Rendiconti
Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL
Memorie di Scienze Fisiche e Naturali
133° (2015), Vol. XXXIX, Parte II, Tomo I, pp. 195-201

MAURIZIO CALVITTI*

La lotta biologica

Summary – This paper is a contribution to the person of Professor Gian Tommaso Scarascia Mugnozza. He had a lot of merits, but since I'm an entomologist, I would point out, in particular, the having thought and promoted, in the heart of the Mediterranean, the first bio-factory in Europe for the application of the Sterile Insect Technique, against the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* Wieddman. That project, in addition to its technical and scientific merits, brought a new way of thinking the «pest management» in agriculture. In fact, the respect of ecological and economic principles (today named «sustainability») is still the major guideline on which we base our research project for innovation in Agriculture.

Parole chiave: Tecnica di lotta col maschio sterile (SIT), radiazioni ionizzanti, lotta biologica, mosca mediterranea della frutta.

Introduzione

Prima di ogni altra considerazione, vorrei ringraziare *l'Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL* per avermi dato l'onore di poter raccontare e trattare quanto il contributo scientifico e le scelte lungimiranti del Professore Gian Tommaso Scarascia Mugnozza siano ancora attuali non soltanto nel campo delle biotecnologie vegetali, tradizionali e di nuova generazione, ma anche in altri settori della biologia applicata alla difesa delle colture agrarie. La mia trattazione ha una prospettiva un po' diversa da quella dei genetisti agrari, in quanto, in qualità di ecologo-entomologo oggi ricercatore presso il Centro ENEA della Casaccia, mi occupo di metodi di protezione delle piante coltivate, puntando l'attenzione non su come irrobustire le piante ma su come neutralizzare i principali nemici che sono appunto gli insetti fitofagi.

* ENEA – Dipartimento Sostenibilità dei Sistemi Produttivi e Territoriali. Divisione Biotecnologie ed Agroindustria. E.mail: maurizio.calvitti@enea.it

La storia

Se oggi in ENEA esiste un settore di competenza relativo ai sistemi di difesa sostenibili delle colture non possiamo che ricondurre le sue origini alle esperienze avviate e promosse dal Professore Scarascia Mugnozza verso la fine degli anni '70. Dalla conferenza di Ginevra, sull'uso pacifico delle radiazioni ionizzanti (1955), alla quale il Professore partecipò in seno ad una delegazione italiana, emersero quattro principali aree di applicazione delle radiazioni ionizzanti in agricoltura, come riportato sul rapporto tecnico pubblicato su *«La ricerca Scientifica. Anno 26°, n. 1, 1956»*: *i) «induzione di mutazioni per il miglioramento genetico delle piante»; ii) «nuovi metodi per il controllo biologico dei parassiti: la tecnica del maschio sterile»; iii) «applicazione del metodo radio-isotopi per lo studio delle relazioni suolo-pianta»; iv) «irraggiamento delle derrate per la loro conservazione»*.

Tra queste applicazioni la seconda fu un'innovazione, in quanto per la prima volta le radiazioni ionizzanti avevano come target non specie vegetali o derrate, ma gli insetti. In sostanza si voleva sfruttare l'azione mutagena delle radiazioni sulle cellule germinali maschili inducendone la sterilità (mutazioni letali dominanti) (La Chance *et al.*, 1967). Successivamente alla conferenza di Ginevra, dagli Stati Uniti d'America giunsero ben presto in Europa gli echi del successo applicativo di nuova forma di lotta agli insetti dannosi basata sul rilascio di grandi quantità di maschi sterilizzati (Sterile Insect Technique=SIT) (Knipling, 1995), mediante la quale fu possibile eradicare dall'isola Curacao la mosca del bestiame *Cochliomyia hominivorax* Tounsend, 1915 (Diptera Calliphoridae) (Lindquist, 1955). La tecnologia consisteva nell'allevamento massale della specie target, nell'irraggiamento dello stadio di pupa e nel rilascio di grandi quantità di maschi adulti sterilizzati, su vaste aree, che accoppiandosi con le femmine selvatiche ne inibivano il potenziale riproduttivo. In tal modo la tecnica aveva un target estremamente specifico e non alterava altri componenti biotici dell'agroescosistema.

In Italia e in Europa non esisteva una esperienza analogia a questa, nonostante anche nel bacino del Mediterraneo non mancassero specie di insetti aggressive e polifaghe in grado di arrecare grossi danni alle produzioni agrarie quali, ad esempio, la mosca mediterranea della frutta.

L'intuito e la lungimiranza

L'intuito e la lungimiranza del Prof. Scarascia Mugnozza possono essere analizzati da diversi punti di vista. Innanzitutto fu evidente al Professore che se da una parte la genetica classica poteva contribuire alla «bio-fortificazione delle colture», attraverso il miglioramento genetico, dall'altra andavano percorse anche strade alternative che consentissero la «bio-attenuazione» degli insetti nocivi, andandoli a colpire proprio nel cuore delle loro capacità invasive: la prolificità riproduttiva, ovvero una delle chiavi del loro successo evolutivo. La tecnica di lotta con il maschio sterile

è un fattore che viene in sostanza a contrastare fortemente l'efficienza riproduttiva di una specie dannosa, promuovendo, attraverso il rilascio di maschi sterili, la formazione di coppie non funzionali.

L'Italia, ed in particolare il Centro della Casaccia, a partire dagli anni '70 divenne un polo di riferimento per affermare, anche in Europa e nel bacino del Mediterraneo, questo approccio di lotta estremamente innovativo, che per la prima volta vedeva nel controllo degli insetti un obiettivo da raggiungere, attraverso una tecnica specie-specifica, nel rispetto dei principi di salvaguardia dell'agroecosistema. Nasceva così anche in Italia la lotta genetica, una forma di lotta biologica non basata sugli antagonismi naturali (preda-predatore, ospite parassitoide) ma sulla sterilità dei maschi delle specie da controllare.

La foto riportata in figura 1, presa dagli archivi fotografici ENEA, ci dà una idea di ciò che fu realizzato in quegli anni: un vero e proprio processo industriale di allevamento della mosca mediterranea della frutta, composto da gabbie allineate in un sistema rotante che trasportava le pupe della mosca sino al loro irraggiamento. Il sistema, molto complesso e assolutamente innovativo, può essere considerato a tutti gli effetti la prima bio-fabbrica europea, dedicata alla produzione massale di

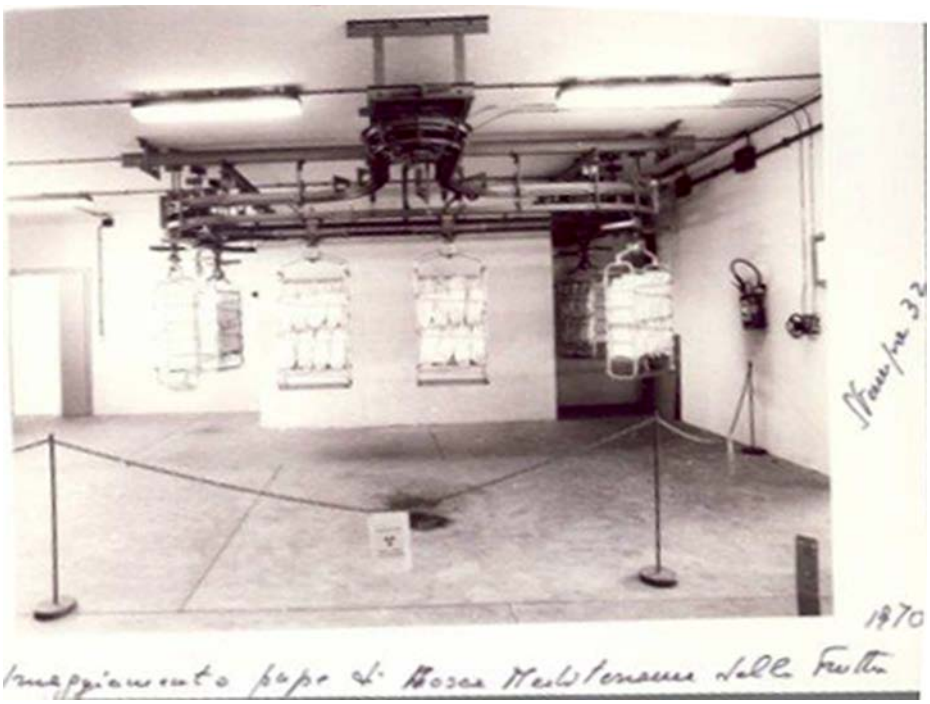

Fig. 1. Sistema di trasporto automatico delle pupe di mosca della frutta per il loro irraggiamento (ENEA Casaccia).

insetti. Secondo le stime di allora, (Cirio *et al.*, 1998) con questa metodologia venivano prodotti circa 14.000.000 di maschi sterili a settimana. Le applicazioni sperimentali vennero condotte presso l'Isola di Procida ed i risultati estremamente positivi spinsero IAEA (Intenational Atomic Energy Agency) ad avviare progetti esecutivi, ancora oggi attivi, in molte aree del mondo.

Ma mentre nel resto del mondo i progetti di lotta col maschio sterile si diffusero, in Europa ed in Italia l'approccio area-wide SIT non ebbe il successo auspicato per una serie di cause, tra cui la frammentazione della proprietà dei terreni agricoli che non consentì l'applicazione di progetti di lotta agli insetti fitofagi su vasti territori, e poi anche la difficoltà ad ottenere investimenti iniziali per avviare i progetti SIT (realizzazione infrastrutture). A partire dagli anni '80 il «mainstream» della ricerca entomologica applicata alla difesa delle coltivazioni dagli insetti parassiti si orientò verso le tecniche lotta biologica classica, ovvero il controllo degli insetti dannosi mediante il rilascio inoculativo, propagativo o inondativo di antagonisti naturali (Viggiani, 1977). Nacquero così alcune biofabbriche europee. In Italia negli anni '80 viene realizzato il «Biolab» di Cesena (oggi «Bioplanet»), per la produzione e commercializzazione di organismi utili in lotta biologica. Il SIT venne classificato come tecnica di lotta genetica ed erroneamente considerato applicabile soltanto laddove fosse possibile raggiungere la completa eradicazione della specie dannosa.

Indipendentemente dal poco successo che ebbe in quegli anni la tecnica SIT in Europa l'esperienza promossa dal Prof. Scarascia Mugnozza, contribuì in modo forte e chiaro a promuovere un modo di concepire la difesa delle colture che minimizzasse l'impatto ambientale. L'ENEA diveniva un attore protagonista in tal senso, sia sul piano nazionale che internazionale.

È proprio con queste premesse, che l'ENEA, reduce dall'esperienza SIT-Procida, negli anni '80 iniziò a sviluppare progetti di ricerca e sviluppo mirati a trasferire sul territorio, secondo le esigenze dello stesso, progetti di «Lotta Integrata», ovvero la gestione fitosanitaria delle colture nel rispetto dei principi ecologici, tossicologici ed economici. Il progetto di lotta Integrata nell'olivicoltura del comune di Canino (VT) rappresentò una vera e propria rivoluzione nel modo di contrastare i parassiti. Per la mosca dell'olivo (*Bactrocera oleae* Rossi), in particolare, si passò da trattamenti chimici effettuati a calendario, alla definizione di soglie economiche di danno, trattamenti guidati attraverso l'uso di supporti agro-informatici.

Lo stesso progetto è stato recentemente oggetto di uno studio da parte della FAO sulla valutazione nel lungo periodo di impatto socio-economico a più di 20 anni dalla sua realizzazione, evidenziandone i benefici economici, sociali ed ambientali.

L'attualità: globalizzazione, cambiamenti climatici e aumento di specie aliene-invasive

Il fenomeno dell'introduzione accidentale di specie dannose a partire dalla prima metà dell'800 non ha mai subito interruzioni e tuttora continua, nonostante le norme di quarantena e i Decreti di lotta obbligatoria. L'aumento del commercio

globale è tra i primi indiziati ad aver aumentato anche nel bacino del mediterraneo il numero di specie alloctone con potenziale invasivo (http://www.europe-aliens.org/).

Tra le specie più comuni ed aggressive che hanno attaccato le nostre colture nell'ultimo decennio un posto di rilievo meritano menzione il Cinipide del Castagno *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu 1951 (Hymenoptera Cynipidae), lo *Scaphoideus titanus* (Rinchota cicadellidae) su vite, *Diabrotica virgifera* LeConte (Coleoptera Chrysomelidae) su mais, *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera Gelechiidae) su pomodoro e *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier (Coleoptera Dryophthoridae) sulle palme. Laddove è stato possibile la lotta biologica classica ha contribuito ad arrestare l'avanzata del fitofago, stabilendo nuove condizioni di equilibrio, come nel caso dall'introduzione di *Torymus sinensis* Kamijo (Hymenoptera Torimidae) parassitoide del Cinipide del Castagno. In altri casi non è stato possibile sfruttare antagonisti naturali, e sono state necessarie sostanziali modifiche delle strategie di difesa delle rispettive colture, senza la concreta possibilità di far ricorso alla lotta biologica.

Le proiezioni che emergono dai più recenti studi climatologici di tipo modellistico, sia su scala globale che regionale e locale per l'Italia (Desiato *et al.* 2015), sono concordi nel prevedere un aumento piuttosto costante della temperatura. Gran parte di questi cambiamenti stanno determinando una significativa risalita verso le latitudini del Mediterraneo delle aree di «adattamento ecologico» di molte specie termofile di insetti di origine tropicale o subtropicale note come altamente fitofaghe.

Il problema è anche più generale e non circoscrivibile al solo ambito delle produzioni agricole. Infatti gli scenari climatologici del futuro, prospettati come probabili dall'IPCC (International Panel Climate Change) (IPCC, 2014), impongono una visione molto realistica anche dei rischi sanitari che le comunità umane delle aree temperate, di paese sviluppati come il nostro, possono correre in un futuro non molto lontano. L'esempio di *Aedes albopictus* Skuse (Diptera Culicidae) (zanzara tigre), vettore di malattie virali molto pericolose per l'uomo (Chikungunyia, Dengue, Zika) che ha colonizzato velocemente vaste aree dell'Europa meridionale, è solo uno dei molteplici casi di nuove specie aliene-invasive che stanno ampliando o modificando i loro areali di espansione. Tutto ciò ci pone di fronte all'esigenza di rispondere adeguatamente con sistemi innovativi e sostenibili sia di prevenzione che di contenimento.

Il contributo odierno delle biotecnologie entomologiche in ENEA

Oggi, valutare e gestire efficacemente a livello territoriale la molteplicità e la complessità dei problemi ecologici legati al cambiamento globale (come ad esempio le emergenze fitosanitarie causate da cambiamenti climatici e/o specie invasive) è una sfida senza precedenti che richiede un approccio olistico che sia allo stesso tempo semplificato e realistico, insieme alla disponibilità di tecnologie innovative per sviluppare rapidamente soluzioni adeguate.

L'esperienza di sviluppo ed applicazione della lotta col maschio sterile promossa dal Prof. Scarascia Mugnozza, ha lasciato in ENEA, ma non solo, un'impronta inde-

lebile sul modo di pensare la difesa delle coltivazioni, nel rispetto di quei principi ecologici che oggi sono capisaldi della sostenibilità delle produzioni.

Dal punto di vista strettamente tecnico-scientifico gli entomologi ENEA non hanno mai abbandonando la convinzione che l'inibizione del sistema riproduttivo degli insetti attraverso il loro irraggiamento e rilascio in campo fosse una metodologia efficace per il controllo ed integrabile con approcci classici di lotta biologica.

L'ENEA è ancora oggi un riferimento nazionale per progetti di lotta col maschi sterile tant'è che all'inizio degli anni 2000 è stata coinvolta in un progetto nazionale per lo sviluppo del SIT contro l'avanzata della zanzara tigre in Italia (Bellini *et al.*, 2007). Più recentemente alcune ricerche preliminari sono state condotte nel tentativo assai complesso di sviluppare questo approccio anche nella lotta contro il punteruolo rosso delle palme (Cristofaro *et al.*, 2012) In Italia, purtroppo, la veloce diffusione del punteruolo e la sottovalutazione del problema nelle sue fasi iniziali, non consente oggi l'applicazione di questo tipo di lotta che può essere invece considerata preventiva in aree dove la colonizzazione da parte del punteruolo è ancora in fase precoce.

Ma l'aspetto innovativo che vale la pena sottolineare è che oggi, grazie al progresso delle conoscenze bio-molecolari e fisiologiche dei meccanici riproduttivi di molti insetti, è stato possibile sviluppare metodi di sterilizzazione dei maschi degli insetti alternativi all'uso delle radiazioni ionizzanti. La svolta chiave è stata la scoperta delle enormi potenzialità applicative del batterio endosimbionte *Wolbachia pipientis* Hertig (*Rickettsiales*) quale agente che induce sterilità attraverso l'«incompatibilità citoplasmatica», una barriera riproduttiva post-copula tra individui della stessa specie portatori di un ceppo diverso del simbionte. Inoltre è stato dimostrato che questo batterio influenza le capacità vettoriali degli ospiti che infetta, riducendo la loro capacità di trasmissione di virus patogeni (Hoffman *et al.*, 2011).

Nell'ambito del progetto di lotta autocida alla zanzara tigre, nei laboratori ENEA abbiamo individuato un ceppo di *Wolbachia* prelevato da un'altra zanzara, la *Culex pipiens* Linnaeus (zanzara comune), che quando viene trasferito stabilmente in *Ae. albopictus*, attraverso tecniche di microiniezione embrionale produce una nuova linea di laboratorio i cui maschi sono perfettamente e stabilmente sterili se si accoppiano con le femmine selvatiche (Calvitti et al., 2011; 2015). Questo ceppo di zanzara è attualmente in valutazione in diversi laboratori del mondo nell'ambito di progetti coordinati da FAO-IAEA, con i quali ENEA dopo alcuni decenni ha ripreso a collaborare proprio sul tema dei vettori di malattie umane.

Alla luce del successo ottenuto sull'insetto modello «*Ae. albopictus*», attualmente nei laboratori della Divisione Biotecnologie e Agroindustria questo approccio è ora in corso di sperimentazione su importanti specie delle filiere agroalimentari, quali la mosca della frutta e la mosca dell'olivo.

Conclusioni

In conclusione mi sento di dire che la velocità con cui procede lo sviluppo delle biotecnologie cosiddette di nuova generazione, supportate da competenze quali la genomica, la proteomica la metabolomica, apre prospettive di ricerca e sviluppo difficilmente immaginabili solo un decennio fà.

Eppure molte delle nostre attività di ricerca nel campo delle biotecnologie sia vegetali che entomologiche ancora oggi, dopo 40 anni, si ispirano a quei principi investigativi che rappresentano la più importante eredità lasciataci dal Prof. Scarascia Mugnozza.

Ringraziamenti: Un ringraziamento particolare al Dr. Luigi Rossi, oggi Presidente FIDAF, al Dr. Ugo Cirio, Entomologo ENEA Resp. Progetto SIT Medly, che nel centro della Casaccia hanno contribuito egregiamente a dare concretezza e progettualità alle linee guida del Prof. Gian Tommaso Scarascia Mugnozza.

BIBLIOGRAFIA

Calvitti M., (2011): *Bacteria endosymbionts: a source of innovation in biotechnology for the control of vector-borne diseases*. Energia, Ambiente e Innovazione. n. 6/2011, Roma, pp. 49-57.

Calvitti M., Marini F., Moretti R., Puggioli A., Deisderio A. (2015): *Wolbachia Density and Cytoplasmic Incompatibility in Aedes albopictus: Concerns with Using Artificial Wolbachia Infection as a Vector* Suppression *Tool*. PLoS ONE | DOI:10.1371/journal.pone.0121813

Cirio U. (1998): *La tecnica dell'insetto sterile per il controllo dei fitofagi*. Energia Ambiente e Innovazione, 1/98, ENEA, pp. 47-58.

Cristofaro, M., Arnone S., Musmeci S., Sasso R., Lai A., De Biase A., *et al*., 2012. *Feasibility of SIT to control red palm weevil (Rhynchophorus ferrugineus Olivier): An integrated physiological, ecological and genetic approach*. Entomological Society of America, 60th Annual Meeting.

Desiato F., Fioravanti G., Fraschetti P., Perconti W., Piervitali E. (2015): *Il Clima futuro in Italia: analisi dei modelli regionali*- ISPRA- Stato dell'ambiente- ISBN: 978-88-448-0723-8.

IPPC (2014): Quinto Rapporto di Valutazione sui Cambiamenti Climatici (AR5) - http://www.ipcc.ch/pdf/assessment report/ar5/syr/SYR_AR5_FINAL_full.pdf.

Hoffmann *et al*., 2011. *Successful establishment of* Wolbachia *in* Aedes aegyptii *populations to suppress dengue transmission*. Nature 476,454-457(25 August 2011) doi:10.1038/nature10356

Knipling E.F., 1955. *Possibility of Insect Control or eradication through the use of sexually sterile males*. Journal of Economic Entomology, 48: 459-462.

La Chance L.E., Schmidt C.H., Bushland R.C. (1967): Radiation-induced sterilization, pp. 147-196. In W.L. Kilgore and Doutt R.L. (eds), Pest Control: biological Physical and selected chemical methoids. Academic press, New Yotk, NY USA.

Viggiani G. 1977. Lotta Biologica Integrata. Liguori Editore, 709 pp.