

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ

Μεταπτυχιακή Μελέτη

Παρούσα γνώση επί του προβλήματος του *Rhynchophorus ferrugineus*
στα φοινικοειδή της Αττικής και μελέτη της γενετικής
ποικιλομορφίας του εντόμου στην Ελλάδα



Επιβλέπων:
Νικόλαος Εμμανουήλ, Καθηγητής

Σωτηρία Μήλλα
Αθήνα 2012

Φωτογραφία Εξωφύλλου: Βάι Κρήτης – προσφορά Μ. Μουρτζάκη

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ
ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ**

Μεταπτυχιακή Μελέτη

**Παρούσα γνώση επί του προβλήματος του
Rhynchophorus ferrugineus στα φοινικοειδή της Αττικής
και μελέτη της γενετικής ποικιλομορφίας του εντόμου στην
Ελλάδα**



©2010 J. Gallego

Τριμελής Επιτροπή:

Επιβλέπων: Νικόλαος Εμμανουήλ, Καθηγητής

Μέλη: Γεώργιος Παπαδούλης, Καθηγητής

Ιωάννης Γιαννακού, Επίκουρος Καθηγητής

Σωτηρία Μήλλα

ΠΜΣ 2010-2011, Αθήνα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον επιβλέποντα καθηγητή μου Καθηγητή Νικόλαο Εμμανουήλ, ο οποίος με εμπιστεύθηκε και με στήριξε σε οποιαδήποτε δυσκολία εμφανίστηκε από την αρχή έως την ολοκλήρωση της παρούσας μελέτης, αλλά πάνω απ' όλα γιατί είχε τις γνώσεις και την ευγένεια να τις μεταδώσει, όπως απαιτεί ο τίτλος που δίκαια κατέχει. Στη συνέχεια εκφράζω τις θερμές μου ευχαριστίες στον Καθηγητή Γεώργιο Παπαδούλη και τον Επίκουρο Καθηγητή Ιωάννη Γιαννακού, μέλη της εξεταστικής μου επιτροπής, για την άριστη συνεργασία και φιλική αντιμετώπιση, καθώς και για την ανάγνωση και τη διόρθωση της εργασίας αυτής.

Επίσης, ευχαριστώ τη Δρ. Μαρία Μπουγά βιολόγο, Επιστημονικό Συνεργάτη του Εργαστηρίου Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας, όπου οι γνώσεις και οι υποδείξεις της ήταν άκρως απαραίτητες για την πραγματοποίηση του Β' ερευνητικού μέρους της συγκεκριμένης μελέτης. Ακόμα, ευχαριστώ την υποψήφια Διδάκτορα Βάσω Ευαγγέλου, η οποία πριν χρειαστώ οτιδήποτε στον εργαστηριακό χώρο είχε ήδη μεριμνήσει. Δεν μπορώ όμως να αφήσω απέξω τη Νεφέλη Χατζή-Αργυρουπούλου μέλος του Εργαστηρίου Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας και τον Επίκουρο Καθηγητή Διονύσιο Περδίκη, όπου με βοήθησαν στην αποστολή και παραλαβή των ερωτηματολογίων, που στάλθηκαν σε όλους τους Δήμους της Αττικής.

Επιπλέον, εκφράζω χίλια ευχαριστώ στους κυρίουσ/ες Γεωτεχνικούς και Υπαλλήλους άλλων ειδικοτήτων, που είχαν την καλοσύνη να δεχθούν με χαρά τη συμπλήρωση του ερωτηματολογίου, που τους έστειλα και να βοηθήσουν σ' αυτή την έρευνα μην έχοντας οι ίδιοι κάποιο όφελος. Ακόμα, ευχαριστώ τους Θωμά Κοντέα, Γεωπόνο, Γεώργιο Φουρφουριανάκη, Τεχν. Γεωπονίας, Αντώνιο Ασκιανάκη, Τεχν. Γεωπονίας, Εμμανουήλ Ροδιτάκη, Εντομολόγο, Σπύρο Χριστόγλου, Γεωπόνο και Σπύρο Αντωνάτο, Εντομολόγο για τη συλλογή και αποστολή δειγμάτων για τις ανάγκες της μεταπτυχιακής μου μελέτης. Ιδιαίτερα ευχαριστώ το Δημήτριο Κοντοδήμα, Εντομολόγο-Ερευνητή του Μ.Φ.Ι., που στα πλαίσια της πρακτικής μου άσκησης με δίδαξε πολλά για την αντιμετώπιση του εντόμου στην πράξη και με βοήθησε στη συλλογή εντόμων.

Με συγκίνηση εκφράζω ένα τεράστιο ευχαριστώ στη μητέρα μου, στο σύζυγό μου και στα δύο μου παιδιά, που ακούραστα έκαναν υπομονή βοηθώντας με να πραγματοποιήσω το όνειρό μου.

Θα ήταν όμως αδύνατον να επιχειρήσω την παρακολούθηση ενός μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών εάν ο Πρόεδρος του ΤΕΙ Ιονίων Νήσων, Καθηγητής Ναπολέον Μαραβέγιας, η Διοικούσα Επιτροπή και ο Προϊστάμενος του Τμήματος Τεχν. Βιολογικής Γεωργίας και Τροφίμων, Καθηγητής Ιωάννης Σαμαράς δεν υπέγραψαν με απίστευτη χαρά την εκπαιδευτική μου άδεια - ως υπαλλήλου στο τμήμα - ενθαρρύνοντάς με να προχωρήσω.

Τέλος, ευχαριστώ θερμά το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (**Ι.Κ.Υ.**) για την υποτροφία, που μου χορήγησε για την απόκτηση Α΄ Μεταπτυχιακού τίτλου σπουδών και για την άριστη συνεργασία.

Η λίστα των ευχαριστιών ήταν μεγάλη και θα ήταν ακόμα μεγαλύτερη αν ονομάτιζα όλους όσους μου συμπαραστάθηκαν και βοήθησαν με τον ένα ή τον άλλο τρόπο, λίγο ή πολύ, άμεσα ή έμμεσα. Αλλά έτσι δεν γίνεται πάντα; Μία εργασία έχει το όνομα κάποιου στην πρώτη σελίδα και γι' αυτήν έχουν δουλέψει πολλοί...

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το κόκκινο σκαθάρι των φοινικοειδών *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera, Curculionidae) είναι ο σοβαρότερος εχθρός των φοινικοειδών. Κατάγεται από τη Νότιο Ασία και έχει εξαπλωθεί σε όλες τις ηπείρους. Το 2005 αναφέρθηκε η παρουσία του και στη χώρα μας.

Το πρώτο μέρος της εργασίας αυτής αφορούσε τη συλλογή πληροφοριών, μέσω της σύνταξης ενός ερωτηματολογίου αποτελούμενου από 18 ερωτήσεις, με σκοπό την καταγραφή της παρούσας κατάστασης στο Νομό Αττικής μετά από 7 έτη παρουσίας του εχθρού, το οποίο στάλθηκε για συμπλήρωση στους υπεύθυνους πρασίνου – γεωτεχνικούς και των 66 Δήμων. Οι ερωτήσεις εστιάστηκαν κυρίως στην εξάπλωση του εντόμου, στις ζημιές που έχει προκαλέσει, στα μέτρα καταπολέμησης, που ελήφθησαν και στα προβλήματα που αντιμετώπισαν οι άνθρωποι, που ασχολήθηκαν με τον εχθρό αυτό στην πράξη.

Βάση των απαντήσεων που δόθηκαν συμπεραίνεται πως η έλλειψη αυστηρών μέτρων καραντίνας, η δυσκολία άμεσου εντοπισμού των προσβολών, η καθυστέρηση λήψης μέτρων αντιμετώπισης, η απουσία οργανωμένης δράσης καταπολέμησης από το σύνολο των δήμων, η έλλειψη οικονομικών πόρων, καθώς και η παρουσία του εχθρού στο αστικό περιβάλλον, τον κατέστησαν καταστροφικό. Επιπλέον, οι περιβαλλοντικές συνθήκες, παρουσία του κατάλληλου ξενιστή (*Phoenix canariensis*) φαίνεται ότι ήταν ιδανικές για την εγκατάσταση, πολλαπλασιασμό και εξάπλωση του εντόμου σε ολόκληρη την Αττική, εκτός από το Δήμο Σπετσών, όπου δεν έχει ακόμα καταγραφεί η παρουσία του πιθανόν γιατί δεν έχουν γίνει νέες εισαγωγές φοινίκων.

Το δεύτερο μέρος της παρούσας εργασίας αφορούσε τη μελέτη της γενετικής ποικιλομορφίας του εντόμου και του ιστορικού της εισβολής του στην Ελλάδα, χρησιμοποιώντας την τεχνική Προσδιορισμού Νουκλεοτιδικής Αλληλουχίας (Sequencing). Συγκεκριμένα, συλλέχθηκαν ενήλικα άτομα από 6 διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές της χώρας και απομονώθηκε ολικό DNA παίρνοντας ιστό από τη βάση των πτερυγών. Ακολούθησε Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης (PCR) με ζεύγος παγκόσμιων εκκινητών, που προσδιορίζουν γονιδιακό τμήμα του μιτοχονδριακού DNA (mtDNA), που ελέγχει τη σύνθεση της υπομονάδας I του συμπλόκου της κυτοχρωμικής οξειδάσης (COI)-BARCODE. Έγινε καθαρισμός των προϊόντων PCR και προσδιορισμός της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας αυτών, όπου μετά τη συστοίχιση τους προέκυψε τμήμα μήκους 585bp.

Μετά το πέρας της παραπάνω διαδικασίας δεν ανιχνεύτηκαν διαφορές όσον αφορά τη γενετική ποικιλομορφία του προς μελέτη πληθυσμού στην Ελλάδα και ενδεχομένως ο εχθρός αυτός εισήχθη από μία μόνο περιοχή ή πληθυσμοί του ίδιου απλότυπου από διαφορετικές περιοχές, υποδηλώνοντας τη δυνατότητα κοινής αντιμετώπισης. Σκόπιμη κρίνεται η δειγματοληψία ενηλίκων ατόμων και από άλλες περιοχές της χώρας, που δεν συμπεριλαμβάνονταν σ' αυτήν την εργασία, για τη συνέχιση της έρευνας.

SUMMARY

The red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera, Curculionidae) is the most serious pest of palm trees all over the world. It is native to South East Asia and has spread in all continents. The pest was first reported in Greece in 2005.

The first part of this research concerned data that were collected by a questionnaire aiming to record the present situation after 7 years of pest presence in the Prefecture of Attica. The questionnaire consisted of 18 queries and was sent for completion by agriculturists, responsible for green, in 66 municipalities of Attica. The questions were mainly focused on the spread of insect, the damage that has caused, the measures that were taken and the problems that those agriculturists faced with.

Based on the answers of questionnaires it is concluded that the lack of strict measures of quarantine, the difficulties in early pest detection, the delay of measures taken, the lack of coordination among the various services, the lack of finance, as well as the presence of pest in the urban environment resulted in the destructiveness of that insect. Moreover, the environmental conditions and the presence of the most suitable host *Phoenix canariensis* were possibly ideal for the installation, proliferation and spread of insect in the entire Attica, except the Spetses inland where possibly no new imports of palms have been.

The second part of the research was referred to the study of the genetic variability and the invasion history of insect in Greece by collecting adult individuals from 6 different geographic regions of country, using the sequencing method. Total DNA was extracted from the tissue of wing's base of adults. Fragment of cytochrome c oxidase subunit I (COI- BARCODE) gene of mitochondrial DNA (mtDNA) was amplified by universal primers. RCR products were purified and each one of the sequences was determined. After alignment a segment 585bp in length of COI mtDNA gene was produced.

Genetic variability was not detected in the above populations. It is possible that the pest was imported from only one source or populations of same haplotype came from different sources. It is necessary this research to continue with samplings from other regions of Greece.

Πίνακας περιεχομένων

ΜΕΡΟΣ Ι

Τα φοινικοειδή στον κόσμο και στην Ελλάδα

A.1. Εισαγωγή - Φοινικοειδή.....	3
A.1.1. Οικογένεια Arecaceae (<i>Μορφολογία, Εξάπλωση</i>).....	4
A.1.2. Εξέλιξη των φοινικοειδών	8
A.1.3. Σύγχρονες χρήσεις των φοινικοειδών	10
A.1.4. Παρουσία των φοινικοειδών στην Ελλάδα.....	11
A.1.5. Φοίνικες, συμβολισμοί και χρήση τους στην Ελλάδα	13
A.1.6. Εχθροί των φοινικοειδών	15

Rhynchophorus ferrugineus

Ο σοβαρότερος εχθρός των φοινικοειδών

A.2. Οι εισβολείς.....	19
A.2.1. Κόκκινο σκαθάρι των φοινικοειδών	20
A.2.1.1. Ιστορική διαδρομή - γεωγραφική εξάπλωση	20
A.2.1.2. Συστηματική κατάταξη	22
A.2.1.3. Ξενιστές.....	22
A.2.1.4. Μορφολογία του εντόμου	24
A.2.1.5. Βιολογία - Οικολογία του εντόμου.....	28
A.2.1.6. Συμπτώματα-ζημιές / Οικονομική σημασία	34
A.2.1.7. Γενετική ποικιλομορφία του εντόμου	38
A.2.1.8. Αντιμετώπιση	39

ΜΕΡΟΣ ΙΙ

Το κόκκινο σκαθάρι των φοινικοειδών ένας εχθρός – εισβολέας Καταγραφή της υφιστάμενης κατάστασης και της εξάπλωσής του στην Αττική

B.1. Εισαγωγή – Σκοπός	53
B.1.1. Υλικά και Μέθοδοι	54
B.1.2. Αποτελέσματα	59
B.1.3. Συμπεράσματα - Συζήτηση	68

Μιτοχονδριακή γενετική παραλλακτικότητα και Προέλευση του εντόμου *R. ferrugineus* στην Ελλάδα

B.2. Εισαγωγή – Σκοπός	77
B.2.1. Υλικά και Μέθοδοι	79
B.2.1.1. Δειγματοληψία ενηλίκων ατόμων του εντόμου	79
B.2.1.2. Απομόνωση ολικού DNA	81
B.2.1.3. Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης	84
B.2.1.4. Ηλεκτροφόρηση πήγματος αγαρόζης	87
B.2.1.5. Καθαρισμός προϊόντος PCR	89
B.2.1.6. Προσδιορισμός νουκλεοτιδικής αλληλουχίας	91
B.2.1.7. Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων	91
B.2.2. Αποτελέσματα	94
B.2.3. Συμπεράσματα	105
B.2.4. Συζήτηση	106

Βιβλιογραφία	108
---------------------------	------------

Παράρτημα	119
------------------------	------------