

## **LA PERTURBAZIONE DELLE SIMBIOSI MICROBICHE PER LA LOTTA SIMBIOTICIDA ALLA CIMICE ASIATICA *HALYOMORPHA HALYS***

Elena Gonella e Alberto Alma

Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e alimentari (DISAFA), Università degli Studi di Torino

Lo studio delle interazioni che gli insetti hanno con i loro microrganismi simbiotici, iniziato nella seconda metà del secolo scorso, ha ampiamente evidenziato, soprattutto in anni recenti, l'importanza della varietà di ruoli svolti dai simbiotici nel determinare aspetti cruciali dello sviluppo, del comportamento e della capacità riproduttiva degli ospiti. La conoscenza e lo sfruttamento delle interazioni simbiotiche possono rappresentare un innovativo strumento di gestione, in quanto la loro alterazione può contribuire alla lotta a insetti dannosi e a patogeni trasmessi da insetti vettori, mediante la tecnica del Controllo Simbiotico (CS). Questo tipo di approccio si può applicare seguendo tre strategie: (i) la costituzione di associazioni eterologhe; (ii) la trasformazione genetica di simbiotici microbici; (iii) la perturbazione delle simbiosi microbiche (1).

i) La costituzione di associazioni eterologhe prevede l'introduzione di ceppi di simbiotici provenienti da un diverso ospite in una specie che in natura ne è priva. Il simbiotico più comunemente utilizzato per questa strategia è il manipolatore riproduttivo *Wolbachia*, ad esempio tramite la tecnica dell'insetto incompatibile, che prevede il lancio di maschi infetti dal simbiotico che, presentando un'incompatibilità riproduttiva con le popolazioni di campo, impediscono la produzione di prole nelle femmine con cui si accoppiano.

ii) La modificazione genetica dei simbiotici microbici di un insetto per controllare il danno che questo causa è definita paratransgenesi. Il principale campo di applicazione di questa strategia riguarda la lotta a malattie dell'uomo i cui agenti sono trasmessi da insetti, come la malattia di Chagas.

iii) La perturbazione delle simbiosi microbiche è indirizzata a eliminare quei simbiotici necessari all'ospite per lo sviluppo, la riproduzione e la sopravvivenza, detti simbiotici primari. Un processo

cruciale per l'eliminazione dei simbionti è la trasmissione verticale, che rappresenta una fase essenziale per il mantenimento dei simbionti primari. Bersaglio di questa strategia sono i simbionti caratterizzati da una localizzazione extracellulare, che sono trasmessi verticalmente tramite la produzione di secreti contenenti cellule dei simbionti, collocati in prossimità delle uova durante l'ovideposizione, oppure tramite la riacquisizione dei simbionti dall'ambiente da parte di ogni generazione. Queste modalità di trasmissione comportano la presenza di stadi giovanili privi di simbionti alla nascita, con la conseguente possibilità di una mancata acquisizione, che rappresenta l'obiettivo delle tecniche di controllo simbiotico basate su questo tipo di approccio.

Oltre alla diversità delle tecniche di CS applicabili, che consente di selezionare il metodo più appropriato in base alle caratteristiche del sistema insetto-microrganismi che rappresenta il bersaglio di lotta, un punto di forza di questa strategia è l'elevata compatibilità con gli altri mezzi di gestione (biologici, chimici, fisici), che rende possibile l'impiego in un'ottica di lotta integrata (1). Un promettente esempio di CS è quello indirizzato alla lotta alla cimice asiatica, *Halyomorpha halys*. Questo insetto, originario dell'Asia orientale e accidentalmente introdotto negli Stati Uniti e in Europa, attacca più di 300 specie vegetali fra piante selvatiche e coltivate. La sua marcata polifagia, unita alla sua alta capacità di dispersione e al suo elevato successo riproduttivo, determinano il forte potenziale invasivo di questo pentatomide (2). *H. halys* ospita il simbiote primario *Pantoea carbekii*, da cui dipende per la sopravvivenza, lo sviluppo e la fecondità. Questo batterio si localizza nell'intestino all'interno di cripte atte esclusivamente a contenere cellule del simbiote, che garantisce il rifornimento in molte sostanze nutritive (3). La trasmissione verticale di *P. carbekii* avviene tramite "egg smearig", ovvero tramite la contaminazione, durante l'ovideposizione, della superficie delle uova con secreti contenenti cellule batteriche. Le neanidi neonate di *H. halys* acquisiscono *P. carbekii* nutrendosi di tali secrezioni nei primi giorni di vita, durante i quali permangono sulla superficie delle ovature schiuse prima di allontanarsi alla ricerca di altre fonti alimentari (3). La fase "ambientale" del ciclo biologico di *P. carbekii*, durante il periodo che intercorre fra la deposizione e la schiusa delle uova, è essenziale per il mantenimento dell'associazione, garantendo un passaggio transgenerazionale

del batterio. Per questo motivo, *H. halys*, così come altri pentatomidi, rappresenta un modello ottimale per la realizzazione di strategie di CS basate sulla perturbazione di una simbiosi primaria. Tale ipotesi è supportata da evidenze sperimentali, che hanno dimostrato come insetti nati da ovature sterilizzate risultino privi di *P. carbekii* e mostrino una riduzione della sopravvivenza e una forte alterazione di diversi parametri vitali (3). Un approccio di CS contro *H. halys* è stato quindi proposto mediante l'impiego di sostanze ad attività antimicrobica al fine di eliminare *P. carbekii* dalla superficie delle ovature. Un recente studio condotto in condizioni di laboratorio ha dimostrato che l'applicazione sulle ovature di alcuni fertilizzanti integrati a base di micronutrienti è in grado di ridurre la sopravvivenza delle neanidi neonate a seguito della mancata acquisizione di *P. carbekii* (4). Infatti, questi fertilizzanti, anche consentiti in agricoltura biologica, hanno un'attività antimicrobica dovuta alla loro composizione in microelementi, che produce un "effetto accessorio" sulle popolazioni di cimice asiatica legato all'eliminazione del simbiote. I risultati più efficaci nel ridurre le popolazioni di giovani di *H. halys* sono stati ottenuti con l'impiego di fertilizzanti integrati contenenti zinco, rame e acido citrico, che hanno provocato una mortalità delle neanidi superiore al 90% prima del raggiungimento della II età (4). Lo studio ha inoltre dimostrato, mediante analisi molecolari, l'assenza di *P. carbekii* negli esemplari nati da ovature trattate, confermando l'interferenza con il processo di acquisizione del simbiote in seguito al trattamento. I risultati ottenuti suggeriscono che l'applicazione in campo di questi fertilizzanti integrati a base di micronutrienti, sulle ovature, consenta una significativa riduzione delle popolazioni di *H. halys*. Prove preliminari sono state condotte su nocciolo, una coltura particolarmente colpita dagli attacchi di *H. halys*. Le prove hanno confermato un'attività antisimbiotica a cui è seguita una significativa riduzione degli stadi giovanili della cimice rispetto alle parcelle trattate con formulati a base di deltametrina e lambda cialotrina. La diminuzione della popolazione interna al corileto si riflette anche sul danno alla raccolta, che risulta più contenuto. Questi risultati devono essere validati da ulteriori prove che consentano di stabilire la persistenza del prodotto, il numero dei trattamenti, la tempistica e la dose, al fine di fornire indicazioni precise per la definizione di protocolli di lotta. Tuttavia indicano che l'applicazione di fertilizzanti

integrati a base di microelementi appare uno strumento efficace per contenere le popolazioni di *H. halys*. Inoltre, è importante sottolineare che questi prodotti, non essendo insetticidi, non presentano alcuna interferenza con l'artropodofauna utile presente negli agroecosistemi oggetto di trattamento, pertanto sono altamente compatibili con l'attuazione della lotta biologia aumentativa, come dimostrato da prove preliminari di laboratorio condotte esponendo ovature trattate a femmine di parassitoidi oofagi indigeni che hanno efficacemente mostrato di parassitizzarle.

## **Bibliografia**

1 ARORA A.K., DOUGLAS A.E. (2017): *Hype or opportunity? Using microbial symbionts in novel strategies for insect pest control*, «Journal of Insect Physiology» 103, pp. 10-17.

2 LESKEY T.C., NIELSEN A.L. (2018): *Impact of the invasive brown marmorated stink bug in North America and Europe: history, biology, ecology, and management*, «Annual Review of Entomology» 63, pp. 599-618.

3 TAYLOR C.M., COFFEY P.L., DELAY B.D., DIVELY G.P. (2014): *The importance of gut symbionts in the development of the brown marmorated stink bug, Halyomorpha halys (Stal)*, «PLoS ONE» 9, e90312.

4 GONELLA E., ORRÙ B., ALMA A. (2019): *Egg masses treatment with micronutrient fertilizers has a suppressive effect on newly-emerged nymphs of the brown marmorated stink bug Halyomorpha halys*, «Entomologia Generalis» 39, pp. 231-238.