

Programmi di difesa integrata delle colture: l'uso di resistenza genetica agli insetti

Sin dagli albori dell'agricoltura l'uomo ha studiato come le piante coltivate si difendono dagli insetti erbivori e ha utilizzato i meccanismi di difesa naturale per proteggere le colture e preservare i raccolti. Il rapido avanzamento scientifico ha messo a disposizione conoscenze più approfondite e permette oggi di sviluppare tecnologie di difesa basate su caratteristiche ereditabili delle piante coltivate. Quest'articolo si propone di descrivere brevemente le strategie fin qui sviluppate e di discuterne l'impatto e le potenzialità di applicazione

DOI 10.12910/EAI2016-042

di **Andrea Sonnino**, ENEA

Approssimativamente la metà di tutti gli insetti esistenti (circa dieci trilioni di individui appartenenti a un milione di specie descritte e a molte altre ancora sconosciute) sono erbivori. Le piante hanno quindi elaborato sofisticate strategie di difesa che permettono loro di convivere con gli insetti erbivori e di assicurare la continuità delle specie. Sin dagli albori dell'agricoltura, l'uomo ha studiato i meccanismi di resistenza ai fitofagi delle piante coltivate e li ha utilizzati

per difendere le colture e preservare i raccolti. La più spettacolare applicazione della resistenza ad insetti dannosi è quella che è stata attuata nella seconda metà del XIX secolo per preservare le viti coltivate dall'attacco della fillossera (*Daktulosphaira vitifoliae* Fitch), un insetto devastante introdotto dall'America. L'innesto su portainnesti resistenti ha rivoluzionato l'intera viticoltura europea ed ha trasformato una terribile piaga in un insetto pressoché innocuo. Il rapido avanzamento scientifico ha

messo a disposizione conoscenze più approfondite e permette oggi di sviluppare tecnologie di difesa basate su caratteristiche ereditabili delle piante coltivate. Questo articolo si propone di descrivere brevemente le strategie fin qui sviluppate e di discuterne l'impatto e le potenzialità di applicazione.

Meccanismi di resistenza a insetti fitofagi

I meccanismi sviluppati dalle piante per difendersi dagli insetti fitofagi



sono di varia natura (Tabella 1) [1]. Alcune piante hanno evoluto caratteristiche morfologiche, che costituiscono barriere fisiche nei confronti degli insetti erbivori e impediscono loro l'alimentazione e/o la ovideposizione. Altre piante hanno adottato meccanismi di difesa biochimica, atti ad alterare il comportamento dei fitofagi o ad interferire con il loro ciclo vitale. La mancata produzione di composti volatili attrattivi, per esempio, può interferire sul riconoscimento dell'ospite da parte del fitofago. Alcune specie vegetali hanno sviluppato la capacità di mimare la semiologia usata dagli insetti per comunicare tra loro. Il b-farnesene, prodotto da molte piante, tra cui alcune specie selvatiche di *Solanum*, è usato come segnale di pericolo dagli afidi.

In altri casi le piante producono composti tossici per gli insetti infestanti, e ne riducono quindi la densità di popolazione (Tabella 2). La lista delle sostanze tossiche presenti nelle piante coltivate è comunque molto più lunga [2]. Alcune specie, per esempio la cassava (*Manihot esculenta*) hanno sviluppato un meccanismo assai sofisticato, per cui la rottura delle membrane cellulari provocata dai morsi di un erbivoro libera

una sostanza non tossica presente nelle cellule (linamarina), che solo quando entra in contatto con enzimi presente negli spazi intercellulari (linamarasi) dà luogo a composti (cianuri) tossici per l'insetto aggressore. Ovviamente gli insetti hanno a loro volta sviluppato meccanismi di varia natura per neutralizzare le difese delle piante e poter quindi continuare ad alimentarsi e a riprodursi. Il risultato di questo lento processo di coevoluzione è che molte piante sono resistenti a quasi tutti gli insetti, meno che a poche specie specializzate, che sono in grado di contrastarne i meccanismi di resistenza.

Il processo di domesticazione e la selezione operata dagli agricoltori sulle piante coltivate ha sviluppato varietà con ridotte barriere fisiche, in modo da facilitare la raccolta e la manipolazione del prodotto, e con minore produzione di sostanze tossiche, in modo da ridurne gli effetti negativi per l'alimentazione umana. In molti casi, quindi, le varietà coltivate, sia quelle tradizionali che quelle moderne, hanno dei meccanismi di difesa ridotti rispetto ai loro ancestrali selvatici.

La tolleranza consiste nella capacità di cui sono dotate alcune specie vegetali di convivere con l'infestazione

di fitofagi senza subire danni significativi alle loro maggiori funzioni, e quindi senza significative perdite di produzione. Vi sono inoltre resistenze ambientali, che le piante esercitano consociandosi ad altre piante non gradite agli insetti, o sviluppandosi in epoche non favorevoli agli insetti erbivori, o attraendo insetti predatori o parassiti dei fitofagi [3]. Altre specie vegetali infine combinano diversi meccanismi di resistenza, come, per esempio, *Solanum berthaultii* che ha sviluppato un sofisticatissimo sistema di tricomi ghiandolari che oppongono barriere sia fisiche che chimiche agli insetti che cercano di alimentarsi delle sue foglie [4].

Miglioramento genetico per resistenza ai fitofagi

Sono note numerose fonti di resistenza genetica agli insetti fitofagi, sia nel pool genetico di molte specie coltivate che tra i loro parenti selvatici. In molti casi queste resistenze genetiche sono sotto controllo monogenico o di pochi geni, e sono quindi facilmente trasferibili alle varietà coltivate mediante tecniche classiche di incrocio, reinrocio e selezione.

Oltre alla fillossera della vite, cui si è accennato nell'introduzione, programmi di miglioramento genetico per resistenza a insetti erbivori sono stati sviluppati con successo per molte altre piante coltivate, come per esempio le varietà di frumento resistenti a cecidomia (*Mayetiola destructor*), ottenute nella prima metà del secolo scorso negli Stati Uniti. La comparsa di biotipi capaci di superare la resistenza alla cecidomia ha costituito un caso paradigmatico del rapporto pianta/insetto e ha costretto ad adottare strategie innovative di miglioramento genetico. Altri casi di successo di controllo di insetti noci-

Tipo di difesa	Modo di espressione	Modo di azione	Effetti sugli insetti
Fisica	Costitutiva	Barriere fisiche (spine, tricomi, cere, cuticole, forma della foglia, architettura della pianta etc.)	Esclusione
Biochimica	Costitutiva	Non preferenza (produzione di allomoni o assenza di kairomoni)	Modifica del comportamento (Orientamento, riconoscimento, ovedeposizione, alimentazione)
	Costitutiva o indotta da ferite	Antibiosi	Riduzione della popolazione (Crescita rallentata, incapacità di metamorfosi, diminuzione della fecondità, mortalità)
Tolleranza	Costitutiva	Capacità di contenere o riparare i danni senza conseguenze significative	Nessuno
Ecologica	Determinata da condizioni ambientali	Difesa indiretta (sfasamento di ciclo, consociazione con altre piante, reclutamento di predatori etc.)	Nessun effetto diretto
Composta	Vario	Combinazione di meccanismi chimici, fisici e altri	Vari

Tab. 1 Meccanismi di difesa da insetti fitofagi e loro caratteristiche
Fonte: vedi [1]

vi mediante resistenza genetica della pianta ospite riguardano le coppie melo – *Eriosoma lanigerum* – e riso – *Nilaparvata lugens*. È però innegabile che i successi ottenuti dal miglioramento genetico in questo campo siano meno numerosi e abbiano avuto impatto inferiore a quelli ottenuti con altre finalità, quali la produttività, il miglioramento nutrizionale e la resistenza a fitopatie batteriche, fungine e virali.

Proviamo a discutere brevemente le ragioni di questa situazione:

1. La disponibilità di insetticidi offre spesso una strategia di controllo efficace e a basso costo, almeno nel breve periodo: la necessità di trovare metodi di controllo meno aggressivi nei riguardi dell'ambiente non ha sempre rappresentato uno stimolo sufficiente per l'investimento delle risorse ne-

cessarie allo sviluppo di varietà geneticamente resistenti.

2. La laboriosità, e quindi il costo, della selezione per resistenza, che richiede spesso di allevare in laboratorio l'insetto nocivo; inoltre le prove sono in alcuni casi poco riproducibili, dato che gli insetti allevati in cattività possono avere modificato alcuni comportamenti rispetto ai loro simili selvatici.

3. Alcuni meccanismi di resistenza agli insetti nocivi sono negativi anche per l'uomo, sia perché rendono più difficile o più penosa la coltivazione (come per esempio la presenza di spine o di tricomi urticanti), o perché rendono il prodotto meno appetibile per il consumo (come per esempio la presenza di sostanze tossiche anche per gli animali superiori, o di fattori anti-nutrizionali, o di sapori sgradevoli); l'esempio più famoso è quello

della varietà di patata "Lenape", ottenuta nel 1967 incrociando la patata coltivata (*Solanum tuberosum*) con la specie selvatica *S. chacoense* e ritirata dopo poco dal commercio perché causa di nausea, vomito e altri disturbi gastrici fra coloro che consumavano i tuberi.

4. Molti meccanismi di resistenza sono facilmente superati dall'insorgenza di nuovi biotipi dell'insetto fitofago; il già citato caso della cecidomia del frumento è un ottimo esempio di questo fenomeno.

I recenti avanzamenti delle conoscenze biologiche e delle tecnologie da esse derivate permettono di attenuare queste limitazioni. La possibilità di adottare tecniche di selezione assistita può permettere per esempio di evitare o almeno di ridurre le prove di antibiosi con insetti, una volta che si sia identificato il gene (o i

Composti con attività insetticida	Alcune piante che li producono
Caffeina	Varie
Nicotina	Solanacee
Solanina	Solanacee
Capsaicina	Solanacee
Lectine	Solanacee
2-4-diidrossi-7metossi-1,4-benzossazin-3-one (DIMBOA)	Cereali
Furocumarine	Agrumi e ombrellifere
Glicosidi cianogenici	Cassava
Latirogeni	Cicerchia e veccia
Formaldeide	Pere
Inibitori delle proteasi	Leguminose
β -Farnesene	Ubiquitario
Lattice	Euforbiacee
Glucosinolati	Brassicacee (colza)

Tab. 2 Alcuni composti chimici che conferiscono resistenza agli insetti prodotti dalle piante
Fonte: vedi [2]

geni) responsabili della resistenza e i suoi (loro) marcatori molecolari. I geni di resistenza che codificano per la biosintesi di sostanze tossiche o comunque sgradevoli per l'uomo possono essere utilizzati sotto il controllo di promotori sito-specifici e fatti esprimere solo nelle parti non edibili della pianta.

Gli Organismi Geneticamente Modificati (OGM) resistenti agli insetti

L'ingegneria genetica ha aperto nuove prospettive per lo sviluppo di varietà resistenti agli insetti fitofagi. Nello scorso ventennio sono state sviluppate, approvate dai sistemi nazionali di biosicurezza e commercializzate numerose cultivar di alcune specie agrarie in cui è stato trasferito un gene (o più geni) di resistenza agli insetti derivato dal *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) [5]. Questo microrganismo produce una classe

di endotossine composte da una proteina cristallina (*Cry*) con proprietà insetticide altamente selettive. Per esempio *Cry1* e *Cry2* sono tossiche per le larve di lepidottero, *Cry2A* per lepidotteri e ditteri e *Cry3* per le larve di coleottero. Queste proteine agiscono solo in ambiente basico e hanno bisogno di recettori specifici, per cui sono attive negli apparati gastrici di alcuni insetti, ma sono innocue per gli animali superiori, compresi gli uomini. In realtà, i geni introdotti nelle piante coltivate non sono i geni batterici tal quali, ma sono stati troncati e mutagenizzati per migliorarne il livello di espressione nelle piante ospiti.

La Tabella 3 riporta un elenco di eventi approvati per la commercializzazione in almeno un paese. Non tutti gli eventi approvati sono poi stati coltivati e commercializzati: per esempio le varietà di patata resistenti alla dorifora (*Leptinotarsa decemlineata*) sono state impiegate per

alcuni anni negli Stati Uniti e poi ritirate dal commercio [6], mentre le varietà di riso resistenti ai lepidotteri non sono ancora state rilasciate per usi commerciali. Sono state ottenute e validate anche altre varietà di ulteriori specie, ma per motivi differenti non sono state sottoposte al processo di autorizzazione ufficiale e non sono quindi uscite dallo stadio sperimentale.

Il rilascio delle varietà GM resistenti agli insetti è stato accompagnato sin dall'inizio da una furiosa polemica tra sostenitori entusiasti ed oppositori irriducibili, polemica che non accenna a diminuire a distanza di oltre vent'anni [7]. Entrare in questa polemica esula dagli scopi di questo articolo, ma sembra opportuno svolgere alcune considerazioni critiche. È difficile negare che l'introduzione delle varietà GM resistenti agli insetti abbia portato dei benefici: in vaste aree del mondo gli agricoltori, soprattutto piccoli agricoltori, hanno

Specie	Numero eventi approvati	Geni trasferiti	Efficacia della resistenza
Cotone (<i>Gossypium hirsutum</i> L.)	35	Cry1F; Cry1F+Cry1Ac; Cry1Ac; vip3A(a); Cry1Ab+vip3A(a); vip3A(a)+Cry1Ac+ Cry2Ab; Cry1Ab; Cry1Ab-Ac; Cry1Ae; Cry1Ac+Cry2Ab2; Cry1Ab+ Cry1Ae; Cry1C; Cry1A	Lepidotteri
Melanzana (<i>Solanum melongena</i>)	1	Cry1C	Lepidotteri
Mais (<i>Zea Mays</i> L.)	74	Cry1Ab; Cry1Ac; Cry1F; Cry1Fa2; vip3A20; mocry1f; Cry2Ae+ Cry1A+vip3A20; Cry1Ab+vip3A20+cry1Fa2; Cry1Ab+cry1Fa2; Cry9c; Cry2Ab2+Cry1A.105; Cry1Fa2+cry1Ab; Cry1Fa2+cry1Ab+vip3Aa20	Lepidotteri
		eCry3.1Ab+mCry3A; Cry1F+ Cry34Ab1; Cry1A.105+cry2Ab2+cry3Bb1; Cry1Fa2+cry2Ab2+cry35Ab1+cry34Ab1+CA.105; Cry1Ab+cry1F+cry34Ab1+cry35Ab1; Cry1Fa2+Cry1Ab+cry1F+cry34Ab1+cry35Ab1+cry1Ab; Cry1F2+mCry3A	Lepidotteri + coleotteri
		eCry3.1Ab+mCry3A+Cry1Ab+cry1Fa2; eCry3.1Ab+mCry3A+Cry1Ab+cry1Fa2+vip3Aa20; Cry1Ab+cry3Bb1; eCry3.1Ab+mCry3A	Lepidotteri + coleotteri + altri
		cry34Ab1+cry35Ab1; mCry3A; cry3Bb1	Coleotteri
Patata (<i>Solanum tuberosum</i> L.)	20	Cry3A	Coleotteri
Pioppo (<i>Populus</i> Sp.)	2	Cry1Ac	Lepidotteri
		Cry1Ac+API	Lepidotteri + altri
Pomodoro (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	1	Cry1Ac	Lepidotteri
Riso (<i>Oryza sativa</i> L.)	3	Cry1A.105; Cry1Ab+ Cry1Ac	Lepidotteri
Soia (<i>Glycine max</i> L.)	4	Cry1Ac+ Cry2F	Lepidotteri

Tab. 3 Geni Bt (*Bacillus thuringiensis*) trasferiti a piante coltivate e efficacia della resistenza da loro conferita
Fonte: banca dati ISAAA

potuto limitare i danni arrecati da alcuni insetti fitofagi riducendo allo stesso tempo l'uso di insetticidi, con vantaggi economici e ambientali e minori danni alla loro salute. Gli effetti sulla produttività e sul risultato economico delle colture, soprattutto di mais e cotone, sono generalmente positivi, anche se la relativa letteratura scientifica è a volte contraddittoria e i dati non sempre comparabili tra loro. La coltivazione di varietà GM resistenti ad alcuni insetti ha contribuito ad abbassarne il livello di infestazione in alcune aree, con bene-

fici anche per gli agricoltori che non hanno utilizzato le cultivar resistenti. L'efficacia di lungo termine della resistenza conferita da geni Bt è minacciata dall'insorgenza di mutanti di insetti resistenti alla tossina del Bt. All'inizio si è cercato di prevenire questo fenomeno adottando aree rifugio, aree cioè coltivate con varietà tradizionali prive di resistenza, al fine di ridurre la pressione selettiva sugli insetti che si intendeva controllare. Nonostante questa precauzione, lo sviluppo di insetti resistenti alla tossina Bt è stato segnalato in più aree di coltivazione

delle piante transgeniche, con effetti pratici di portata variabile. Come riportato nella Tabella 3, la strategia adottata per prevenire lo sviluppo di insetti resistenti al Bt è oggi quella di inserire in una stessa varietà più geni codificanti per tossine Bt. I recenti sviluppi della proteomica permettono infatti di identificare nuove tossine e di accumulare geni in un singolo genotipo. Le probabilità di sviluppo negli insetti di resistenze alle tossine viene così drasticamente ridotta. La resistenza conferita dalle tossine Bt è comunque specifica per

un certo numero di specie o per un ordine di insetti, come già ricordato. Il controllo di alcuni parassiti primari ha in qualche caso permesso ad altri insetti fitofagi, normalmente parassiti secondari, o addirittura ad insetti che normalmente non sono parassiti della specie coltivata, di occupare la nicchia lasciata libera dai parassiti primari, e di accrescere la loro nocività.

Conclusioni

Si può concludere che le resistenze genetiche agli insetti fitofagi, sia se derivate da tecniche tradizionali come l'innesto su piede resistente o incrocio con specie resistenti e selezione, sia se ottenute mediante moderne tecniche di ingegneria genetica, hanno in genere portato benefici agli agricoltori ed ai con-

sumatori. Le complesse interazioni tra piante ospiti ed insetti parassiti, solo parzialmente comprese, non hanno però permesso di ottenere vittorie totali e definitive, come si era inizialmente sperato, ma ha segnato tappe che necessitano continua attenzione ed ulteriore lavoro. La continua comparsa di biotipi che superano le resistenze genetiche costringe i genetisti alla condizione della Regina Rossa di *Attraverso lo specchio e quel che Alice vi trovò*, che era obbligata a correre in continuazione per restare nella stessa posizione [8].

L'esperienza acquisita indica comunque che le resistenze genetiche non possono essere considerate come strumenti definitivi di lotta agli insetti fitofagi, ma che possono espletare la loro efficacia solo se affiancate da altri strumenti fitoiatrici comple-

mentari nel quadro di strategie integrate di controllo.

Il lavoro di miglioramento genetico sin qui svolto è focalizzato sull'ottenimento di varietà resistenti ai parassiti attraverso meccanismi di antibiosi, utilizzando cioè la logica della produzione di insetticidi endofiti per sostituire la applicazione di insetticidi chimici. Questo articolo ha cercato di mettere in evidenza alcuni dei limiti di questo approccio. L'avanzamento delle conoscenze sul complesso rapporto pianta-parassita e l'adozione di approcci sistemici dovrebbero permettere ora di sviluppare resistenze basate su meccanismi di antixenosi, di cercare cioè di interferire sul comportamento degli insetti nocivi piuttosto che tentare di eradicarli.

Per saperne di più:
andrea.sonnino@enea.it

BIBLIOGRAFIA

1. U. Cirio (1993), "Meccanismi di difesa delle piante dagli insetti". In: P. Crinò, A. Sonnino, F. Saccardo, M. Buiatti, A. Porta Puglia, G. Surico (eds.) *Fondamenti dello sviluppo di germoplasma resistente a stress biotici*. Edizioni Agricole, Bologna
2. A. Mithöfer, W. Boland (2012), "Plant defense against herbivores: Chemical aspects". *Annu. Rev. Plant Biol* 63: 431-450
3. A. Tamiru, Z. R. Khan & T. J. Bruce (2015), "New directions for improving crop resistance to insects by breeding for egg induced defence". *Current Opinion in Insect Science* 9: 51-55
4. A. Sonnino, L. Bacchetta, S. Arnone (1993), "Case History: *Leptinotarsa decemlineata* Say/ Patata". In: P. Crinò, A. Sonnino, F. Saccardo, M. Buiatti, A. Porta Puglia, G. Surico (eds.) *Fondamenti dello sviluppo di germoplasma resistente a stress biotici*. Edizioni Agricole, Bologna
5. J. I. Mabubu, M. Nawaz, H. Hua (2016), "Advances of transgenic Bt-crops in insect pest management: An overview". *Journal of Entomology and Zoology Studies* 4(3): 48-52
6. A. Sonnino (2016), "Biotecnologie e miglioramento genetico: lo strano caso della patata". *AgriCulture* <http://www.fidaf.it/index.php/biotecnologie-e-miglioramento-genetico-lo-strano-caso-della-patata/>.
7. A. Sonnino (2015), "OGM: una polemica fuorviante, ma che non accenna a scemare". <http://utagri.enea.it/news/attualit/ogm-una-polemica-fuorviante-ma-che-non-accenna-scemare-andrea-sonnino>.
8. L. Carroll (1871) "Attraverso lo specchio e quel che Alice vi trovò"