

# Mezzi di controllo degli insetti

Mezzi chimici

Mezzi fisici

Mezzi biologici

Mezzi biotecnici



# Mezzi di controllo biotecnologico

Impiego dei mezzi di comunicazione intra e interspecifica.

Feromoni sessuali (monitoraggio, confusione sessuale, disorientamento, auto confusione, cattura massale), aggreganti, di allarme

Tecniche molecolari in uso per la caratterizzazione ed identificazione di artropodi di interesse economico

**Antagonismo naturale tra insetti dannosi ed altri organismi (batteri, nematodi, virus, artropodi, piante) come fonte di molecole e geni ad azione regolatrice sulle popolazioni di insetti dannosi**

**Strategie di espressione di sostanze a potenziale azione insetticida**

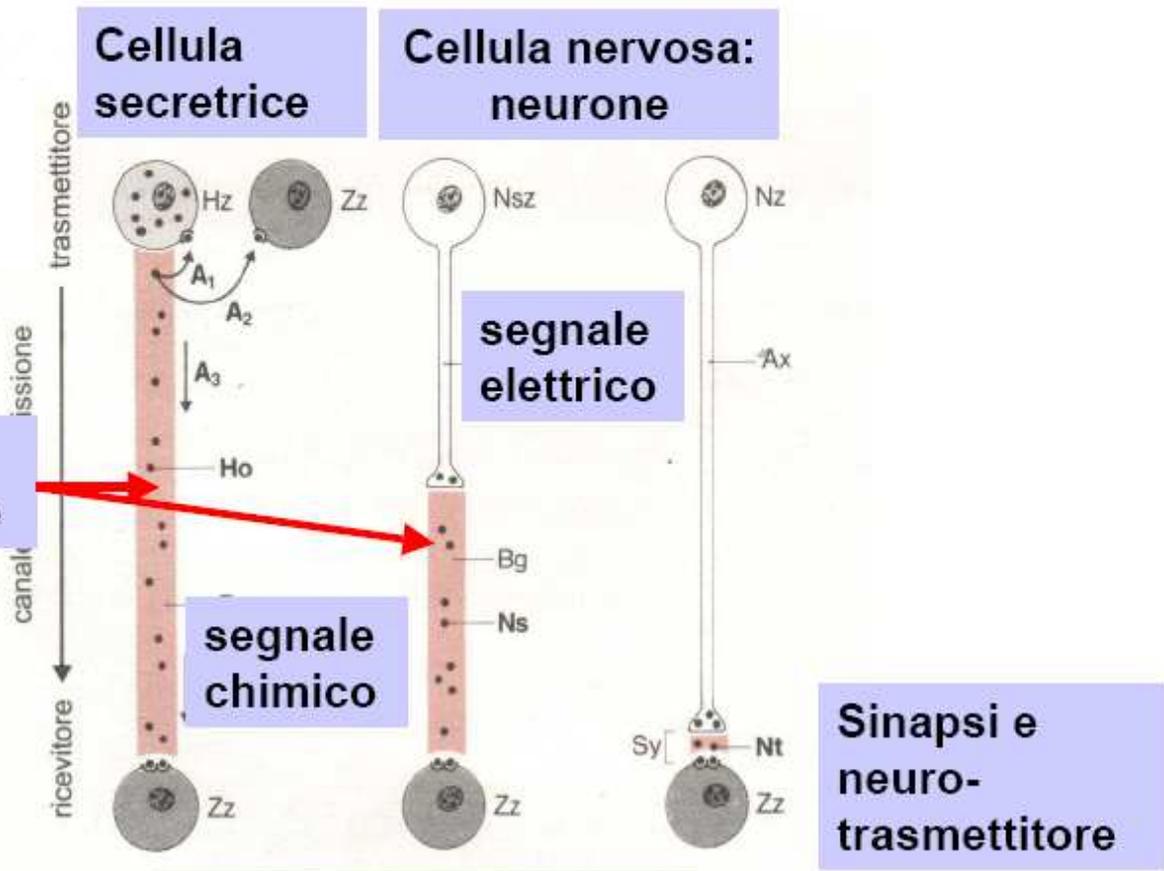
**Utilizzo di piante trasformate**

L'insetto è coordinato dai SISTEMI NERVOSO e ORMONALE, che si avvalgono di informazioni di tipo elettrico (corrente di membrana) e di tipo chimico (ormoni)

Cellula sorgente

Sistema di trasporto: sangue

Cellula bersaglio



# **INSETTICIDI IMPIEGABILI NEI CEREALI (2014)**

## **Insetticidi residuali**

**Clorpirifos metile**

**Deltametrina**

**Lambda cialotrina**

**Pirimifos metile**

## **Insetticidi NON residuali (Sensibili a O<sub>2</sub> , UV e T° < di 28-30 °C)**

**Azadiractina**

**Fosfuro di Alluminio**

**Fosfuro di Magnesio**

**Piretrine**

## Effetti di chitino-inibitore su tortricidi



## Effetti M.A.C. (tebufenozide) su larva di ricamatore



## Effetti di iuvenoide (fenoxycarb)



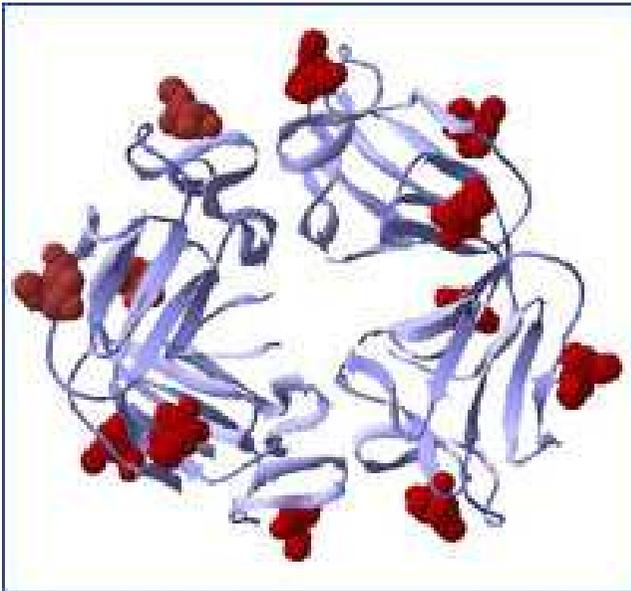
*A. Pollini*

## Prospettive nello sviluppo di insetticidi

- 1. Uso di neuropeptidi o di molecole che ne modificano l'efficacia.**
- 2. Sviluppo di nuove molecole, anche di origine naturale (es. avermectina, spinosad).**
- 3. Bioinsetticidi basati sull'impiego di proteine espresse da antagonisti degli insetti.**

## Prospettive nello sviluppo di insetticidi

**1. Uso di neuropeptidi o di molecole che ne modificano l'efficacia.**

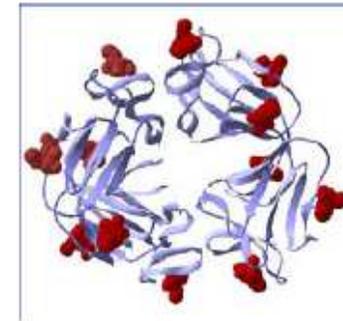


## Origine vegetale

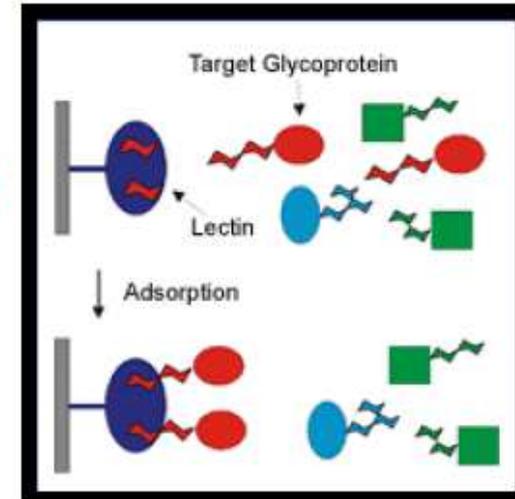
L'agglutinina di *Galanthus nivalis* (GNA) appartiene all'ampio gruppo di proteine note come lectine, capaci di legare specifici residui di carboidrati. E' una proteina tetramerica di circa 12.5 kDa, con specificità di legame con mannosio. E' stato dimostrato che non è tossica per i mammiferi ma ha effetti verso molti insetti.

Grazie alla sua capacità di attraversare le cellule dell'intestino, la GNA può essere considerata come un "sistema di trasporto" per peptidi tossici.

L'uso di proteine di fusione capaci di trasportare, attraverso l'intestino dell'insetto, peptidi con target emocelico, rappresenta un nuovo ed efficace approccio per il controllo di insetti dannosi in agricoltura.



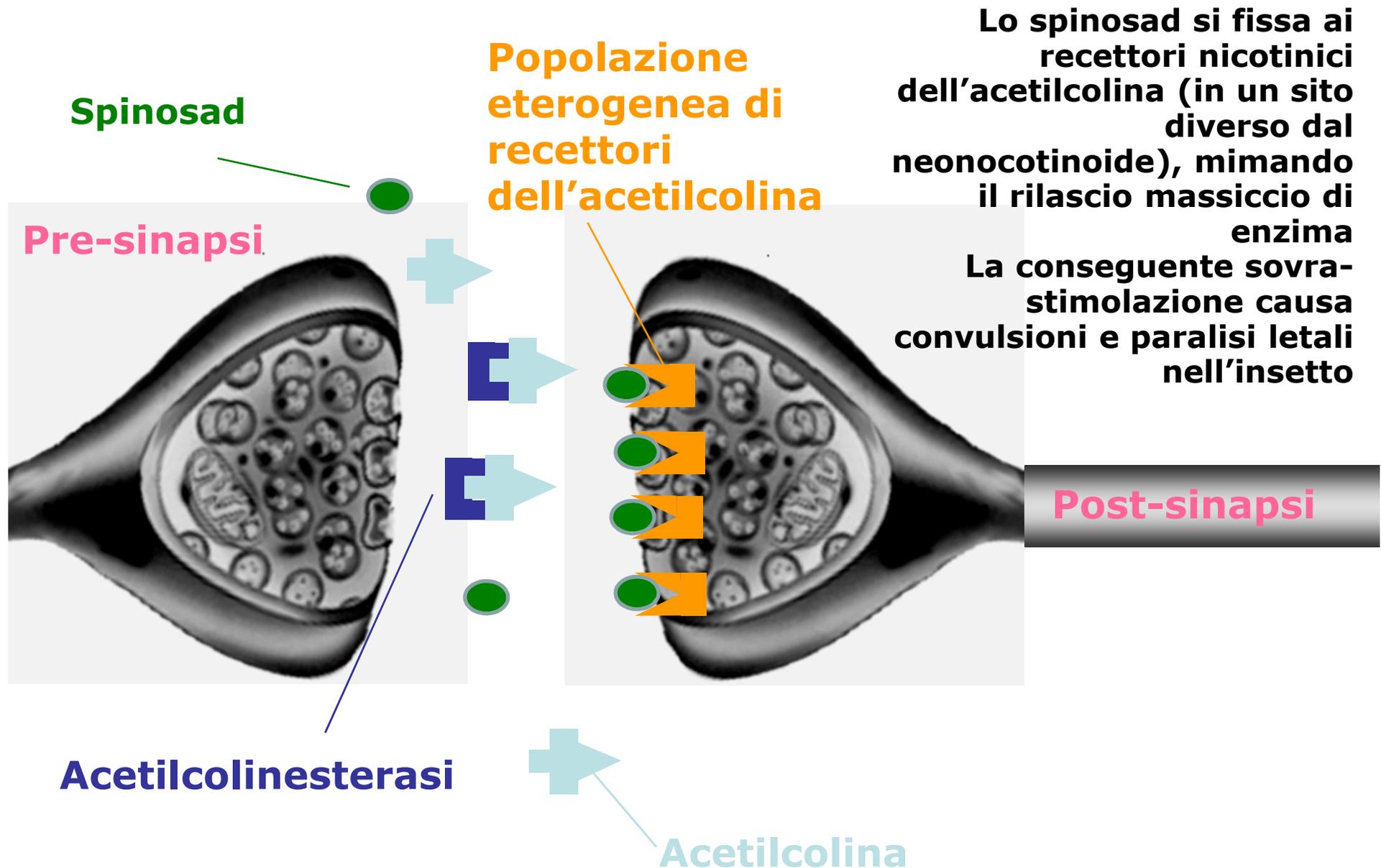
GNA (*Galanthus nivalis* agglutinin), complex with 12 molecules of methylmannose.



## Prospettive nello sviluppo di insetticidi

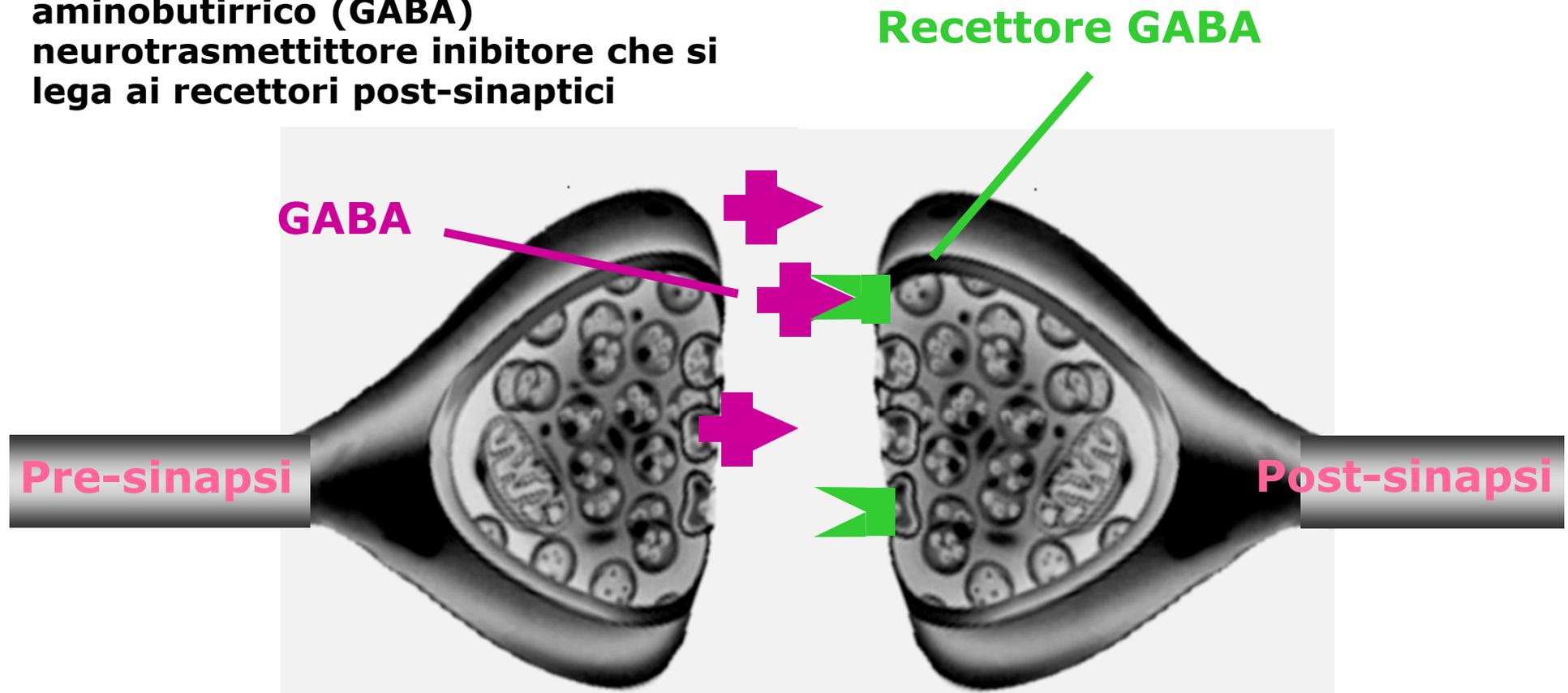
1. **Uso di neuropeptidi o di molecole che ne modificano l'efficacia.**
2. **Sviluppo di nuove molecole, anche di origine naturale (es. avermectina, spinosad).**
3. **Bioinsetticidi basati sull'impiego di proteine espresse da antagonisti degli insetti.**

# Comportamento biochimico: Spinosad



# Comportamento biochimico: avermectine

Stimolazione del rilascio pre-sinaptico dell'acido gamma aminobutirrico (GABA) neurotrasmettitore inibitore che si lega ai recettori post-sinaptici



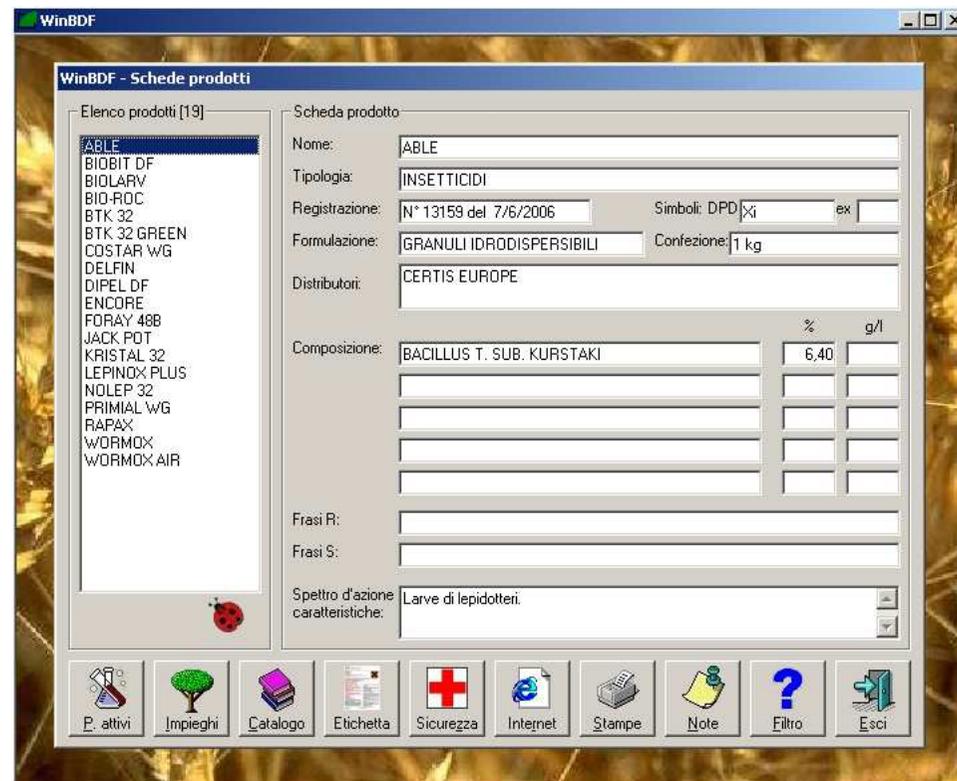
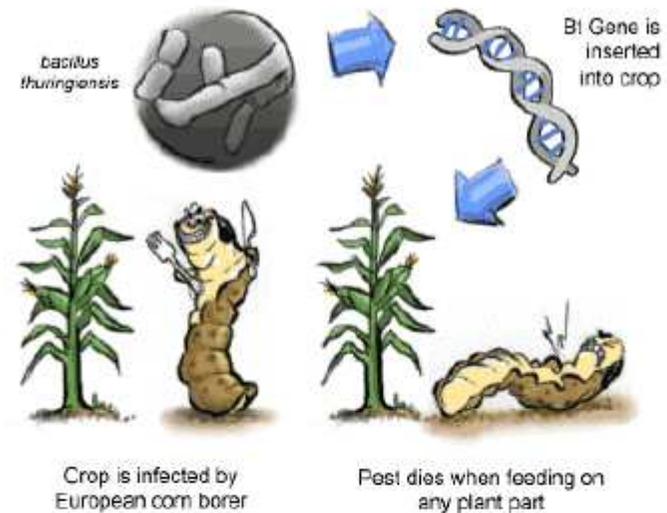
## Prospettive nello sviluppo di insetticidi

1. **Uso di neuropeptidi o di molecole che ne modificano l'efficacia.**
2. **Sviluppo di nuove molecole, anche di origine naturale (es. avermectina, spinosad).**
3. **Bioinsetticidi basati sull'impiego di proteine espresse da antagonisti degli insetti.**

## Origine batterica

### Delta endotossina di *Bacillus thuringiensis* (Bt)

*Bacillus thuringiensis*, già di per sé bioinsetticida, fornisce geni per la delta endotossina (cry) presenti nelle diverse sottospecie, con azione su differenti insetti bersaglio



## ***Origine batterica***

### Delta endotossina di *Bacillus thuringiensis* (Bt)

numerose applicazioni ricombinanti sia in vegetali, da tempo commercializzati, sia in ospiti microbici

produce anche proteine vegetative insetticide (VIP), la cui efficacia è stata dimostrata anche con clonaggio in batteri e piante

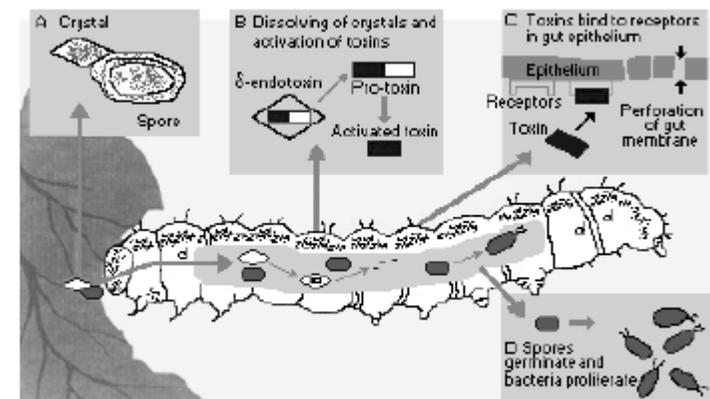


Fig. 1. Mechanism of toxicity of Bt

## *Bacillus thuringiensis*

Oggetto di modificazioni genetiche al fine di potenziarne le proprietà. Ad esempio, nel caso di Foil<sup>®</sup>, prodotto commercializzato negli Stati Uniti, una tossina di Bt attiva contro Coleotteri è stata introdotta, tramite plasmide, in un ceppo attivo contro Lepidotteri.

Di diversa strategia è invece l'inserimento di geni di chitinasi da *Bacillus licheniformis*, che ha potenziato l'efficacia rispettivamente verso *Aedes aegypti* e *Spodoptera exigua*.

Nome	Ceppo	Registrazione	Produttore
Condor	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> , ceppo 8	70051-78	Certis Usa, Llc
Cutlass	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> , ceppo EG2371	70051-79	Certis Usa, Llc
Agree	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i> , ceppo GC-91	70051-47	Certis Usa, Llc
Foil	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> ceppo EG2424	55638-10	Ecogen, inc

Ricevente                      Donatore                      Gene                      Effetto

B.t. subsp. kurstaki	B.t. subsp. aizawai	Gene cryIC	Potenziamento dell'efficacia
B.t subsp. israelensis	B.t.subsp. jegathesan	Gene cry11b	Potenziamento dell'efficacia
B.t subsp. israelensis	Bacillus sphaericus	Gene cyt1A	Potenziamento dell'efficacia
B.t subsp. israelensis	Bacillus licheniformis	Geni chiA	Potenziamento dell'efficacia
B.t. subsp. aizawai	Bacillus licheniformis	Geni chiA	Potenziamento dell'efficacia

## *Piante*

Più di 50 specie di piante sono state trasformate con geni di resistenza a insetti, prevalentemente Bt. Numerose sono anche le registrazioni per uso commerciale, cui corrisponde un impiego su decine di milioni di ettari.

### **Limiti**

Accettazione sociale

Gene-environment trade-off

Adattamento locale di GMP

### **Potenziati fattori negativi**

Incertezza del sito di trasformazione

Possibili effetti dei prodotti GM come allergeni

Effetti su non-target

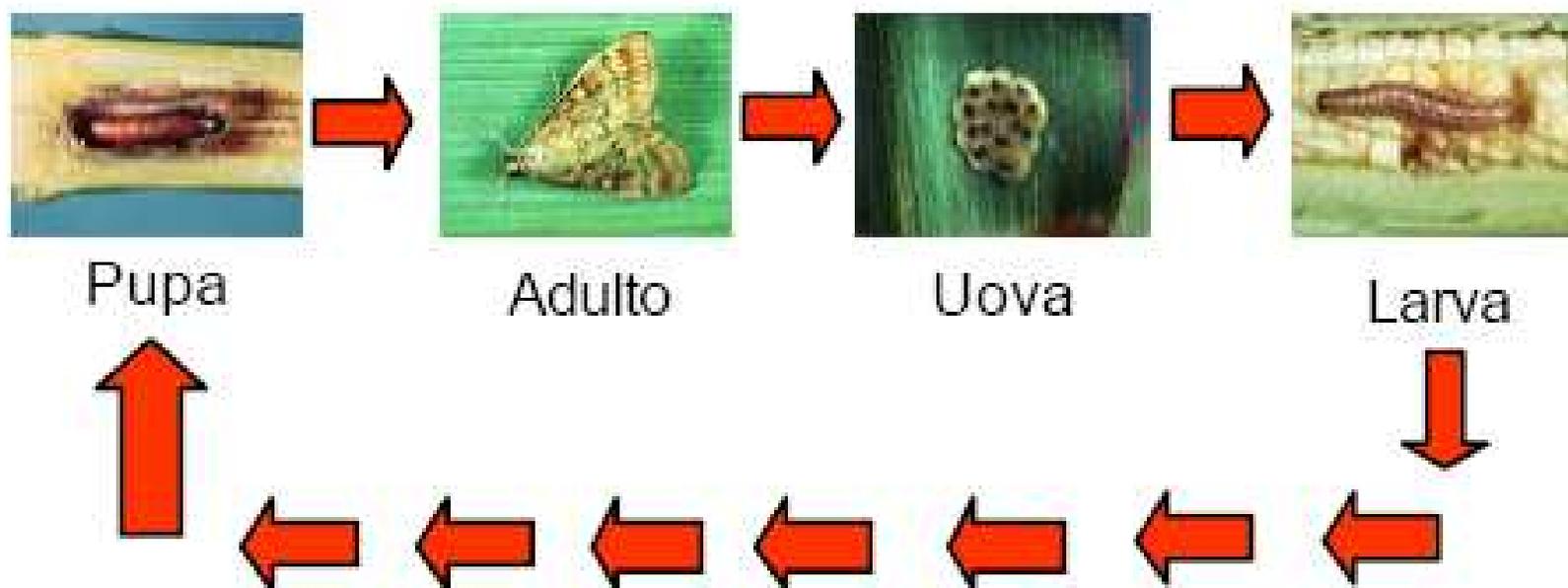
Sviluppo di resistenza

Disseminazione di geni (via polline o via orizzontale)

Varie piante	Varie piante	Inibitore proteasi	Riduzione digeribilità
Varie piante	<i>B. thuringiensis</i>	Geni <i>Cry</i>	Acquisizione della tossicità in pianta
Tabacco	<i>Streptomyces</i>	Colesterolo ossidasi	Mortalità nel coleottero <i>Anthonomus</i>
Tabacco	Virus di insetto	Geni vari	Riduzione crescita e mortalità

# Piante GM: difesa dalla Piralide

*(European Corn Borer, ECB)*



## Piante GM: tecnologia *Bt*



La piralide causa gravi danni alle coltivazioni di mais



Il *Bacillus thuringiensis* produce una protossina tossica per la piralide ad altre larve

## Piante GM: tecnologia *Bt*



Preparati a base di *Bacillus thuringiensis* sono impiegati in agricoltura biologica per la difesa delle colture: è un biopesticida.

E' però costoso, instabile agli UV, e sono necessari trattamenti ripetuti

## Piante GM: tecnologia *Bt*



+



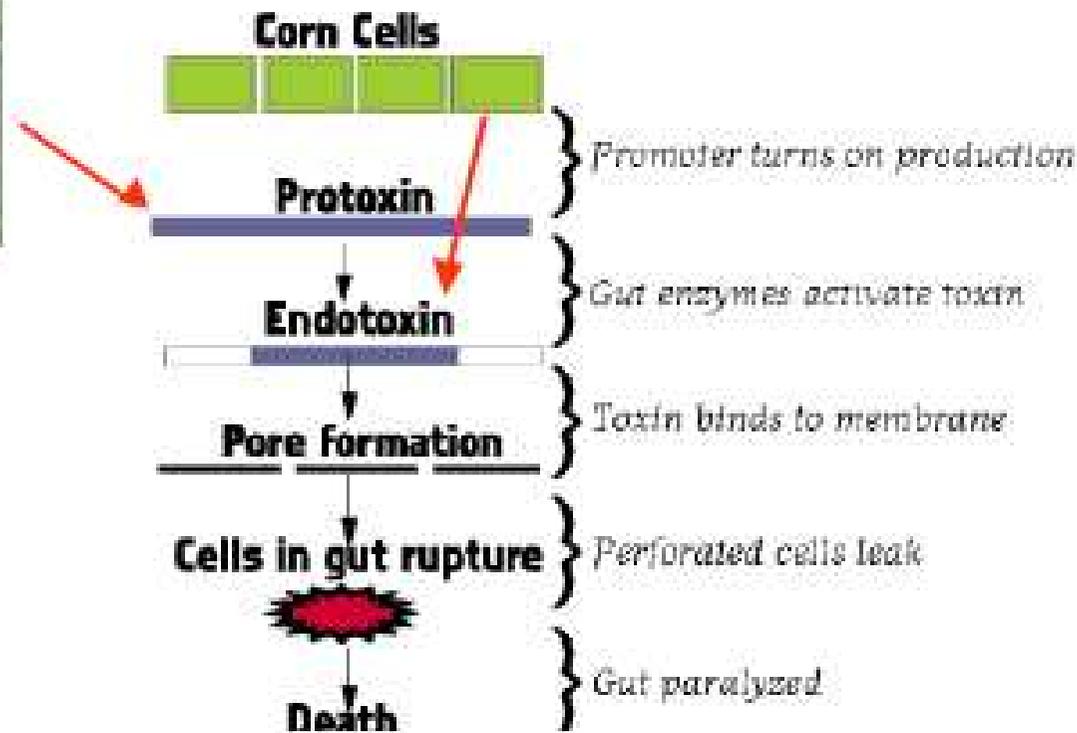
Gene *Bt*

=

Mais transgenico *Bt*

Il mais *Bt* produce la proteina *Bt* ed è quindi tossico per le larve che se ne dovessero cibare.

## Piante GM: tecnologia *Bt*



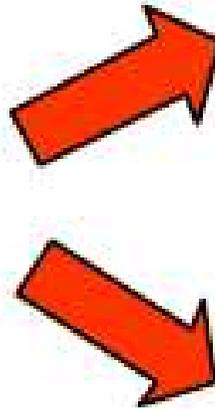
Il mais Bt produce la tossina Bt ed è quindi tossico per le larve che se ne dovessero cibare

**Mais Bt :**

*Gene flow:*



*Mais transgenico*



*Mais selvatici  
(teosinte)*



*Tripsacum*

## Piante GM: problematiche connesse alla tecnologia *Bt*

Trasferimento di geni in popolazioni di mais selvatico

*Nature 2001*

### Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico

David Holt & Ignacio R. Chapela

Department of Environmental Action, Policy and Management, University of  
California, Berkeley, California 94720, USA (E-mail: dalt@berkeley.edu)

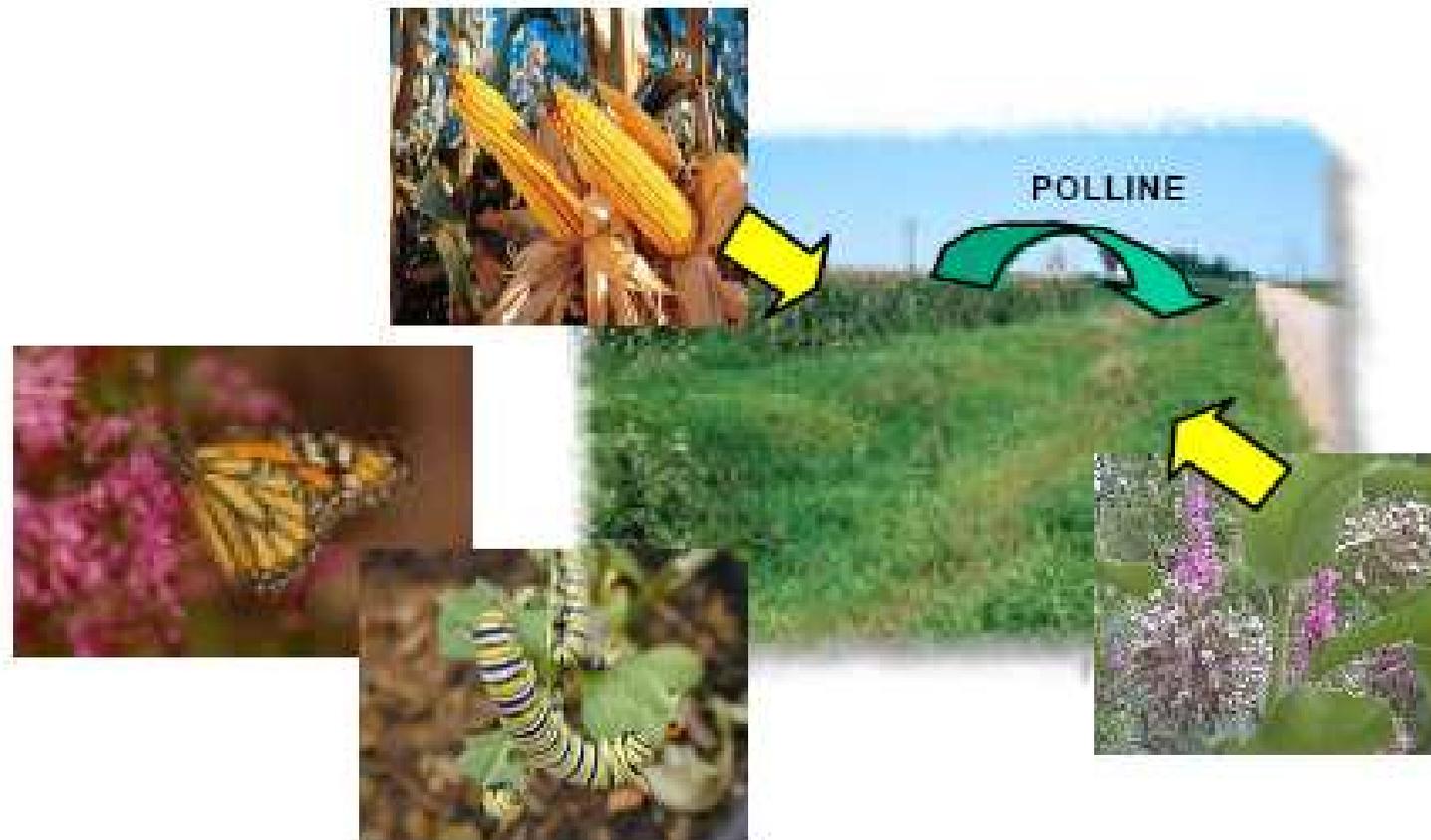
*Nature 2002*

### Maize transgene results in Mexico are artefacts

Quist and Chapela's conclusion<sup>1</sup> that the transgenes they claim to have detected in native maize in Oaxaca, Mexico, are predominantly reassorted and inserted into a "diversity of genomic contexts" seems to be based on an artefact arising from the inverse polymerase chain reaction (i-PCR) they used to amplify sequences flanking 35S transgenes from cauliflower mosaic virus (CaMV).

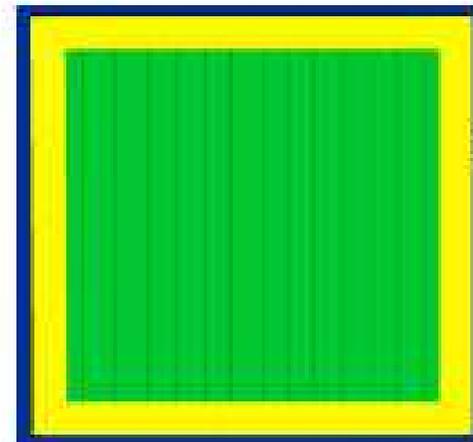
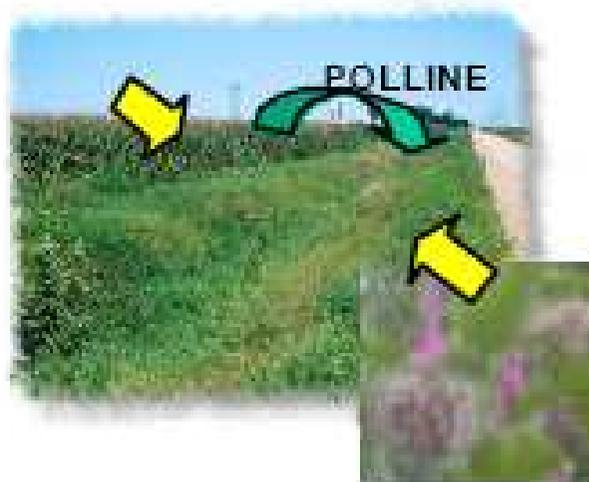
## Piante GM: problematiche connesse alla tecnologia *Bt*

Effetti dannosi su altri insetti: il caso della farfalla monarca



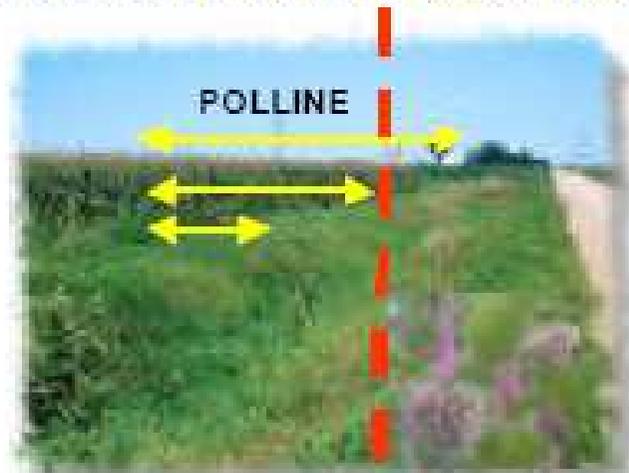
## Piante GM: problematiche connesse alla tecnologia *Bt*

Effetti dannosi su altri insetti: il caso della farfalla monarca



**Proposta all'ente americano di protezione ambientale (EPA): coltivare una "cornice" di mais non-Bt intorno all'appezzamento per minimizzare la diffusione del polline Bt su piante spontanee.**

**Piante GM:** problematiche connesse alla tecnologia *Bt*  
Effetti dannosi su altri insetti: il caso della farfalla monarca



Università del Maryland: il 90% del polline *Bt* cade entro 3 metri dai bordi dell'appezzamento.

<b>Livello di polline su foglie</b>	in campo	: 229 pollini/cm <sup>2</sup>
	a bordo campo:	78
	a 1 metro	: 28
	a 5 metri	: 1,4

**Tossicità** (ridotta crescita larve) richiede almeno 600 pollini/cm<sup>2</sup>

## Piante Bt: sviluppo di insetti resistenti alla tossina Bt



L'alternanza di file di mais non-Bt negli appezzamenti Bt consente di ridurre lo sviluppo di ceppi di insetti resistenti alla tossina

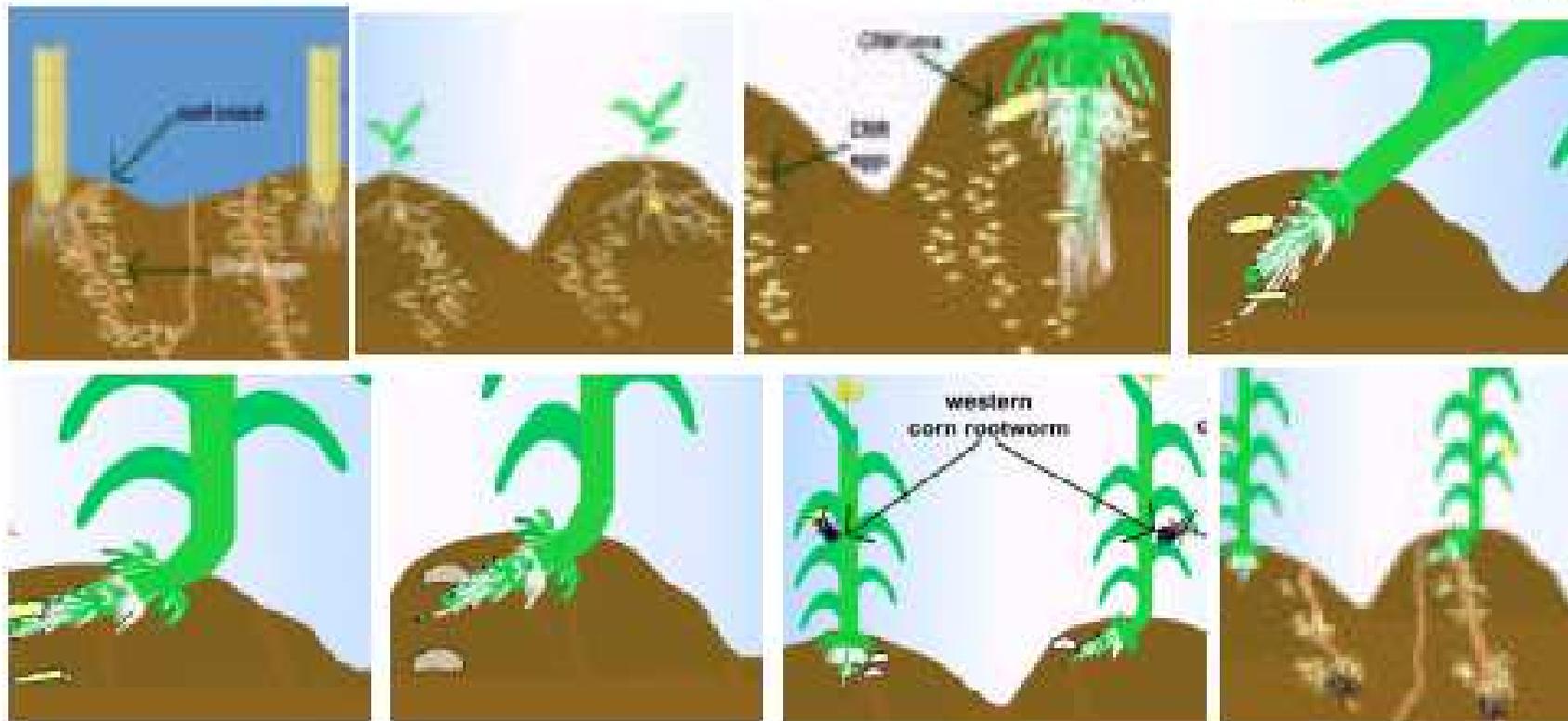
## Tecnologia Bt: altre applicazioni in mais

Mais Herculex

Esprime: Cry3Bb1

Resiste a:

*Corn Rootworm (Diabrotica virgifera)*



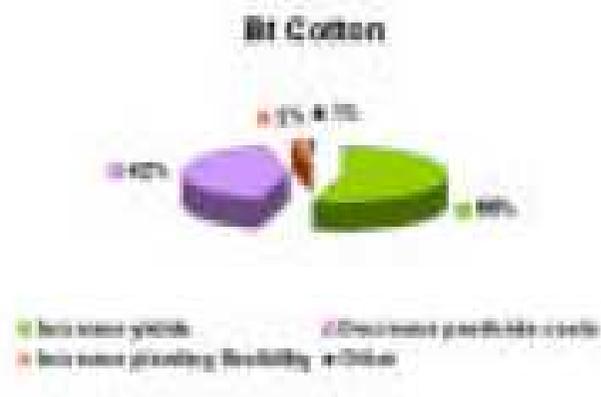
# Piante GM: tecnologia *Bt*

La tecnologia *Bt* è stata applicata ad altre colture:

Cotone



Main reason to adopt as stated by farmers



Impieghi alimentari:

Limitati alla produzione di olio di semi