

Sviluppo di fitofarmaci innovativi, a basso impatto ambientale e ridotta tossicità.

Monica Colombo¹, Simona Masiero², Silvia Vezzulli¹, Paolo Pesaresi²

¹ Centro Ricerca ed Innovazione, Fondazione Edmund Mach, Via Mach 1, 38010 S. Michele all'Adige (TN)

² Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano, Via Celoria 26, 20133 Milano

Parole chiave: aptameri peptidici, agrofarmaci, *Plasmopara viticola*, *Vitis vinifera*

L'utilizzo di prodotti fitosanitari in agricoltura è un tema sempre più sentito, sia da parte dei consumatori, preoccupati per gli effetti sulla propria salute e sull'ambiente, sia da parte degli agricoltori, sempre più attenti alla sostenibilità e alla salubrità dei prodotti. Se da una parte l'utilizzo di agrofarmaci consente al settore agricolo di mantenere livelli produttivi e qualitativi adeguati a soddisfare la domanda di una popolazione mondiale in continua crescita e sempre più urbanizzata, l'uso massiccio, e talvolta indiscriminato, che se ne è fatto negli ultimi decenni ha avuto serie conseguenze sull'ambiente e sulla salute umana e animale. Tra gli effetti negativi si annoverano l'inquinamento del suolo e delle acque, la tossicità residua su organismi non bersaglio con conseguenze a livello di specie e di ecosistema e lo sviluppo di resistenze. Numerosi effetti sono stati osservati anche sulla salute umana, ad esempio a livello dermatologico, gastrointestinale, neurologico, respiratorio, riproduttivo ed endocrino. La popolazione umana è inoltre sottoposta ad una esposizione continua a dosi minime di agrofarmaci, attraverso l'ambiente e gli alimenti, le cui possibili conseguenze sono ancora sconosciute. La difesa fitosanitaria sta vivendo un periodo di profondi cambiamenti, soprattutto per effetto delle normative emanate dall'Unione Europea sull'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari (Direttiva sull'uso sostenibile 2009/128/CE, Regolamento sulle autorizzazioni al commercio dei prodotti fitosanitari 1107/2009). Di conseguenza diversi principi attivi sono stati vietati negli ultimi anni a causa dei problemi ambientali associati al loro impiego, oppure sono divenuti inefficaci per l'insorgenza di resistenze negli organismi target. Lo sviluppo di nuovi principi attivi, più efficaci e sicuri, è perciò una strategia necessaria ed urgente.

La viticoltura è uno dei primi settori agricoli in termini di utilizzo di fungicidi. Una delle malattie più gravi della vite a livello mondiale è la peronospora (agente causale: *Plasmopara viticola*), che attacca tutti gli organi erbacei della pianta sin dalla primavera precoce e che, se non controllata, porta alla perdita totale della produzione. Per contenere la malattia si effettuano numerose e frequenti applicazioni di fungicidi, a base di rame (metallo pesante) o di principi attivi di sintesi. La ricerca di prodotti sostitutivi, alternativi ai fungicidi tradizionali, è perciò un

settore di grande interesse. Negli ultimi anni stanno comparando sul mercato prodotti di biocontrollo della peronospora, basati sull'utilizzo di microrganismi antagonisti: tali prodotti coprono quote ancora modeste del mercato dei fitofarmaci e hanno costi ancora superiori a quelli dei prodotti classici, ma avendo un profilo ecotossicologico ed ambientale decisamente migliore rappresentano una nuova fonte di principi attivi sostenibili verso i quali c'è un forte interesse da parte di viticoltori e consumatori.

Un approccio ancora più innovativo, consentito dallo sviluppo delle biotecnologie e della chimica verde, si indirizza verso una progettazione mirata del principio attivo desiderato. Fra le tecnologie disponibili una delle più promettenti è rappresentata dall'utilizzo di aptameri peptidici, peptidi di piccole dimensioni (8-20 aminoacidi) che hanno la capacità di riconoscere e di legarsi in maniera specifica e con elevata affinità ad una determinata proteina, inibendola. Gli aptameri peptidici possono quindi essere individuati e testati sulla base della loro affinità e specificità per proteine vitali per il patogeno. L'utilizzo di questa tecnologia consente perciò lo sviluppo di principi attivi che hanno un alto livello di specificità e ridotti rischi di insuccesso, dotati di una buona precisione nel colpire solo il bersaglio designato, e che minimizzano i possibili effetti indesiderati su organismi non target. Inoltre, permette di selezionare aptameri peptidici che interagiscono con domini fondamentali per il funzionamento della proteina bersaglio, quali domini catalitici fortemente conservati presenti nei patogeni delle piante, in maniera tale da ritardare l'insorgenza di fenomeni di resistenza.

Nell'ambito del progetto di ricerca "GrAptaResistance", finanziato dalla Fondazione CARIPLO, si è identificato un aptamero peptidico, chiamato NoPv1 (No *P. viticola* 1), in grado di inibire la crescita di *P. viticola* su vite e dotato di ottime proprietà di attività, specificità e tossicità. NoPv1 ha infatti dimostrato di essere altamente efficace a dosi molto basse, non essere citotossico per le cellule umane, non essere tossico per le foglie di vite ed essere innocuo su organismi non target, quali batteri del suolo (*Agrobacterium tumefaciens*, *Bacillus amyloliquefaciens*) ed *Erysiphe necator*, agente causale dell'oidio della vite. La tecnologia degli aptameri peptidici qui presentata è estremamente innovativa ed è in grado di garantire performance paragonabili ai fitofarmaci attualmente in commercio, anche se a costi di produzione per ora più elevati. Presenta però indubbi vantaggi in termini di sostenibilità (basso rischio) e, come per gli agenti di biocontrollo, se ne può valutare l'utilizzo in sinergia con i fitofarmaci tradizionali, in alternanza a rame o ad agrofarmaci di sintesi durante la stagione vegetativa, oppure come prodotto unico nelle fasi prossime alla raccolta. Infine l'utilizzo di fitofarmaci a base di aptameri peptidici potrebbe essere consigliato in aree frequentate dalla popolazione o da gruppi

vulnerabili, cioè vicino ad abitazioni e scuole, così come indicato nel Piano d'Azione Nazionale (PAN) per l'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari.

Bibliografia

- Acero, F.J.F., Carbú, M., El-Akhal, M.R., Garrido, C., González-Rodríguez, V.E., Cantoral, J.M. (2011). Development of proteomics-based fungicides: new strategies for environmentally friendly control of fungal plant diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 12: 795–816.
- Colombo, M., Mizzotti, C., Masiero, S., Kater, M.M., and Pesaresi, P. (2015). Peptide aptamers: The versatile role of specific protein function inhibitors in plant biotechnology. *J. Integr. Plant Biol.* 57: 892–901.
- Puig, M., Moragrega, C., Ruz, L., Montesinos, E., and Llorente, I. (2015). Controlling brown spot of pear by a synthetic antimicrobial peptide under field conditions. *Plant Dis.* 99: 1816–1822.
- Hao, Z., Gong, P., He, C., and Lin, J. (2018). Peptide Aptamers to Inhibit Protein Function in Plants. *Trends Plant Sci.* 23: 281–284.