτοποίηση δειγμάτων στο επίπεδο είδους, π.χ. *A. graeca*, *A. chukar* και *A. rufa*, ή και υποείδους, π.χ. *A. c. kleini* ή *A. g. whitakeri*, ιι) ταυτοποίηση του θηλυκού γονέα του δείγματος, καθώς επίσης ιιι) αν το δείγμα ανήκει στο είδος *A. graeca* ή το *A. chukar* ή πρόκειται για υβρίδιο.
- Στο σύνολο της δειγματοληψίας, το 55,78% των δειγμάτων ανήκει στο είδος *A. graeca*, το 32,28% στο είδος *A. chukar*, και το υπόλοιπο 11,93% είναι υβρίδια. Το γεγονός ότι η πλειοψηφία των δειγμάτων ανήκει στο είδος *A. graeca*, οφείλεται

- Στο σύνολο των προερχόμενων από την ηπειρωτική Ελλάδα δειγμάτων το 78,21% ανήκει στο είδος *A. graeca* το 7,92% στο *A. chukar*, και το υπόλοιπο 13,86% είναι υβρίδια.
- Τα δείγματα από τη Σερβία και τη FYROM ανήκουν στο είδος *A. graeca*.
- Τα δύο δείγματα από την Ισπανία φάνηκε ότι ανήκουν στο είδος *A. rufa* και ένα άτομο προφανώς έχει προκύψει από υβριδισμό μεταξύ *A. rufa* και *A. chukar*. Τα δείγματα από την Κύπρο ανήκουν στο είδος *A. chukar* και παρουσιάζουν χαμηλή ποικιλομορφία.
- Δεν διαπιστώθηκε η ύπαρξη του υποείδους *A. g. whitakeri* και του είδους *A. rufa* στην Ελλάδα. Αξίζει όμως να αναφερθεί ότι ο **Barilani et al.** (2006) αναφέρουν την ύπαρξη του είδους *A. rufa* στη Β. Ελλάδα. Το γεγονός αυτό – αν επιβεβαιωθεί – μάλλον θα πρέπει να προβληματίσει το Υπουργείο Γεωργικής Ανάπτυξης και τους Κυνηγετικούς Συλλόγους. Ίσως όμως πάλι οι ερευνητές να θεώρησαν λανθασμένα κάποια δείγματα ότι ανήκουν στην *A. rufa*, ενώ στην πραγματικότητα ανήκαν στο υποείδος *A. chukar kleini*.
- Τα άτομα τα οποία προέρχονται από τη Θράκη ανήκουν αποκλειστικά στο υποείδος *A. chukar kleini*, το οποίο μπορεί να ταυτοποιηθεί με τη χρήση μιτοχονδριακών και συγκεκριμένων μικροδορυφορικών δεικτών. Το υποείδος αυτό είναι διαφορετικό γενετικά από το υποείδος *A. c. cypriotes*. Σε ότι αφορά τα δείγματα που μελετήθηκαν, δε διαπιστώθηκε η ύπαρξη υβριδίων μεταξύ του συγκεκριμένου υποείδους και της ορεινής πέρδικας παρά το γεγονός ότι τα όρια των περιοχών εξάπλωσης των δύο ειδών βρίσκονται σε σχετικά μικρή απόσταση. Βέβαια θα πρέπει να λάβουμε υπόψη μας ότι μελετήθηκαν λίγα δείγματα από τη συγκεκριμένη περιοχή.
- Διαπιστώθηκε η ύπαρξη μόνο ορεινής πέρδικας στην Αιτωλοακαρνανία, την Αχαΐα, τη Δράμα, την Ευρυτανία, τα Ιωάννινα, τη Λακωνία, τη Λευκάδα, τη Μαγνησία και τα Τρίκαλα.

- Διαπιστώθηκε η ύπαρξη μόνο νησιώτικης πέρδικας στα νησιά Αίγινα, Αμοργό, Άνδρο, Δήλο, Θήρα, Μακρόνησο, Νάξο, Σαλαμίνα, Σάμο, Σίφνο, Σκύρο και Τήνο, αλλά και την Κύπρο.
- Διαπιστώθηκε η ύπαρξη τόσο νησιώτικης πέρδικας όσο και ορεινής πέρδικας στην Αττική, τη Βοιωτία, την Εύβοια, τη Φθιώτιδα, τη Φωκίδα, και τη Χίο. Η παρουσία και των δύο ειδών πέρδικας στις προαναφερθείσες περιοχές σε συνδυασμό με το γεγονός ότι σε αυτές δεν υπάρχει γεωγραφική αλληλοεπικάλυψη της κατανομής τους οδηγεί στις ακόλουθες διαπιστώσεις:
 1. Η Στερεά Ελλάδα αποτελεί περιοχή εξάπλωσης της ορεινής πέρδικας, οπότε η παρουσία των ατόμων νησιώτικης πέρδικας σε κάποιους από αυτούς οφείλεται πιθανότατα σε συστηματικές απελευθερώσεις νησιωτικής πέρδικας και όχι σε μετακινήσεις από τη νησιωτική Ελλάδα, μιας και η πέρδικα είναι πουλί που προτιμά το περπάτημα από το πέταγμα.
 2. Στη Φθιώτιδα και τη Φωκίδα βρέθηκαν τόσο άτομα νησιωτικής πέρδικας όσο και υβρίδια. Η ύπαρξη τους σε περιοχές οι οποίες δεν αποτελούν το φυσικό χώρο εξάπλωσης της νησιωτικής πέρδικας οφείλεται πιθανότατα σε προσπάθειες εμπλουτισμού οι οποίες είχαν συμβεί κατά το παρελθόν. Ο μικρός αριθμός ατόμων νησιωτικής πέρδικας δηλώνει ότι τα απελευθερούμενα άτομα νησιωτικής πέρδικας έχουν μειωμένη βιωσιμότητα πιθανότατα τόσο εξαιτίας του γεγονότος ότι αποτελούν εύκολα θηράματα για κυνηγούς και αρπακτικά όσο και της πιθανής ελλιπούς προσαρμογής στο συγκεκριμένο βιότοπο.
 3. Η συχνότητα εμφάνισης της νησιωτικής πέρδικας στην Εύβοια ήταν μεγαλύτερη σε σχέση με τη Βοιωτία, ενώ στην Αττική τα άτομα της νησιωτικής πέρδικας συναντώνται περισσότερο συχνά σε σχέση με τα άτομα της ορεινής. Το γεγονός αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα ότι πιθανότατα στις περιοχές αυτές οι εμπλουτισμοί έγιναν με μεγαλύτερη συχνότητα ή ήταν πιο αποτελεσματικοί, γεγονός που οδήγησε στη μεγαλύτερη βιωσιμότητα των ατόμων της νησιωτικής πέρδικας και, κατ' επέκταση στη συχνότερη εμφάνιση τους.

4. Στη Χίο, η οποία αποτελεί φυσικό χώρο εξάπλωσης της νησιωτικής πέρδικας βρέθηκε ένα άτομο ορεινής. Με δεδομένο το γεγονός ότι οι πέρδικες είναι πουλιά που προτιμούν το περπάτημα από ότι το πέταγμα, η παρουσία ορεινής πέρδικας στη συγκεκριμένη περιοχή θα μπορούσε να εξηγηθεί μόνο με μεταφορά από την ηπειρωτική Ελλάδα.
 5. Με βάση τα δενδρογράμματα και το πρόγραμμα STRUCTURE (**Εικ. 20 και 21**) μεγαλύτερη γενετική ετερογένεια φαίνεται να έχουν οι πληθυσμοί της νησιωτικής πέρδικας. Το γεγονός αυτό έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την ανάλυση πολυμορφισμού του μιτοχονδριακού DNA. Γενικά φαίνεται ότι οι πληθυσμοί του είδους *A. chukar* παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα πολυμορφισμού σε σχέση με τους πληθυσμούς του είδους *A. graeca*. Ιδιαίτερα απομακρυσμένοι παρουσιάζονται οι πληθυσμοί της Σάμου και της Χίου, γεγονός που εξηγείται από τη γεωγραφική τους θέση, καθώς και ο πληθυσμός των Κυθήρων. Σε ότι αφορά τα Κύθηρα, η διάκριση του πληθυσμού οφείλεται στη γεωγραφική απομόνωση που υφίσταται ο πληθυσμός αλλά και στην ύπαρξη υβριδίων, που μπορεί με τη σειρά της να είναι αποτέλεσμα πιθανών παλαιότερων εμπλουτισμών.
 6. Σύμφωνα με το διάγραμμα AFC των γενοτύπων των μικροδορυφορικών τόπων υπάρχει σαφής διάκριση τόσο μεταξύ των ατόμων των ειδών *A. graeca* και *A. chukar* (ειδικά μετά την αφαίρεση των υβριδίων), όσο και μεταξύ των ατόμων των ειδών *A. c. cypriotes* και *A. c. kleini*.
- Διαπιστώθηκε η ύπαρξη υβριδίων στην Εύβοια, τα Κύθηρα, τη Βοιωτία, τη Φθιώτιδα, τη Φωκίδα, τη Χίο, την Καρδίτσα, Μαγνησία, τη Μήλο, την Πάρο και τον Πόρο. Τα υβρίδια αποτελούν το 11,93% του συνόλου των δειγμάτων.
 - Εξαιτίας των απελευθερώσεων νησιωτικής πέρδικας στην ηπειρωτική Ελλάδα η νησιώτικη πέρδικα αρχίζει να εξαπλώνεται στην ηπειρωτική Ελλάδα.
 - Το ότι βρέθηκαν άτομα νησιωτικής πέρδικας εκτός της φυσικής περιοχής εξάπλωσής τους και μέσα στα όρια εξάπλωσης της ορεινής πέρδικας υποδηλώνει ότι σε κάποιες περιοχές είχαν γίνει κατά το παρελθόν συστηματικοί εμπλουτισμοί, γεγονός που μπορεί μακροπρόθεσμα να επηρεάσει αρνητικά τους

φυσικούς πληθυσμούς της ορεινής πέρδικας. Μάλιστα, φαίνεται οι εμπλουτισμοί στην Εύβοια και την Αττική με νησιώτικη πέρδικα ήταν αποτελεσματικότεροι ή περισσότερο συστηματικοί σε σχέση με άλλες περιοχές της Ηπειρωτικής Ελλάδας.

- Τα πιθανά υβρίδια αποτελούν το 11,93% του συνόλου των δειγμάτων. Στο σύνολο των ατόμων *A. chukar* το 12,38% είναι πιθανά υβρίδια και στο σύνολο των *A. graeca* το 11,66%.
- Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης του μιτοχονδριακού DNA και λαμβάνοντας υπόψη ότι το μιτοχονδριακό DNA κληρονομείται από τη μητέρα στο 61,76% των υβριδίων ο θηλυκός γονέας ήταν η ορεινή πέρδικα.
- Μεταξύ των 34 πιθανών υβριδίων, το μεγαλύτερο ποσοστό προέρχεται από τα Κύθηρα (100,00%), την Εύβοια (26,67%), τη Φωκίδα (17,24%), την Πάρο (22,23%), τη Χίο (25,00%) και τη Φθιώτιδα (17,24%).
- Σε αρκετά νησιά (Μήλος, Πάρος) βρέθηκαν άτομα νησιωτικής πέρδικας που συνυπάρχουν με υβρίδια. Οι περιοχές αυτές δεν αποτελούν φυσικό χώρο εξάπλωσης της ορεινής πέρδικας, άρα η ύπαρξη υβριδίων οφείλεται είτε στην απελευθέρωση, σε περιορισμένη κλίμακα λίγων ατόμων ορεινής πέρδικας τα οποία αιχμαλωτίστηκαν στην ηπειρωτική Ελλάδα και στη συνέχεια μεταφέρθηκαν στα νησιά, είτε στην εν αγνοία απελευθέρωση υβριδίων που περιλαμβάνονταν μέσα στις μονάδες εκτροφής της νησιωτικής πέρδικας.
- Στα Κύθηρα βρέθηκαν μόνο υβρίδια. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο φαινόμενο της γεωγραφικής απομόνωσης, αλλά ίσως και στην απελευθέρωση ατόμων νησιωτικής πέρδικας στην περιοχή.
- Διαπιστώθηκε πολυμορφισμός στα δείγματα από την Τήνο, ο οποίος δεν εντοπίστηκε σε κανένα άλλο νησί των Κυκλάδων. Επίσης και ο πληθυσμός της Άνδρου φαίνεται να διαφέρει στο επίπεδο του μιτοχονδριακού DNA.

Η χρήση μεθόδων ανάλυσης του DNA επιτρέπει τη διάκριση τόσο της νησιώτικης από την ορεινή πέρδικα, των υποειδών της νησιώτικης πέρδικας της Κύπρου (*A. c. cypriotes*) και της Θράκης (*A. c. kleini*), αλλά και ορεινής πέρδικας (*A. graeca graeca*) από την Ευρωπαϊκή κοκκινοπέρδικα (*A. rufa*). Το γεγονός αυτό, πέρα από τη διάκριση

των υποειδών, την ιχνηλάτηση της εισαγωγής ξενικών ατόμων ενός υποείδους σε μία γεωγραφική περιοχή, δίνει και τη δυνατότητα ανίχνευσης και υβριδίων ανάμεσα στα υποείδη.

Κατά συνέπεια, ο προσδιορισμός της γενετικής σύστασης των περδίκων του Ελλαδικού χώρου, με την τεχνολογία του DNA, αποτελεί χρήσιμη ερευνητική δραστηριότητα, από τα αποτελέσματα της οποίας προέκυψαν πολύτιμα συμπεράσματα για τη γεωγραφική κατανομή των ειδών, τη γενετική τους σύσταση, τα αποθέματα πέρδικας στον Ελλαδικό χώρο και την εκτίμηση της κατάστασής τους. Τα στοιχεία αυτά είναι χρήσιμα προκειμένου να προταθούν διαχειριστικά μέτρα για τη διατήρηση και ίσως την αύξηση των φυσικών πληθυσμών των δύο ειδών.

8.2. ΠΡΟΫΠΟΘΕΣΕΙΣ ΓΙΑ ΠΕΤΥΧΗΜΕΝΟΥΣ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΟΥΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΠΕΡΔΙΚΑΣ

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων χρόνων η εισαγωγή εκτρεφόμενων ατόμων για την ενίσχυση της πανίδας διάφορων περιοχών αποτέλεσε μια από τις κύριες πρακτικές για τη διαχείριση των ειδών, οι πληθυσμοί των οποίων βρίσκονταν υπό πίεση. Στην Ελλάδα πολλοί Κυνηγετικοί σύλλογοι προέβησαν σε απελευθερώσεις κυρίως νησιώτικης πέρδικας. Τα άτομα που απελευθερώνονται, στη συντριπτική πλειοψηφία των περιπτώσεων, αναπαράγονται τεχνητά και εκτρέφονται σε Κρατικά ή Ιδιωτικά εκτροφεία **(Βλέπε Παράρτημα ΙΑ και ΙΒ).**

Η απελευθέρωση θηραμάτων για την ενίσχυση των πληθυσμών ενός είδους, σε μια περιοχή, θεωρείται αναγκαία όταν:

- Ο πληθυσμός ενός θηραματικού είδους έχει εξαφανιστεί ή μειωθεί σημαντικά από βιοτικούς (κυνήγι, ασθένειες) ή αβιοτικούς παράγοντες (ξηρασία, παγετός) και όχι από αλλαγή του βιοτόπου του (μονοκαλλιέργεια, αλλαγή της δομής και της σύνθεσης της βλάστησης).
- Ο πληθυσμός του θηραματικού είδους βρίσκεται σε οριακά επίπεδα με αποτέλεσμα τη μείωση της γενετικής του ποικιλομορφίας και την εμφάνιση προβλημάτων αιμομιξίας.

8.2.1. Η τεχνητή εκτροφή νησιώτικης πέρδικας και η απελευθέρωσή της

Η παραγωγή μεγάλου αριθμού ατόμων νησιώτικης πέρδικας κάτω από απόλυτα ελεγχόμενες συνθήκες εκτροφής, αντιπροσωπεύει επένδυση σε χρόνο, χρήμα και φυσικά ανθρώπινο μόχθο. Δηλαδή ένα από τα σημαντικότερα μέτρα διαχείρισης των θηραματικών πληθυσμών είναι η απελευθέρωση άριστης ποιότητας, υγείας και φυσικής κατάστασης ατόμων, όταν εξασφαλίζονται παράλληλα και άριστες συνθήκες διαβίωσης στον τόπο απελευθέρωσης.

Τα θηράματα που παράγονται με τον τρόπο αυτό προορίζονται για δύο χρήσεις:

- Για απελευθέρωση σε κατάλληλα επιλεγμένους βιότοπους, έτσι ώστε να προσαρμοστούν και να γίνουν ικανά να ικανοποιούν τις βιολογικές ανάγκες τους,

να αναπτυχθούν και να δώσουν απογόνους, εμπλουτίζοντας με τον τρόπο αυτό την περιοχή σε θηράματα.

- Για την άμεση θήρευσή τους σε ελεγχόμενες κυνηγετικές περιοχές και κάτω από συνθήκες που καθόλου δεν θυμίζουν το παραδοσιακό κυνήγι, αφού στα θηράματα δε δίνεται η δυνατότητα, ούτε τα χρονικά περιθώρια να εγκλιματιστούν και φυσικά σε καμιά περίπτωση αυτά δεν μπορούν να χαρακτηριστούν ως "άγρια".

Για να επιτευχθούν, λοιπόν, οι σκοποί της εκτροφής και των εμπλουτισμών, να διατηρηθεί η οικολογική ισορροπία, να αποφευχθούν δυσάρεστες καταστάσεις (π.χ. εκτόπιση άλλων ειδών) και να μη θεωρηθεί απλά σπατάλη χρημάτων, μια τόσο πολυδάπανη δραστηριότητα των Κυνηγετικών Συλλόγων, όπως είναι η αγορά και η απελευθέρωση θηραμάτων, χρειάζεται το πρωτόκολλο των εμπλουτισμών να πληροί ορισμένες προϋποθέσεις που παίζουν βασικό ρόλο για την εξασφάλιση της επιτυχίας **(Μανιός 2003)**: Θα πρέπει να γνωρίζουμε ότι ο χώρος, ο χρόνος και ο τρόπος απελευθέρωσης των θηραμάτων, καθώς επίσης η μορφολογία του βιοτόπου παίζουν σημαντικό ρόλο στο αν η προσπάθεια του εμπλουτισμού καταλήξει σε θετικά ή αρνητικά αποτελέσματα.

- Πριν από την εφαρμογή κάθε προγράμματος απελευθέρωσης θηραμάτων είναι απαραίτητο να είναι γνωστές οι **οικολογικές και βιολογικές απαιτήσεις του είδους** και να έχει εξεταστεί κατά πόσο οι συνθήκες του βιοτόπου τις καλύπτουν ή σε πιο βαθμό απαιτείται ή είναι δυνατή η βελτίωσή τους.
- **Εμπλουτισμοί.** Η πτώση στους πληθυσμούς της πέρδικας αναδεικνύει την ανάγκη για εμπλουτισμούς ώστε να ενδυναμωθούν οι πληθυσμοί του είδους, και να διατηρηθεί η γενετική του ποικιλομορφία. Από την άλλη, αν πρόκειται για περιοχές στις οποίες στο παρελθόν ζούσε το είδος, και στην παρούσα φάση έχει εκτοπιστεί, μιλούμε για *επαναεισαγωγή*. Δεν θα πρέπει να γίνονται εμπλουτισμοί ατόμων σε περιοχές που η εκτόπιση του είδους να μην ήταν συνέπεια της αλλαγής του βιοτόπου του, αλλά συνέπεια κάποιων βιοτικών (π.χ. άνθρωπος) ή αβιοτικών παραγόντων (π.χ. πλημμύρα). Βασική, κατά συνέπεια, προϋπόθεση για να πετύχει ο εμπλουτισμός είναι **η απελευθέρωση ειδών και υποειδών που**

αποδεδειγμένα ζούσαν στα όρια της συγκεκριμένης γεωγραφικής περιοχής. Στην αντίθετη περίπτωση αντιμετωπίζουμε σοβαρούς κινδύνους διατάραξης της οικολογικής ισορροπίας, που στην καλύτερη περίπτωση θα οδηγήσουν στην αποτυχία εισαγωγής και εγκατάστασης του είδους.

- **Βασική επίσης οικολογική αρχή είναι η μη απελευθέρωση ξένων προς το οικοσύστημα ειδών και υποειδών**, γιατί ενώ φαινομενικά και πρόσκαιρα ίσως υπάρξουν κάποια θετικά αποτελέσματα, μακροπρόθεσμα δεν μπορούν να εκτιμηθούν οι αρνητικές επιπτώσεις που μερικές φορές οδηγούν ακόμα και σε εξαφάνιση του ενδημικού είδους.
- **Ο χρόνος απελευθέρωσης παίζει καθοριστικό ρόλο για την επιτυχία του εμπλουτισμού**. Δεν θα πρέπει να συμπίπτει με την αναπαραγωγική περίοδο του είδους, αλλά να προηγείται ώστε τα ζώα να έχουν το χρόνο να προσαρμοστούν στο χώρο απελευθέρωσης, να δημιουργήσουν τα ζεύγη αναπαραγωγής και να κατασκευάσουν τη φωλιά τους.
- **Εγκλιματισμός ατόμων από εκτροφεία**. Τα ζώα που χρησιμοποιούνται για τους εμπλουτισμούς συνήθως προέρχονται από εκτροφεία. Ο **Frankham (2005)** αναφέρει ότι τα άτομα των εκτροφείων, κατά τη ζωή τους στο εκτροφείο αποκτούν τέτοια προσαρμοστικότητα, η οποία είναι επιβλαβής κατά την επανεισαγωγή τους στη φύση, και ακόμη ότι εμφανίζουν σημαντικά μειωμένα ποσοστά επιβίωσης σε σχέση με τα άγρια άτομα. Φαίνεται ότι διάφορες φυσιολογικές και ηθολογικές τροποποιήσεις παρουσιάζονται στα άτομα των εκτροφείων, οι οποίες δυσκολεύουν την εξοικείωση και την ενσωμάτωση των ατόμων στην φύση (**Gaudio et al. 2002**). Έχουν π.χ. αναφερθεί περιπτώσεις ατόμων από εκτροφεία *A. chukar* τα οποία είχαν μικρότερα εσωτερικά όργανα όπως το παχύ έντερο, σε σχέση με τα άγρια άτομα (**Paganin and Meneguz 1992**). **Απαιτείται σωστή διαδικασία προσαρμογής των θηραμάτων στο φυσικό περιβάλλον και σταδιακής εξοικείωσής τους με τις άγριες συνθήκες**. Για να αποφεύγονται τα προβλήματα εγκλιματισμού θα πρέπει στα εκτροφεία να διατηρούνται παρόμοιες κλιματολογικές συνθήκες με τον βιότοπο στον οποίο θα απελευθερωθούν τα άτομα. Η φυσική εκτροφή μπορεί να είναι μία λύση σε αυτό

το πρόβλημα, αφού επιτρέπει στα νεαρά άτομα να μάθουν να αντιμετωπίζουν τους άρπαγες και να ανατρέφουν τα μικρά τους.

- Τα απελευθερωμένα είδη δεν πρέπει να έχουν συνηθίσει στην παρουσία ανθρώπων και ζώων, έτσι ώστε να μην εμφανίζουν οικόσιτη συμπεριφορά και να πλησιάζουν όσο είναι δυνατό στη συμπεριφορά τους άγριους συγγενείς τους.
- Για να εγκλιματιστεί το θήραμα στην περιοχή απελευθέρωσης πρέπει να έχουν προηγηθεί εργασίες βελτίωσης βιοτόπου, που θα του εξασφαλίσουν τις βιολογικές απαιτήσεις του σε τροφή, νερό, κάλυψη και φώλεοποίηση.
- Τα απελευθερούμενα άτομα δεν θα πρέπει να παρουσιάζουν γενετική διαφοροποίηση από τα άτομα του ίδιου είδους που ζουν στην περιοχή απελευθέρωσης.
- Θα πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή ώστε να μην απελευθερώνονται είδη που είναι φορείς ασθενειών, οι οποίες μεταφέρονται και εξολοθρεύουν τους άγριους πληθυσμούς.
- Θα πρέπει να μην ελευθερώνονται σε περιοχές όπου υπάρχουν συγγενικά είδη που έχει αποδειχθεί ότι διασταυρώνονται και ότι οι απόγονοι τους είναι γόνιμοι, γιατί αν συνυπάρξουν στον ίδιο βιότοπο αυξάνουν τον κίνδυνο γενετικής ρύπανσης.

Σύμφωνα με αρκετές εγκυκλίους (υπαριθμό Φ 1400/226/7-4-1999, 89899/1714-12-4-2000 και 96231/1931/15-4-2004 με θέμα τον εμπλουτισμό περιοχών δια θηρεύσιμων ειδών) του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων επιτρέπεται η απελευθέρωση της νησιώτικης πέρδικας στη Θράκη (ανατολικά του Νέστου) και στα Νησιά του Αιγαίου και την Κρήτη. Από όσα όμως μνημονεύτηκαν παραπάνω στην περιοχή της Θράκης ενδημεί διαφορετικό υποείδος, το *A. c. kleini*, από τα νησιά του Αιγαίου και την Κρήτη, όπου ενδημεί η *A. c. cypriotes*. Το γεγονός αυτό δεν πάρθηκε υπόψη κατά τη σύνταξη των εγκυκλίων και της σχετικής Υπουργικής Απόφασης. Επιπλέον, η εκτροφή της νησιώτικης πέρδικας γίνεται (Βλέπε **Παράρτημα ΙΑ και ΙΒ**) σε περιοχές εξάπλωσης της ορεινής πέρδικας. Ούτε αυτό το γεγονός πάρθηκε υπόψη κατά τη σύνταξη των εγκυκλίων καθώς και η απελευθέρωση ατόμων *A. chukar* στις Ελεγχόμενες Κυνηγετικές Περιοχές (Ε.Κ.Π.) της Ηπειρωτικής Ελλάδας, όπου ενδημεί η

A. graeca. Ενδεικτικά αναφέρουμε ότι μόνο στην Ε.Κ.Π. Κόζιακα την τελευταία δεκαετία θηρεύτηκαν 61.889 νησιωτικές πέρδικες που απελευθερώθηκαν (βλέπε **Παράρτημα II**) .

Βασική οικολογική αρχή, όμως, για τη διατήρηση της οικολογικής ισορροπίας και την αποφυγή δυσάρεστων καταστάσεων είναι η μη απελευθέρωση ξένων προς το οικοσύστημα ειδών και υποειδών, γιατί ενώ φαινομενικά και πρόσκαιρα ίσως υπάρξουν κάποια θετικά αποτελέσματα, μακροπρόθεσμα όμως κανείς δεν μπορεί να εκτιμήσει τις αρνητικές επιδράσεις που μερικές φορές οδηγούν ακόμα και σε εξαφάνιση του τοπικού είδους. Από τη στιγμή που έχει αποδειχθεί ότι η ορεινή πέρδικα διασταυρώνεται με τη νησιώτικη, αλλά και βρέθηκαν με τις μεθόδους DNA υβρίδια στο φυσικό περιβάλλον, επιβάλλεται η απαγόρευση της απελευθέρωσης νησιώτικων περδίκων σε περιοχές εκτός της ζώνης εξάπλωσής τους.

Οπότε, τα προγράμματα επανεισαγωγής και ενδυνάμωσης των πληθυσμών της πέρδικας πρέπει να εξετάζονται με ιδιαίτερη προσοχή. Σε ότι αφορά τους εμπλουτισμούς, ισχύει η διατήρηση της απαγόρευσης των απελευθερώσεων της νησιωτικής πέρδικας σε περιοχές εξάπλωσης της ορεινής. Φρόνιμο είναι να εξεταστεί ακόμα και η εκτροφή της νησιώτικης πέρδικας σε χώρους εξάπλωσης της ορεινής καθώς και η απαγόρευση των απελευθερώσεων *A. chukar* στις Ε.Κ.Π. της Ηπειρωτικής Χώρας. Οι απελευθερώσεις νησιωτικής πέρδικας σε περιοχές που ενδημεί η νησιώτικη, εγκυμονεί πάλι τον κίνδυνο πιθανής γενετικής ρύπανσης, τουλάχιστον στην περιοχή της Θράκης, όπου αποδεδειγμένα ζει άλλο υποείδος. Ανάλογος είναι και ο κίνδυνος για τις νησιωτικές πέρδικες, διότι δεν είναι γνωστή η γενετική ταυτότητα των πουλιών που απελευθερώνονται, παρόλο που είναι το ίδιο είδος, φαινοτυπικά τουλάχιστον, με τις ενδημικές πέρδικες των νησιών του Αιγαίου. Πρέπει ιδιαίτερα να τονιστεί η διαφοροποίηση των τοπικών πληθυσμών της νησιώτικης πέρδικας, η οποία πρέπει να προβληματίσει όσον αφορά την τυχαία απελευθέρωση ατόμων νησιωτικής πέρδικας σε οποιαδήποτε τοποθεσία κατανομής του είδους.

Από εκεί και πέρα αποτελεσματικότερη μέθοδος είναι η σύλληψη και μεταφορά άγριων ατόμων από γειτονική περιοχή όπου το πληθυσμιακό μέγεθος της πέρδικας είναι μεγάλο. Είναι αναγκαία η αύξηση του μεγέθους των πληθυσμών για να αποφευχθεί ο κίνδυνος λόγω της γενετικής κατάρπτωσης και γενετικής παρέκκλισης. Μία προσπάθεια

προς αυτήν την κατεύθυνση είναι ο εμπλουτισμός με άτομα που εκτρέφονται στην περιοχή εξάπλωσης του υποείδους. Ωστόσο, ο νέος πληθυσμός που θα προέλθει από τον εμπλουτισμό μιας περιοχής με λίγα νέα άτομα (αρχή του ιδρυτή) θα παρουσιάζει μικρή γενετική ποικιλότητα. Μια πιθανή λύση θα ήταν η προσπάθεια διατήρησης ποικιλομορφίας στα εκτροφεία. Αυτό θα μπορούσε να επιτευχθεί με αποφυγή διασταυρώσεων μεταξύ συγγενικών ατόμων, καθώς και με ανταλλαγή ατόμων μεταξύ διαφορετικών εκτροφείων ή με τη χρησιμοποίηση αρκετών άγριων γεννητόρων.

8.3. ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ

Με βάση όσα αναφέρθηκαν προηγουμένως προτείνονται τα ακόλουθα μέτρα:

1. Η απελευθέρωση νησιώτικων περδίκων του υποείδους *A. c. cypriotes* από εκτροφεία να επιτρέπεται ελεγχόμενα και περιορισμένα και μόνο στις φυσικές ζώνες εξάπλωσής τους (νησιά του Αιγαίου, Κρήτη). Δεν πρέπει να επιτρέπεται η απελευθέρωση του υποείδους *A. c. cypriotes* έξω από τις φυσικές ζώνες εξάπλωσής του.
2. Να επιτρέπεται η απελευθέρωση μόνο του υποείδους *A. chukar kleini* στη περιφέρεια της Θράκης. Αντίστροφα, να απαγορεύεται η απελευθέρωση του υποείδους *A. c. cypriotes* στη Θράκη. Σύμφωνα με αρκετές εγκυκλίους (υπαριθμό Φ 1400/226/7-4-1999, 89899/1714-12-4-2000) του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων επιτρέπεται, κατά προτεραιότητα, η ικανοποίηση αιτημάτων εμπλουτισμού κυνηγετικών οργανώσεων της Θράκης και μετά από σχετική έγκριση της εποπτεύουσας Αρχής, το τελευταίο θα πρέπει να μεταβληθεί σύμφωνα με τα παραπάνω.
3. Αφού έχει αποδειχθεί ότι η ορεινή πέρδικα υβριδίζεται με τη νησιώτικη, επιβάλλεται η απαγόρευση της απελευθέρωσης ατόμων νησιώτικης πέρδικας (*Alectoris chukar*) στις φυσικές περιοχές εξάπλωσής της *Alectoris graeca* για την αποφυγή γενετικής ρύπανσης του δεύτερου είδους. Τυχόν απελευθέρωση της νησιώτικης πέρδικας σε χαμηλά υψόμετρα δεν εξασφαλίζει τη μη προσέγγιση

των δύο ειδών, αφού έχει βρεθεί ότι η ορεινή πέρδικα φωλεοποιεί σε υψόμετρο ακόμα και κάτω από 300 μέτρα έως και πολύ κοντά στην επιφάνεια της θάλασσας.

4. Θα πρέπει να μη χορηγούνται άδειες απελευθέρωσης πέρδικας *Alectoris chukar* στις ελεγχόμενες Κυνηγετικές Περιοχές της Ηπειρωτικής χώρας από τα κρατικά εκτροφεία, διότι και για αυτές τις περιοχές, άσχετα από το καθεστώς κυνηγίου και τον τρόπο απελευθέρωσης εγκυμονούν οι ίδιοι κίνδυνοι υβριδισμού με τις υπόλοιπες περιοχές της επικράτειας.
5. Δεν πρέπει να γίνεται απελευθέρωση άγνωστης προέλευσης «ορεινής ή νησιώτικης πέρδικας» - που προέρχεται από εκτροφεία ή εισάγονται από άλλες χώρες - χωρίς να συνοδεύονται από τα απαραίτητα πιστοποιητικά που αποδεικνύουν ότι πρόκειται πραγματικά για το υποείδος *Alectoris graeca graeca* ή το υποείδος *Alectoris chukar* και όχι για άλλα υποείδη του γένους ή υβρίδια.
6. Σε καμιά περίπτωση δεν πρέπει να γίνονται απελευθερώσεις με άτομα (οποιοδήποτε είδους του γένους *Alectoris*) που εισάγονται από άλλες χώρες χωρίς να προηγηθεί κτηνιατρικός έλεγχος και γενετική ταυτοποίησή τους.
7. Να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή στους μοναδικούς γενετικούς τύπους *Alectoris chukar* που βρέθηκαν στην Τήνο και στην Άνδρο.
8. Αντίστοιχα ιδιαίτερη προσοχή αξίζει ο πληθυσμός των Κυθήρων όπου όλα τα άτομα έχουν ιδιαίτερη γενετική σύσταση και φαίνονται να είναι υβρίδια.
9. Να περιγραφεί μηχανισμός χορήγησης πιστοποιητικών γενετικής ταυτοποίησης, π.χ. δείγματα εκτρεφόμενων θηραμάτων αποστέλλονται στις Κυνηγετικές Ομοσπονδίες με μέριμνα των ιδιωτικών εκτροφείων, στη συνέχεια αυτά θα αποστέλλονται από τις ομοσπονδίες σε εργαστήρια γενετικής ταυτοποίησης για έλεγχο και ταυτοποίηση. Τα εν λόγω εργαστήρια εφόσον έχουν εξουσιοδοτηθεί επίσημα από το κράτος για τη χορήγηση πιστοποιητικών θα εισπράττουν ένα μικρό ποσό, το οποίο θα επιβαρύνει τους εκτροφείς **(βλέπε Παράρτημα ΙΔ)**.
10. Η Δασική Υπηρεσία σε συνεργασία με το επιστημονικό προσωπικό των κυνηγετικών οργανώσεων να προβαίνει σε δειγματοληπτικό έλεγχο της καθαροαιμίας των αγορασθέντων ατόμων νησιώτικης ή ορεινής πέρδικας, που πρόκειται να απελευθερωθούν από ιδιωτικά ή κρατικά εκτροφεία. Για να γίνει

αυτό, αρκεί η λήψη σταγόνων αίματος σε ειδικό στυπόχαρτο από κάθε ζώο, η τοποθέτηση τους σε πλαστικές σακούλες και μεταφορά τους στη συντήρηση, ή η αφαίρεση 5-6 φτερών με πολφό από κάθε ζώο, η τοποθέτηση τους σε πλαστικές σακούλες και η μεταφορά τους σε καταψύκτη, ή, τέλος, η λήψη ιστού, η τοποθέτηση σε πλαστικούς σωλήνες που περιέχουν καθαρή αλκοόλη και μεταφορά τους στη συντήρηση **(Βλέπε Παράρτημα Δ)**.

11. Να διευκολυνθεί από τις αρμόδιες υπηρεσίες (Δασικές αρχές), η σύλληψη άγριων πτηνών με στόχο την ανανέωση των γεννητόρων των ιδιωτικών εκτροφείων, αλλά και την απελευθέρωση τους σε ενδεικνυόμενους βιότοπους από Κυνηγετικούς Συλλόγους (υπάρχει σχετική πρόβλεψη από το νόμο Κ.Υ.Α. 414985/18-12-1985 (ΦΕΚ 757) άρθρο 3, παράγραφος 1, εδάφιο γ), μηχανισμός που ως τώρα δεν έχει ενεργοποιηθεί.
12. Τα κρατικά εκτροφεία θα πρέπει να ανανεώνουν τους γεννήτορες τους και να παραχωρούνε πουλιά προς απελευθέρωση σύμφωνα με τις παραπάνω προδιαγραφές (μέγεθος δείγματος γεννητόρων).
13. Να δοθεί βαρύτητα από τους κρατικούς φορείς, αλλά και τις κυνηγετικές οργανώσεις στην εκτροφή της *Alectoris graeca*. Να χρηματοδοτηθούν σχετικά ερευνητικά προγράμματα σε συνεργασία Α.Ε.Ι., Ερευνητικών Ινστιτούτων και Ιδιωτικών εκτροφείων.
14. Να υπάρχει η δυνατότητα εισαγωγής από τις κυνηγετικές οργανώσεις ατόμων *Alectoris graeca* από το Μαυροβούνιο, τη Σερβία και τη FYROM, εφόσον ελεγχθούν γενετικά τα άτομα και τηρηθούν οι κανόνες κτηνιατρικής υγιεινής και ελέγχου.
15. Η θηρευτική περίοδος για τα δύο είδη θα πρέπει να αρχίζει μετά τη 15^η Σεπτεμβρίου, όταν έχει ολοκληρωθεί η σωματική αύξηση του μεγαλύτερου ποσοστού των νεαρών ατόμων.
16. Τυχόν εμπλουτισμοί κατάλληλων βιοτόπων ορεινής πέρδικας με άτομα προερχόμενα από εκτροφεία ορεινής πέρδικας ή κατάλληλων βιοτόπων νησιώτικης πέρδικας με άτομα προερχόμενα από εκτροφεία νησιώτικης πέρδικας, θα πρέπει να ενεργούνται εφόσον έχει προηγηθεί αποτελεσματικός πληθυσμιακός έλεγχος των θηρευτών των ειδών.

17. Θα πρέπει, επίσης, να μην ελευθερώνονται είδη σε περιοχές που υπάρχουν ανταγωνιστές τους, γιατί σε τέτοιες περιπτώσεις είναι αδύνατη η συμβίωση και θα καταλήξουμε στον εκτοπισμό και την εξαφάνιση του ενός από τα δύο.
18. Η **βελτίωση των ενδιαιτημάτων**. Από τα σπουδαιότερα μέτρα που θα μπορούσαν να ληφθούν για να επιτευχθεί η διατήρηση και πιθανόν η ενδυνάμωση των πληθυσμών των δύο ειδών πέρδικας είναι η βελτίωση των ενδιαιτημάτων (βιοτόπων) τους. Οι επεμβάσεις αυτές θα προσφέρουν στα πουλιά τα στοιχεία που χρειάζονται για την επιβίωση τους (τροφή, νερό και προστασία) και θα επαναφέρουν, στο μέτρο του δυνατού, το ενδιαίτημα στην κατάσταση που βρισκόταν παλαιότερα. Η μίσθωση εγκαταλειμμένων αγρών ή μικρής έκτασης διάκενων χωροταξικά κατανεμημένων για τη σπορά με μίγματα σπόρων ειδών, όπως: σιτάρι, κριθάρι, ψυχανθή και τριφύλλι, θα εξασφάλιζε σε μεγάλο βαθμό την παροχή θρεπτικής τροφής στους πληθυσμούς της πέρδικας. Επίσης, προτείνεται η άροση περιοχών στις οποίες αναπτύσσονται βολβοί των ειδών *Ranunculus psilostachys*, *Anemone sp.*, *Ornithogalum sp.* για την εύκολη πρόσληψη τους από την πέρδικα. Η τοποθέτηση, επίσης, απλών κατασκευών που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως ποτίστρες εκμεταλλευόμενοι τις πηγές καθώς και τα κατακρημνίσματα, θα βοηθούσε σημαντικά στην εξεύρεση νερού τη θερινή περίοδο, με την προϋπόθεση ότι αυτές θα είναι μόνιμα πληρωμένες με νερό. Το μέτρο αυτό ήδη εφαρμόζεται από αρκετές κυνηγετικές οργανώσεις.
19. Το **Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης** να χρηματοδοτήσει έρευνες με σκοπό τον προσδιορισμό των περιοριστικών παραγόντων που εκτόπισαν από τους βιοτόπους αυτούς την πέρδικα.
20. Η **υποστήριξη της βιολογικής καλλιέργειας** σε αρκετές περιοχές μάλλον θα συμβάλει στη βελτίωση της βιοποικιλότητας τους, και ταυτόχρονα θα τονώσει και τους πληθυσμούς της πέρδικας.
21. Ο **έλεγχος των αρπακτικών και των παρασίτων**. Μέτρο βασικό για τη διατήρηση ή την αύξηση των πληθυσμών του είδους είναι ο περιορισμός των επιπτώσεων από τους άρπαγες. Ο πληθυσμιακός έλεγχος των ικτίδων (κουναβιού και νυφίτσας) κυρίως στη χαμηλή ζώνη (500 – 1000 m) θα μπορούσε να αυξήσει την επιτυχία της αναπαραγωγής στη ζώνη αυτή με αντίστοιχη αύξηση της

κάρπωσης με τη θήρα. Παρόμοια προγράμματα ίσως θα μπορούσαν να εφαρμοστούν για τους πληθυσμούς της καρακάξας και της αλεπούς. Παρόμοια, η προσεγμένη χρήση ανθελμινθικών φαρμάκων (τα οποία θα τοποθετηθούν σε δολώματα) στα σαρκοφάγα θηλαστικά θα συμβάλει στη διακοπή του βιολογικού κύκλου παρασίτων που προσβάλλουν τις πέρδικες, όπως το κεστώδες *Mesoceatoides spp.*

22. **Ο έλεγχος της μεγάλης κυνηγετικής πίεσης.** Σε τοπικό επίπεδο πρέπει να λαμβάνονται αυστηρά μέτρα για την αποτελεσματική αντιμετώπιση της ανεξέλεγκτης κυνηγετικής πίεσης και της λαθροθηρίας. Απαιτείται η ενημέρωση των πολιτών και ιδιαίτερα των κυνηγών σχετικά με τα δύο είδη, ώστε να σταματήσει να υφίσταται συρρίκνωση ο πληθυσμός τους λόγω λαθροθηρίας ή υπερκάρπωσης.
23. Στις περιοχές που έχει εντοπιστεί πληθυσμός υβριδίων ανάμεσα στη νησιώτικη και την ορεινή πέρδικα να επιτραπεί το κυνήγι για δύο έτη με στόχο η κυνηγετική διαχείριση παράλληλα με άλλα μέτρα να επισπεύσει την εξυγίανση των επιδημητικών πληθυσμών, στους οποίους έχουν εντοπιστεί υβρίδια. Να ακολουθήσει έπειτα γενετικός έλεγχος των συγκεκριμένων περιοχών.
24. **Γενετική ποικιλότητα.** Εμπλουτισμοί γίνονται είτε λόγω σημαντικής μείωσης των πληθυσμών του είδους, είτε λόγω εκτόπισης του. Όποια και αν είναι η περίπτωση ένα σημείο που θα πρέπει να προσεχτεί ιδιαίτερα, είναι με την ενδυνάμωση του πληθυσμού από τους εμπλουτισμούς, να διατηρείται και η γενετική του ποικιλομορφία, αναγκαίο στοιχείο για την ομαλή επιβίωση του στο ενδιαίτημα. Είναι πολύ σημαντικό τα άτομα των εκτροφείων να διατηρούν ένα βαθμό γενετικής ποικιλότητας και αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την εναλλαγή των γεννητόρων του εκτροφείου. Αυτό μπορεί να γίνει με εισαγωγή άγριων ατόμων μέσα στα εκτροφεία και με την ανταλλαγή ατόμων από διαφορετικά εκτροφεία. Ακόμα η αιμομιξία μπορεί να αποφευχθεί, και να ενισχυθεί η γενετική ποικιλότητα, αν μέσω μικροδορυφορικής ανάλυσης, βρεθούν τα άτομα του εκτροφείου που είναι γενετικά πιο απομακρυσμένα από τα άλλα, και να χρησιμοποιηθούν αυτά ως γεννήτορες (Toro and Maki-Tanila 1999). Στην Κύπρο, αν και γίνονται δύο μαζικές ετήσιες απελευθερώσεις νησιωτικών

25. **Θέση εκτροφείων.** Οι **Huang *et al.* (2005)** μελέτησαν την επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων στη γενετική ποικιλότητα των πληθυσμών της νησιωτικής πέρδικας, και βρήκαν ότι σε βιότοπους μεγαλύτερου υψομέτρου, με ψηλότερη θερμοκρασία και βροχόπτωση, η ποικιλότητα είναι μεγαλύτερη. Επίσης η γενετική ποικιλομορφία είναι πιο μεγάλη σε σταθερά κλίματα. Αυτά τα δεδομένα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την επιλογή γεωγραφικής θέσης και κλίματος στην ίδρυση εκτροφείων.
26. **Ενδοειδικός υβριδισμός.** Ο ενδοειδικός υβριδισμός αναφέρεται στην περίπτωση υβριδισμού ατόμων του ίδιου είδους τα οποία είναι γενετικά απομακρυσμένα, και τα οποία συνήθως προέρχονται από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές και είναι προσαρμοσμένα για διαφορετικούς βιότοπους. Μπορεί να προκαλέσει απώλεια της προσαρμοστικότητας που έχουν αποκτήσει τα ντόπια άτομα για τον συγκεκριμένο βιότοπο, μια προσαρμοστικότητα η οποία αποκτήθηκε με το πέρασμα του χρόνου, και η οποία μπορεί να αποτελεί αναγκαία ασφαλιστική δικλείδα για την επιβίωση του είδους στον βιότοπο (**Allendorf *et al.* 2001**). Αυτό μπορεί να αποφευχθεί με την ενδυνάμωση να γίνεται με άτομα με μικρό βαθμό γενετικής διαφοροποίησης σε σχέση με αυτά του άγριου πληθυσμού. Στην παρούσα εργασία φάνηκε ότι οι γεωγραφικοί υποπληθυσμοί του *A. graeca* είναι γενετικά ομοιογενείς, οπότε αναμένεται η ενδυνάμωση ενός πληθυσμού με μεταφορά ατόμων από κάποιον πιο μακρινό υποπληθυσμό, να μην έχει τις δυσμενείς συνέπειες του ενδοειδικού υβριδισμού. Τα αντίθετα ισχύουν για το *A. chukar*, όπου φαίνεται καθαρά ότι οι γεωγραφικοί του υποπληθυσμοί παρουσιάζουν σημαντική γενετική διαφοροποίηση, και δεν θα πρέπει να γίνονται απελευθερώσεις ή μεταφορές ατόμων νησιωτικής πέρδικας από το ένα νησί στο άλλο, αν το επιθυμητό αποτέλεσμα είναι η διατήρηση της γενετικής ταυτότητας της νησιωτικής πέρδικας του κάθε νησιού. Το ίδιο θα ίσχυε και για τους γενετικά όμοιους υποπληθυσμούς της Εύβοιας και της Αττικής, όμως λόγω του γεγονότος ότι αυτές οι περιοχές αποτελούν φυσικές ζώνες εξάπλωσης για την ορεινή

πέρδικα, καλύτερα θα ήταν να μειωθούν οι πληθυσμοί της νησιωτικής πέρδικας σε αυτές τις περιοχές με την άσκηση κυνηγετικής πίεσης. Από όλα τα προαναφερθέντα φαίνεται ότι η πιο αποτελεσματική μέθοδος είναι η σύλληψη και μεταφορά αγρίων ατόμων από γειτονική περιοχή όπου το πληθυσμιακό μέγεθος είναι μεγάλο. Τα άτομα αυτά είναι ήδη εξοικειωμένα και εγκλιματισμένα με το ενδιαίτημα και το πιο πιθανό είναι να μην είναι σημαντικά γενετικά διαφοροποιημένα από τα άτομα του βιότοπου στον οποίο θα εισαχθούν. Έτσι μπορεί να περιοριστεί στο ελάχιστο ο επιβλαβής ενδοειδικός υβριδισμός.

8.4. «ΚΥΝΗΓΕΤΙΚΗ» ΣΥΝΕΙΔΗΣΗ

Οι κυνηγοί μας θα πρέπει να αντιληφθούν ότι αν συνεχιστεί η λαθροθηρία και η ανισοκατανομή της κυνηγετικής πίεσης στην πέρδικα, σε συνδυασμό και αθροιστικά με όλους τους άλλους περιοριστικούς παράγοντες που αναλύθηκαν στην παρούσα έρευνα, θα φτάσουμε στο σημείο να απαγορευτεί το κυνήγι αυτού του πτηνού, που καθιερώθηκε ως ένα από τα πιο παραδοσιακά θηράματα. Οι κυνηγοί θα πρέπει να σέβονται το θήραμα τους. Η πτωτική πορεία των πληθυσμών της πέρδικας δεν μπορεί να συνεχιστεί άλλο και η νεότερη γενιά των κυνηγών μπορεί να μην ζήσει το κυνήγι αυτού του πτηνού, που θεωρείται από τα δυσκολότερα και συναρπαστικότερα κυνήγια όχι μόνο στην Ελλάδα, αλλά και στην Ευρώπη.

Συνεπώς, οι ενέργειες όλων των εμπλεκόμενων φορέων και φυσικά και των Κυνηγετικών Συλλόγων και Ομοσπονδιών θα πρέπει να στοχεύουν στη σταθεροποίηση των άγριων πληθυσμών στα επίπεδα της ζωοχωρητικότητας των οικοσυστημάτων. Αν τηρηθούν τα παραπάνω διαχειριστικά μέτρα, η εκτροφή και η απελευθέρωση θηραμάτων θα αποτελέσει ένα σημαντικό διαχειριστικό μέτρο για τη διατήρηση και αύξηση των φυσικών πληθυσμών των περδίκων.

Συμπερασματικά, ο επιστημονικός σχεδιασμός δράσεων και ενεργειών που εύκολα μπορούν να υλοποιηθούν, θα μπορούσε να τονώσει τους φυσικούς πληθυσμούς της πέρδικας της χώρας μας και στους κυνηγούς της χώρας μας να προσδώσει τη δυνατότητα αειφόρου (βιώσιμης) εκμετάλλευσης των θηραμάτων.

9. ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ, ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

9.1. ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ

1. ΔΡΙΚΟΣ ΙΩΑΝΝΗΣ (2004). Γενετική ταυτοποίηση πέρδικας. Σελ. 91. ΑΠΘ
2. ΓΕΩΡΓΙΑΔΟΥ ΜΑΡΙΑ (2004). Γενετική ταυτοποίηση των Ελληνικών ειδών *Alectoris chukar* και *Alectoris graeca*, Σελ 59, ΑΠΘ.
3. ΚΑΡΑΤΖΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ (2005). Γενετική ταυτοποίηση των ελληνικών ειδών πέρδικας *Alectoris graeca* και *Alectoris chukar*. Σελ. 79. ΑΠΘ
4. ΛΑΠΠΑ ΜΑΡΙΑ (2005). Γενετική ταυτοποίηση ελληνικών ειδών πέρδικας με ανάλυση του βρόχου εκτόπισης του μιτοχονδριακού DNA. Σελ. 88, ΑΠΘ.
5. ΑΝΔΡΕΑΚΟΥ ΕΙΡΗΝΗ (2005). Γενετική ταυτοποίηση ελληνικών ειδών πέρδικας με ανάλυση του κυτοχρώματος b του μιτοχονδριακού DNA. Σελ. 98, ΑΠΘ.

9.2. ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΕΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ

1. ΤΗΛΑΒΕΡΙΔΟΥ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ (2003-2004). Γενετική ταυτοποίηση ειδών πέρδικας της Ελλάδας με τη χρήση μοριακών τεχνικών. Σελ. 143. ΑΠΘ.
2. ΑΛΕΞΑΝΔΡΗ ΠΑΝΩΡΑΙΑ (2004-2005). Γενετική ταυτοποίηση δύο ειδών πέρδικας με τη χρήση μικροδορυφορικών δεικτών. Σελ. 142. ΑΠΘ.
3. ΒΕΡΒΕΡΗΣ ΑΝΤΩΝΗΣ (2005-2006). Γενετική σύσταση δύο ειδών πέρδικας. Σελ. 126. ΑΠΘ.

9.3. ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

01. Τριανταφυλλίδης Α., Τηλαβερίδου Κ., Καρατζάς Δ., Γεωργιάδου Μ., Δρίκος Ι., Χατζηνίκος Ε., Μάνιος Ν., Παπαγεωργίου Ν. & Τριανταφυλλίδης Κ. (2004). Γενετική ταυτοποίηση της ελληνικής πέρδικας-Προκαταρκτικά αποτελέσματα. 26^ο Πανελλήνιο Συνέδριο ΕΕΒΕ, Μάιος 2004, Βόλος, σελ. 354-355.
02. Τριανταφυλλίδης Α., Αλεξανδρή Π., Ανδρεάκου Ε., Λάππα Μ., Χατζηνίκος Ε., Μάνιος Ν., Παπαγεωργίου Ν. & Τριανταφυλλίδης Κ. (2005). Γενετική ταυτοποίηση της ελληνικής πέρδικας- 27^ο Πανελλήνιο Συνέδριο ΕΕΒΕ, Μάιος 2005, Ναύπλιο, σελ. 390-391.

03. Triantafyllidis A., Karatzas D., Georgiadou M., Drikos I., Andreakou E., Lappa M., Hatzinikos E., Manios N., Papageorgiou N., Triantaphyllidis C. (2005). Genetic identification of Greek partridges *Alectoris graeca* and *Alectoris chukar*. IUGB Congress 2005, August 28th to 3rd 2005, Hannover, pp 188-190.
04. Triantafyllidis A., Alexandri P., Tilaveridou K., Hatzinikos E., Manios N., Papageorgiou N., Triantaphyllidis C. (2006). Genetic identification of Greek partridges with microsatellite loci. ICZEGAR Congress, June 26-30 2006, Patra, Greece, p 190.

10. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

10.1. ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Allendorf FW, Leary RF, Spruell P and Wenburg JK, 2001. The problems with hybrids: setting conservation guidelines. *Trends in Ecology & Evolution*, **16**: 613-622.
- Amos W, Sawcer SJ, Feakes RW and Rubinzstein DC, 1996. Microsatellites show directional bias and heterozygote instability. *Nature Genetics*, **13**: 390-391.
- Angers B and Bernatchez L, 1998. Combined use of SMM and non-SMM methods to infer fine structure and evolutionary history of closely related brook charr (*Salvelinus fontinalis*, Salmonidae) populations from microsatellites. *Molecular Biology and Evolution*, **15**: 143-159.
- Avise JC, 1994. Molecular markers, Natural History and Evolution. Chapman and Hall, New York.
- Avise JC and Aquadro CF, 1982. A comparative summary of genetic distances in the vertebrates. *Evolutionary Biology*, **15**: 151-158.
- Baker AJ and Marshall HD, 1997. Mitochondrial control region sequences as tools as for understanding the evolution of avian taxa. Avian molecular systematics and evolution. Academic press, pp 49-80.
- Balding DJ, Bishop M and Cannings C, eds, 2001. Handbook of Statistical Genetics. John Wiley & Sons, Chichester, UK.
- Barilani M, Sfougaris A, Giannakopoulos A, Mucci N, Tabarroni C and Randi E, 2006. Detecting introgressive hybridization in rock partridge populations (*Alectoris graeca*) in Greece through Bayesian admixture analyses of multilocus genotypes. *Conservation Genetics*, 10.1007/s10592-006-9174-1
- Barrati M, Alberti A, Groenen M, Veenendaal T and Fulgheri FD, 2001. Polymorphic microsatellites developed by cross-species amplifications in common pheasant breeds. *Animal Genetics*, **32**: 222-225.
- Baratti M, Ammannati M, Magnelli C and Dessi-Fulgheri F, 2005. Introgression of chukar genes into a reintroduced red-legged partridge (*Alectoris rufa*) population in central Italy. *Animal Genetics*, **36**: 29-35.
- Barbanera F, Negro JJ, Giuseppe GD, Bertoncini F, Capelli F and Dini D, 2005. Analysis of the genetic structure of red-legged partridge (*Alectoris rufa*, Galliformes) populations by means of mitochondrial DNA and RAPD markers: a study from central Italy. *Biological Conservation*, **122**: 275-287.
- Belkhir K, 1999. GENETIX, Version 4.0. Laboratoire Genome, Populations, Interactions, CNRS, Montpellier France.
- Benzeeri JP, 1973. L'analyse des donnees. Tome e. L'analyse des correspondences. Dunoud. Paris. France.
- Bernard-Laurent A, 1984. Hybridation naturelie entre Perdrix bartavelle (*Alectoris graeca saxatilis*) et Perdrix rouge (*Alectoris rufa rufa*) dans les Alpes- aritimes. *Gibier Faune Sauvage*, **2**: 79-96.
- Bernard-Laurent A and De Franceschi PF, 1994. Statut, evolution et facteurs limitant les populations de perdrix bartavelle (*Alectoris graeca*): synthese bibliographique. *Gigier Faune Sauvage*, **11**: 63-79.
- Birky CW, Maruyama T and Fuerst P, 1983. An approach to population and evolutionary genetic theory for genes in mitochondria and chloroplasts and some results. *Genetics*, **103**: 513-527.
- Boecklen WJ and Howard DJ, 1997. Genetic analysis of hybrid zones: numbers of markers and power of resolution. *Ecology*, **78**: 2611-2616.
- Bonferroni CE, 1935. Il calcolo delle assicurazioni su gruppi di teste. In Studi in Onore del Professore Salvatore Ortu Carboni. Rome: Italy, pp.13-60.
- Brown WM, Prager EM, Wang A and Wilson AC, 1982. Mitochondrial DNA sequences of primates: Tempo and mode of evolution. *Journal of Molecular Evolution*, **18**: 225-239.
- Burt DW and Cheng HH, 1998. Chicken gene maps. *ILAR Journal*, **39**: 229-236.
- Camp S and Simmons KEL (EDs.), 1980. Handbook of the birds of Europe, the Middle East and North Africa. Vol. 2, The birds of the western Palaearctic. Oxford Univ. Press, Oxford.
- Cheng HH, Levin I, Vallejo RL, Khatib H, Dodgson JB and Crittenden LB, 1995. Development of a genetic map of the chicken with markers of high utility. *Poultry Science*, **74**: 1855-1874.
- Christensen CG, 1996. chukar: *Alectoris chukar*. In A. Poole and F. Gill, eds., The Birds of North America No 258. The Academy of Natural Sciences of Philadelphia, Philadelphia, PA.

Cornuet JM, Luikart G, Estoup A and Solignac M, 1999. New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics*, **153**: 1989-2000.

Crooijmans RPMA, van der Kampen AJA, van der Poel JJ and Groenen MAM, 1994. New microsatellite markers on the linkage map of the chicken genome. *Journal of Heredity*, **85**: 410-413.

Crooijmans RPMA, van Oers PAM, Strijk JA and Groenen MAM, 1996. Preliminary linkage map of the chicken (*Gallus domesticus*) genome based on microsatellite markers: 77 new markers mapped. *Poultry Science*, **75**: 746-754.

Crooijmans RPMA, Dijkhof RJM, van der Poel JJ and Groenen MAM, 1997. New microsatellite markers in chicken optimized for automated fluorescent genotyping. *Animal Genetics*, **28**: 427-437.

Del Hoyo AE and Sargatal J, eds., 1994. Handbook of the birds of the world, vol. 2: New world vultures to guinea fowl. Lynx Editors, Barcelona. pp: 485-486.

Desjardins P and Morais R, 1990. Sequence and gene organization of the chicken mitochondrial genome. A novel gene order in higher vertebrates. *Journal of Molecular Biology*, **212**, 599-634.

De Woody JA and Avise JC, 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *Journal of Fish Biology*, **56**: 461-473

Dragoev V, 1974. On the population of the rock partridge (*Alectoris graeca* Meisner) in Bulgaria and methods of census. *Acta Ornithologica*, **14**: 251-255.

Edwards SV, Arctander P and Wilson AC, 1991. Mitochondrial resolution of a deep branch in the genealogical tree for perching birds. *Proceedings of Royal Society of London B*, **243**: 99-107.

Felsenstein J, 1995. PHYLIP (Phylogeny inference package) version 3.75c. Department of Genetics, SK-50, University of Washington, Seattle.

Frankham R, 2005. Stress and adaptation in conservation genetics. *Journal of Evolutionary Biology*, **18**: 750-755.

Garcia CB and Arruga MA, 2006. Comparative genetic analysis between red-legged partridges (*Alectoris rufa*) and chukar partridges (*A. chukar*): identification of single-nucleotide polymorphisms. *Animal Research*, **55**: 335-342.

Gaudioso VR, Alonso ME, Robles R, Garrido JA and Olmedo DA, 2002. Effects of housing and breeding system on the reproductive capacity of the red-legged partridge (*Alectoris rufa*). *Poultry Science*, **81**: 169-172.

Gibbs M, Dawson D, McCamley C, Wardle AF, Armour JAL and Burke T, 1997. Chicken microsatellite markers isolated from libraries enriched for simple tandem repeats. *Animal Genetics*, **28**: 401-417.

Gonzalez EG, Castilla AM and Zardoya R, 2005. Novel polymorphic microsatellites for the red-legged partridge (*Alectoris rufa*) and cross-species amplification in *Alectoris graeca*. *Molecular Ecology Notes* **5**: 449-459.

Grewe PM, Krueger CC, Aquadro CF, Bermingham E, Kincaid HL and May B, 1993. Mitochondrial DNA variation among lake trout, *Salvelinus namaycush*, strains stocked into Lake Ontario. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, **50**: 2397-2403.

Haldane JBS, 1922. Sex-ratio and unisexual sterility in hybrid animals. *Journal of Genetics*, **12**: 101-109.

Handrinos G and Akriotis T, 1997. The birds of Greece. Christofer Helm Ltd., A and C Black (PbIs). London.

Hanfling B, Bolton P, Harley M and Carvalho GR, 2005. A molecular approach to detect hybridization between crucian carp (*Carrassius carassius*) and non indigenous carp species. (*Carassius spp.* and *Cyprinus carpio*). *Freshwater biology*, **50**: 403-317.

Harr B, Zangerl B and Schlottter C, 2000. Removal of microsatellite interruptions by DNA replication slippage: phylogenetic evidence from *Drosophila*. *Molecular Biology and Evolution*, **17**: 1001-1009.

Hillis DM, Moritz C and Mable BK, 1996. Molecular Systematics. Sinauer Associates: Sutherland.

Huang Z, Liu N, Zhiou T and Ju B, 2005. Effects of environmental factors on the population genetic structure in chukar partridge (*Alectoris chukar*). *Journal of Arid Environments*, **62**: 427-434.

Inoue-Murayama M, Kayang BB, Kimura K, Ide H, Nomura A, Takahashi H, Nagamine Y, Takeda T and Hanada H, 2001. Chicken microsatellite primers are not efficient markers for Japanese quail. *Animal Genetics*, **32**: 7-11.

Johnsgard PA, 1988. The quails, partridges, and francolins of the world. Oxford Univ. Press, Oxford.

Kessler GL and Avise CJ, 1985. A comparative description of mitochondrial DNA. Differentiation in selected Avian and other Vertebrate genera. *Molecular Biology and Evolution*, **2**: 109-125

Khatib H, Genislav E, Grittenden LB et al., 1993. Sequence-tagged microsatellite sites as markers in chicken reference and resource populations. *Animal Genetics*, **24**: 355-362.

Kornegay JR, Kocher TD, Williams LA and Wilson AC, 1993. Pathways of lysozyme evolution inferred from the sequences of cytochrome b in birds. *Journal of Molecular Evolution*, **37**: 367-379.

Kvist L, 2000. Phylogeny and phylogeography of European parids. Oulou Univ. Library.

Levin I, Cheng HH and Baxter-Jones C, 1995. Turkey microsatellite DNA loci amplified by chicken-specific primers. *Animal Genetics*, **26**: 107-110.

Liu Z, Crooijmans RPMA and van der Poel JJ, 1996. Use of chicken microsatellite markers in turkey: a pessimistic view. *Animal Genetics*, **27**: 191-193.

Lucchini V and Randi E, 1998. Mitochondrial DNA sequence variation and phylogeographical structure of rock partridge (*Alectoris graeca*) populations. *Heredity*, **81**: 528-36

Maniatis T, Fritsch EF and Sambrook J, 1982. Molecular cloning. A laboratory manual. Cold Spring Harbor laboratory, New York.

Markert JA, Danley PD and Arnegard ME, 2001. New markers for new species: microsatellite loci and the East African cichlids. *Trends in Ecology and Evolution*, **16**: 100-107.

McElroy D, Moran P, Birmingham E and Kornfield J, 1991. The restriction enzyme analysis package, version 4.0. University of Maine, Orono, Maine.

McKelvey MS and Schwartz MK, 2005. DROP-OUT: a program to identify problem loci and samples for noninvasive genetics samples in a capture-mark-recapture framework. *Molecular Ecology Notes*, **5**: 716-718.

McKittrick M and Zink RM, 1988. Species concepts in ornithology. *Condor*, **90**: 1-14.

Meriggi A and Mazzoni Della Stella, 2003. Dynamics of a reintroduced population of red-legged partridges, *A. rufa*, in central Italy. *Wildlife Biology*, **9**: 67-75.

McKittrick M and Zink RM, 1988. Species concepts in ornithology. *Condor*, **90**, 1-14.

Morris J, 1993. Three things you always wanted to understand about paternity testing, www.Ibgenetics.com (Long Beach Laboratories).

Moritz C, Dowling TE and Brown WM, 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population Biology and Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**: 269-292.

National Geographic Society, 1999. Field guide to North American birds, 3rd ed. National Geographic Society, Washington, D.C.

Nei M, 1972. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, **106**: 283-292.

Nei M, Maruyama T and Chakraborty R, 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, **29**: 1-10.

Nei M, 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, **89**: 583-590.

Nei M and Miller JC, 1990. A simple method for estimating average number of nucleotide substitutions within and between populations from restriction data. *Genetics*, **125**: 873-879.

Nei M and Tajima F, 1981. DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. *Genetics*, **97**: 145-163.

Paganin M and Meneguez PG, 1992. Gut length of wild and reared Rock Partridges (*Alectoris graeca*): its role in release success. *Gibier Faune Sausage*, **9**: 709-715.

Pang SWY, Ritland C, Carlson JE and Cheng KM, 1999. Japanese quail microsatellite loci amplified with chicken-specific primers. *Animal Genetics*, **30**: 195-199.

Papaevangelou E, 1979. General situation of the partridge species in Greece. In: Partridges of the *Alectoris* Genus. International council for game and wildlife conservation, pp: 71-74.

Paralikidis N, Karakousis Y, Papageorgiou N and Triantaphyllidis C, 1997. Genetic variation in wild and game – farm populations of the black-necked pheasant *Phasianus colchicus colchicus*. *Folia Zoologica*, **46**: 143-149.

Park SDE, 2001. Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetic Effects of Selection [Ph.D. thesis] University of Dublin.

Peppas G, 2003. www.gpeppas.gr

Petrov P, Dragoev P and Georgiev ZH, 1969. On the subspecies appurtenance of the Rock partridge (*Alectoris graeca*) in the Eastern Rhodope. Gorkostopanska NBauka . *Forest Science*, **6**: 91-106.

Prentice HC, Lonn M, Lefkovitch LP and Runyeon H, 1995. Associations between allele frequencies in *Festuca ovina* and habitat variation in the alvar grasslands on the Baltic island of Oland. *Journal of Ecology*, **83**: 391-402.

- Primmer CR, Moller AP and Ellegren H, 1996.** A wide-range survey of cross species microsatellite amplification in birds. *Molecular Ecology*, **5**: 365-378.
- Primmer CR, Raudsepp T, Chowdhary BP, Moller AP and Ellegren H, 1997.** Low frequency of microsatellites in avian genome. *Genome Research*, **7**: 471-481.
- Primmer CR, Painter JN, Koskinen MT, Palo JU and Merila J, 2005.** Factors affecting avian cross-species microsatellite amplification. *Journal of Avian Biology*, **36**: 348-360.
- Priolo A, 1984.** Variabilita in *Alectoris graeca* e descrizione di *A. graeca orlandoi* subsp. nova degli Appennini. *Rivista Italiana Di Ornitologia*, **54**, 45-76.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly PJ (2000).** Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, **155**: 945-959.
- Quinn TW and Wilson AC, 1993.** Sequence evolution in and around the mitochondrial control region in birds. *Journal of Molecular Evolution*, **37**: 417-425.
- Randi E, 1996.** A mitochondrial cytochrome b phylogeny of the *Alectoris* partridges. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **6**: 214-227.
- Randi E and Lucchini V, 1998.** Organization and evolution of the mitochondrial DNA control region in the avian genus *Alectoris*. *Journal of Molecular Evolution*, **47**: 449-462.
- Randi E and Bernard-Laurent A, 1999.** Population genetics of a hybrid zone between the red-legged partridge and rock partridge. *Auk*, **116**: 324-337.
- Randi E, Merrigi A, Lorenzini R, Fusco G and Alko PU, 1992.** Biochemical analysis of relationships of Mediterranean *Alectoris* partridges. *Auk*, **102**, 358-367.
- Randi E, Tabarroni C, Rimondi S, Lucchini V and Sfougaris A, 2003.** Phylogeography of the rock partridge (*Alectoris graeca*). *Molecular Ecology*, **12**: 2201-2214.
- Rannalla B and Mountain JL, 1997.** Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proceedings of National Academy of Science USA*, **94**: 9197-9221.
- Raymond M and Rousset F, 1995.** GENEPOP (Version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, **86**: 248-249.
- Reinartz GE, Karron JD, Philips RB and Weber JL, 2000.** Patterns of microsatellite polymorphism in the range restricted bonobo (*Pan paniscus*): considerations for interspecific comparison with chimpanzees (*P. troglodytes*). *Molecular Ecology*, **9**: 315-328.
- Rice WR and Hostert EE, 1993.** Laboratory experiments on speciation: What have we learned in 40 years? *Evolution*, **47**: 1637-1653.
- Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB and Ehrlich HA, 1988.** Primer - directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, **239**: 487-491.
- Saitou N and Nei M, 1987.** The neighbor - joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, **4**: 406-425.
- Toro M and Maki-Tanila A, 1999.** Establishing a conservation scheme. In: Oldenbroek JK (ed) Genebanks and the conservation of farm animal genetics resources. DLO Institute for Animal Science and Health, Lelystad, The Nederland's, pp75-90.
- Tejedor MT, Monteagudo LV, Hadjisterkotis E and Arruga MV, 2005.** Genetic variability and population structure in Cypriot chukar partridges (*Alectoris chukar cypriotes*) as determined by microsatellite analysis. *European Journal of Wildlife Research*, **51**: 232-236.
- Tucker GM and Heath MF, 1994.** Birds in Europe: Their Conservation Status. Bird Life Conservation Series, 3. Bird Life International, Cambridge, UK.
- Vaha JP and Primmer C, 2006.** Efficiency of model-based Bayesian methods for detecting hybrid individuals under different hybridization scenarios and with different number of loci. *Molecular Ecology*, **15**: 63-72.
- Van Hooft WF, Hanotte O, Wenink PW, Groen AF, Sugimoto Y, Prins HHT and Teale A, 1999.** Applicability of bovine microsatellite marks for population genetic studies on African buffalo (*Syncerus coffer*). *Animal Genetics*, **30**: 214-220.
- Villanua D, Acevedo P, Escudero MA, Marco J and Gortazar C, 2005.** Factors affecting summer densities of the red-legged partridge (*Alectoris rufa*). XXVIIth Congress of the International Union of Game Biologist, Hannover, Germany, 28th August to 3rd September, pp 195-197.
- Wahlund S, 1928.** Zusammensetzung von populationen und korrelationsercheinungen vom standpunkt der vererbungslehre aus betrachtet. *Hereditas*, **11**: 65-106.
- Watson GE, 1962a.** Sympatry in Palaearctic *Alectoris* partridges. *Evolution*, **16**: 11-19.
- Watson GE, 1962b.** Three sibling species of *Alectoris* partridges. *Ibis*, **104**: 353-367.

- Wilkinson P, 1987.** Red-legged impostors. *British Trust Ornithology News*, **152**: 1–2.
- Wilkinson P, 1991.** Mystery photographs. *British Birds*, **84**: 264–265.
- Wolstenholme DR, 1992.** Animal mitochondrial DNA: Structure and evolution. In: Wolstenholme DR, Jeon KW (eds) International review of cytology, Vol 141. Mitochondrial genomes. Academic Press, San Diego, pp 173–216.
- Zouros E, Freeman KR, Ball AO and Pogson GH, 1992.** Direct evidence for extensive paternal mitochondrial DNA inheritance in the marine mussel *Mytilus*. *Nature*, **359**: 412–414.

10.2. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αλεξίου Β., Χατζηνίκος Ε., 2001.** Γενική ανάλυση των οικολογικών παραμέτρων που αφορούν τη διαχείριση της ορεινής πέρδικας στη Στερεά Ελλάδα. Διαχειριστική μελέτη.
- Αλμπάνης Κ., κ.α., 2000.** Κριτήρια και δείκτες αειφορικής διαχείρισης των δασών της Ελλάδας. Έκδοση του Υπουργείου Γεωργίας.
- Μανιός Ν., 2003.** Οικολογία της αναπαραγωγής της ορεινής πέρδικας στη Στερεά Ελλάδα. Διαχειριστικά μέτρα. Διδακτορική Διατριβή, Αθήνα.
- Παπαγεωργίου Κ.Ν., 1990.** ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΑΓΡΙΑΣ ΠΑΝΙΔΑΣ, University Studio Press. Θεσσαλονίκη, σελ.357
- Παπαγεωργίου Κ.Ν., 1995.** ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΑΓΡΙΑΣ ΠΑΝΙΔΑΣ, University Studio Press. Θεσσαλονίκη σελ. 49.
- Παπαγεωργίου Κ.Ν., 2002.** Μελέτη της βιολογίας και της δυναμικής του πληθυσμού της ορεινής πέρδικας (*Alectoris graeca graeca*) στην Ήπειρο. Ερευνητικό πρόγραμμα.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΚΑΙ ΕΚΤΡΟΦΕΙΑ ΘΗΡΑΜΑΤΩΝ

I.A. ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΕΣ ΚΥΝΗΓΕΤΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ*

1. Ε.Κ.Π. Kefalonia Game Farm (Ιδιωτική), Πελοπόννησος > Νομός Κεφαλονιάς
2. Ε.Κ.Π. Ασκύφου (Ιδιωτική)
Κρήτη και Δωδεκάνησα > Νομός Χανίων
Προγράμματα κυνηγίου της Ιδιωτικής Ελεγχόμενης Κυνηγετικής Περιοχής, στην περιοχή Ασκύφου Σφακιών Νομού Χανίων για το κυνηγετικό έτος 2005-2006.
3. Ε.Κ.Π. Αταλαντονήσι
Στερεά Ελλάδα και Κυκλάδες > Νομός Φθιώτιδας
4. Ε.Κ.Π. Βορείων Σποράδων
Θεσσαλία και Νήσοι Σποράδες > Νομός Μαγνησίας
5. Ε.Κ.Π. Νήσου Δία, Κρήτη και Δωδεκάνησα > Νομός Ηρακλείου
6. Ε.Κ.Π. Σαπιέντζα
Πελοπόννησος > Νομός Μεσσηνίας
Πρόγραμμα κυνηγίου της Ελεγχόμενης Κυνηγετικής Περιοχής της Νήσου Σαπιέντζας Μεθώνης για την κυνηγετική περίοδο 2004-2005.
7. Ε.Κ.Π. Κόζιακα
Θεσσαλία και Νήσοι Σποράδες > Νομός Τρικάλων
8. Ε.Κ.Π. Όσας
Θεσσαλία και Νήσοι Σποράδες > Νομός Λάρισας
9. Ε.Κ.Π. Παρνασσίδος
Στερεά Ελλάδα και Κυκλάδες > Νομός Φωκίδας
10. Ε.Κ.Π. Σερρών
Μακεδονία και Θράκη > Νομός Σερρών

** Εκφράζονται θερμές ευχαριστίες στον Γεώργιο Τριανταφυλλάκο για την παραχώρηση των στοιχείων για τις Ελεγχόμενες Κυνηγετικές Περιοχές, καθώς και τα εκτροφεία Θηραμάτων.*

I.B. ΕΚΤΡΟΦΕΙΑ ΘΗΡΑΜΑΤΩΝ

A.A.	Ονομασία	Δασική αρχή	Προβλεπόμενη Φασιανοί	παραγωγή Πέρδικες	2005 Ορτύκια
1	Σαραντάπηχου	Δασαρχείο Ξυλοκάστρου		8.000	
2	Ι.Μ. Αγώθωνος	Δασαρχείο Λαμίας	16.000	3.500	
3	Αμφίκλειας	Δασαρχείο Λαμίας	14.000	2.500	2.000
4	Καλουσίου	Δασαρχείο Πατρών	2.500	1.500	
5	Δαφνιώτισσας	Δασαρχείο Αμαλιάδας	8.000	8.000	
6	Κουρί	Δασαρχείο Κοζάνης	16.500	9.000	
7	Μπαλάνου	Δασαρχείο Μουζακίου	15.000	12.000	
8	Αγίου Νικολάου	Δασαρχείο Νάουσας	5.000	4.000	
9	Χρυσοπηγής	Δασαρχείο Σερρών	17.000	4.500	
10	Ταμτές	Δασαρχείο Γρεβενών	2.000	4.000	
11	Παράδεισος Αρμένων	Δασαρχείο Ρεθύμνης		25.000	
12	Χρυσούπολης	Δασαρχείο Καβάλας	4.500		
	ΣΥΝΟΛΟ		100.500	82.000	2.000

**Ι.Γ. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΛΕΓΧΟΜΕΝΗΣ ΚΥΝΗΓΕΤΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ
ΚΟΖΙΑΚΑ***

ΘΗΡΑΜΑΤΑ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΗΡΕΥΘΕΝΤΩΝ 2002	ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΗΡΕΥΘΕΝΤΩΝ 2003	ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΗΡΕΥΘΕΝΤΩΝ 2004	ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΗΡΕΥΘΕΝΤΩΝ 10ΕΤΙΑΣ
Φασιανοί	8.069	6.832	6.858	86.016
Πέρδικες (<i>A. chukar</i>)	4.168	3.226	3.401	61.889
Πέρδικες (<i>A. graeca</i>)	47	128	134	2.383
Περιστεροειδή	30	29	28	273
Μπεκάτσες	158	619	737	8.516
Μπεκατσίνια	8	1	-	20
Πάπιες	-	-	-	-
Λοιπά Υδρόβια	9	-	1	69
Τσίχλες	10	17	11	233
Ορτύκια	5	9	-	701
Αγριογούρουνα	-	-	4	19
Ζαρκάδια	18	15	1	165
Ελάφια Πλατύκερα	2	3	-	54
Ελάφια Ευγενή	3	5		16
Λαγοί	90	80	115	1.405
Αίγαγροι	2	28		49

ΕΙΔΙΚΕΣ ΑΔΕΙΕΣ Ε.Κ.Π.	2002	2003	2004
Κατοίκων Ε.Κ.Π.	396	365	271
Κατοίκων Ν. Τρικάλων	561	619	665
Κατοίκων εκτός Ν. Τρικάλων και κατοίκων Ε.Ε.	655	683	632
ΣΥΝΟΛΑ ΑΔΕΙΩΝ	1.612	1.677	1.568
ΣΥΝΟΛΟ ΑΔΕΙΩΝ 10 ΕΤΙΑΣ	18.297		

*Πηγή: <http://www.e-fox.gr>

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι.Δ.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ

Ως βιολογικό υλικό μπορεί να χρησιμοποιηθεί αίμα σε σωλήνες που περιέχουν κατάλληλο αντιπηκτικό ή μερικά φτερά, είτε διάφοροι άλλοι ιστοί (κυρίως συκώτι) από πολύ πρόσφατα σκοτωμένα πουλιά.

Συλλογή φτερών. Φοράμε γάντια στα χέρια μας. Αφαιρούμε από τη φτερούγα ή την ουρά κάθε πέρδικας 5-6 φτερά, ασκώντας πίεση με το ένα χέρι ώστε να βγει ολόκληρο κάθε φτερό, και κυρίως **ο πολφός**. Τα φτερά από κάθε ζώο τα βάζουμε σε πλαστικό σακουλάκι, το σφραγίζουμε καλά με μία πλαστική ταινία και το αποθηκεύουμε στην κατάψυξη του ψυγείου μας.

Συλλογή αίματος. Φοράμε γάντια στα χέρια μας. Η αιμοληψία γίνεται από εκπαιδευμένο προσωπικό χρησιμοποιώντας σύριγγα μίας χρήσης. Το αίμα τοποθετείται σε σωλήνες που περιέχουν ως αντιπηκτικό EDTA. Εναλλακτικά, γίνεται η λήψη σταγόνων αίματος σε ειδικό στυπόχαρτο από κάθε ζώο, η τοποθέτηση τους σε πλαστικές σακούλες και μεταφορά τους στη συντήρηση,

Συλλογή συκωτιού ή άλλου ιστού. Φοράμε γάντια στα χέρια μας. Από την Πέρδικα, με καθαρό μαχαίρι, κόβουμε ένα μικρό κομμάτι μυϊκού ιστού (π.χ. μέρος από το συκώτι ή ένα πόδι). Το κομμάτι του ιστού το βάζουμε σε ένα πλαστικό σακουλάκι, το σφραγίζουμε καλά με μία πλαστική ταινία και το αποθηκεύουμε στην κατάψυξη του ψυγείου μας. Εναλλακτικά, το κομμάτι του ιστού το εμβαπτίζουμε σε σωλήνα 10-15 ml που περιέχει καθαρή αιθανόλη (αλκοόλη)

Συμπληρώνουμε το έντυπο με τα Πληροφοριακά στοιχεία του δείγματος.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Ημερομηνία δειγματοληψίας.....
Νομός Θήρευσης.....
Ονομασία περιοχής Θήρευσης.....
Υψόμετρο.....
Ονοματεπώνυμο Κυνηγού.....
Τόπος κατοικίας.....
Τηλέφωνο..... Fax.....
E-mail.....

Το βιολογικό υλικό μαζί με το συμπληρωμένο έντυπο με τα Πληροφοριακά στοιχεία του δείγματος θα δοθούν στην αρμόδια Κυνηγετική Ομοσπονδία ή Δασαρχείο.