

Interazioni multitrofiche e bioprotezione sostenibile delle piante

Francesco Pennacchio

Università di Napoli Federico II – Dipartimento di Agraria e BAT Center, Portici (NA)

INTERAZIONI MULTITROFICHE E BIOPROTEZIONE SOSTENIBILE DELLE PIANTE

Introduzione

La vita sulla Terra è il risultato dell'evoluzione guidata, in larga misura, dalla competizione per le risorse, che ha portato alla formazione di sistemi complessi quali cellule, organismi pluricellulari, comunità ed ecosistemi. La multifunzionalità degli ecosistemi è resa possibile dalla presenza di biodiversità a diversi livelli trofici che, generando reti complesse di interazioni, conferiscono stabilità e resilienza al sistema. Questo è il principio generale su cui si basa il concetto di "One-Health", che afferma che la salute e il benessere dell'uomo sono indissolubilmente legati alla salute di altri componenti dell'ecosistema come suolo, piante e animali.

In questo contesto, il ruolo dei microrganismi è sempre più riconosciuto come cruciale. Essi sono associati a tutte le forme di vita, creando interconnessioni che condizionano il loro funzionamento e quello degli ecosistemi di cui fanno parte. Infatti,

è ormai ben noto che le comunità microbiche associate a piante, animali ed esseri umani funzionano come un "secondo genoma", contribuendo a un "genotipo esteso" di un'unità evolutiva complessa, "olobionte", che modula la crescita, la sopravvivenza e, in ultima analisi, la *fitness* e l'evoluzione degli organismi viventi. Pertanto, il funzionamento degli ecosistemi si basa sull'efficiente allocazione delle risorse tra gli olobionti che competono per il loro utilizzo, i quali costituiscono un vero e proprio superorganismo regolato da una rete di complesse interazioni trofiche.

Crescenti evidenze scientifiche supportano l'ipotesi che il microbioma del suolo e le sue interazioni con altri microbiomi associati a vari organismi siano di importanza centrale nel contesto "One-Health". Tuttavia, la nostra conoscenza su come queste comunità microbiche interagiscano e influenzino i livelli trofici interconnessi rimane frammentaria, e il quadro che collega il microbioma del suolo alla salute di piante,

animali ed esseri umani è ancora incompleto. L'analisi di queste articolate interazioni, a cavallo di diversi livelli trofici, è attualmente limitata anche per la difficoltà di indagare i complessi legami funzionali che si instaurano fra regni diversi.

Lo studio delle interazioni multitrofiche insetto-pianta offre notevoli opportunità per l'approfondimento di queste conoscenze, in quanto gli artropodi sono elementi centrali in tutti gli ecosistemi naturali e negli agroecosistemi, rivestendo ruoli ecologici ed economici di massima importanza. L'analisi dei processi di co-evoluzione che hanno plasmato le strategie di attacco adottate dai fitofagi per superare le barriere di difesa delle piante ha consentito la scoperta di sostanze naturali di origine vegetale in grado di interferire direttamente con la fisiologia degli insetti, condizionandone sviluppo, sopravvivenza e riproduzione, e la descrizione dei meccanismi molecolari che ne regolano la biosintesi. Queste difese dirette sono affiancate da difese indirette, ovvero da modificazioni metaboliche delle piante che determinano l'emissione di segnali chimici in grado di attrarre antagonisti naturali dei fitofagi, come dimostrato da molteplici studi che hanno contribuito a definire le complesse interazioni tra più livelli trofici. Infine, la crescente disponibilità di tecnologie d'indagine molecolare ha consentito di fare luce sull'importante ruolo dei microrganismi associati agli organismi che interagiscono.

Questa breve nota vuole fornire una visione generale sull'importanza di comprendere i meccanismi alla base delle interazioni tra olobionti all'interno di complesse reti trofiche. Gli studi in questo ambito sono utili per sviluppare (1) una visione olistica della valutazione del rischio associata all'introduzione nell'ambiente di agenti di stress in grado di perturbare queste delicate interazioni trofiche e (2) nuove strategie di controllo ispirate da queste interazioni che

prevedono l'uso di organismi e microrganismi quali agenti di biocontrollo e/o di molecole di origine naturale.

Interazioni multitrofiche insetto-pianta: un modello di studio per una nuova analisi dei rischi ecologici

Le piante catturano l'energia solare consentendo l'organizzazione del carbonio e la sua immissione nella catena alimentare, dove avviene una fitta competizione per le risorse fra organismi che fanno parte di complesse reti trofiche. La condizione di equilibrio dinamico di questi sistemi deve prevedere un'allocazione ottimale delle risorse ad ogni livello trofico e il ritorno al suolo di materia ed energia in grado di supportare in modo adeguato la produzione primaria. Questo equilibrio dinamico è sotteso al funzionamento di tutti gli ecosistemi e ogni fattore di perturbazione esterno può avere un effetto sulla loro stabilità, la cui misurazione può fornire una buona stima dell'impatto ambientale di tale fattore. Tuttavia, l'applicazione di questo principio non è banale, in quanto richiede una conoscenza accurata dei meccanismi di competizione ai diversi livelli trofici della rete, che, a partire dal dettaglio molecolare e funzionale degli organismi, permetta di sviluppare modelli che descrivano il funzionamento di una realtà di complessità crescente, che include, via via, le popolazioni, le comunità e gli ecosistemi. Un tale approccio è oggi reso perseguibile grazie alla crescente disponibilità di raffinati strumenti di indagine molecolare e di potenti sistemi di calcolo, necessari per la simulazione di sistemi complessi.

Le interazioni fra insetti e piante rappresentano un sistema ideale per lo studio delle reti trofiche. Gli insetti, infatti, offrono opportunità uniche per caratterizzare i meccanismi molecolari alla base delle interazioni trofiche a più livelli; essi, inoltre, sono modelli sperimentali relativamente semplici da utilizzare e, fattore ancora più

importante, hanno un ruolo centrale negli ecosistemi terrestri, dove mobilizzano un'enorme quantità di materia ed energia.

Esiste una considerevole mole di informazioni sul ruolo svolto dal microbiota del suolo nel promuovere la salute del suolo stesso e delle piante, stimolando in queste ultime la crescita e la difesa contro agenti di stress biotico, come patogeni e parassiti animali. Numerosi studi hanno dimostrato che i microrganismi del suolo possono

attivare nelle piante meccanismi di difesa diretti e indiretti, con effetti, quindi, sia sui fitofagi sia sui loro antagonisti naturali. Un recente studio ha consentito di scoprire che il fungo del suolo *Trichoderma afroharzianum* induce resistenza nelle piante di pomodoro nei confronti delle larve del lepidottero *Spodoptera littoralis*, causando una grave disbiosi intestinale che comporta la riduzione del contributo nutrizionale dei simbionti intestinali (Fig.1).

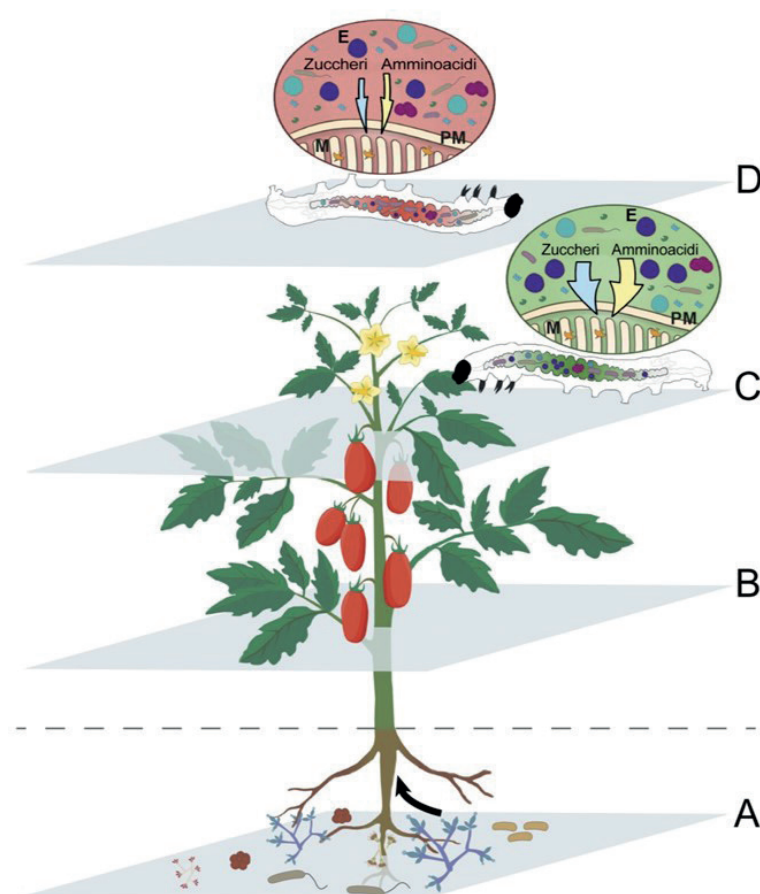


Fig. 1 Rappresentazione schematica delle interazioni fra la pianta di pomodoro (*Solanum lycopersicum*), il fungo del suolo *Trichoderma afroharzianum*, la larva del lepidottero *Spodoptera littoralis* e il suo microbiota intestinale. La colonizzazione delle radici di pomodoro da parte di *T. afroharzianum* (A) condiziona in modo sistemico la pianta (B), che, ingerita dalle larve di *S. littoralis* (D), causa rallentamento dello sviluppo e aumento della mortalità dell'insetto. I meccanismi alla base di questi effetti non dipendono da alterazioni della struttura dell'epitelio intestinale e/o della funzionalità digestiva dell'intestino, ma piuttosto dall'induzione di una disbiosi nella comunità microbica intestinale. La disbiosi causa la riduzione dell'apporto nutrizionale da parte di una componente microbica simbiotica (*Enterococcus casseliflavus*). E: *Enterococcus casseliflavus*; M: microvilli; PM: membrana peritrofica; le varie forme di colore arancione, verde e blu chiaro (legate ai microvilli o presenti nel lume intestinale delle larve) rappresentano gli enzimi digestivi; nel lume intestinale è anche rappresentata la comunità microbica.

Tale disbiosi è associata a un alterato profilo di espressione di geni immunitari nell'intestino e a una ridotta immunocompetenza sistemica delle larve, che risultano così più suscettibili all'attacco di agenti patogeni. Questo effetto del microbiota del suolo, che attraverso il potenziamento delle difese delle piante compete attivamente con agenti di stress biotici epigei per assicurarsi il ritorno di maggiori risorse, è contrastato da effetti opposti innescati da parassiti e patogeni dei fitofagi che, riducendo la competenza immunitaria dei loro insetti ospiti per poterli attaccare, ne determinano una minore capacità di elicitare le risposte di difesa delle piante, che risulterebbero, indirettamente, dannose anche per loro. Ciò discende dal fatto che immunità e composizione del microbiota intestinale negli insetti sono funzionalmente interconnessi. Ad esempio, la soppressione immunitaria indotta da un virus simbiote di alcuni parassitoidi di larve di lepidotteri determina un'alterazione del microbiota intestinale che, a sua volta, causa un abbassamento dei livelli di elicitatori di origine batterica coinvolti nell'induzione delle risposte di difesa delle piante. L'effetto risultante è un ovvio incremento della *fitness* dei parassitoidi che inducono tali alterazioni. Inoltre, queste modifiche metaboliche indotte in pianta hanno effetti non solo sulle interazioni epigee appena descritte, ma possono avere effetti anche sulle interazioni fra la pianta e i microrganismi del suolo, condizionando la strutturazione della comunità microbica della rizosfera, in linea con l'esigenza di ridurre l'induzione di risposte di difesa della pianta.

Queste evidenze sperimentali mettono in risalto che per comprendere i complessi meccanismi alla base delle intricate interazioni multitrofiche è fondamentale considerare le "entità" interagenti come olobionti e che la propagazione di queste onde di perturbazione opposte, che attraversano livelli trofici differenti, è in parte

mediata dalla cross-modulazione tra il microbioma intestinale e la risposta immunitaria, aspetto funzionale di ampia validità, ben caratterizzato negli insetti e in altri animali, compresi i mammiferi. Pertanto, gli effetti che agenti di stress, sia biotici che abiotici, possono avere su microbiota intestinale e immunità vanno considerati con grande attenzione poiché possono avere un impatto rilevante sulle interazioni. Questa assunzione è corroborata da diverse osservazioni sperimentali sugli effetti che alcuni agrofarmaci di sintesi, come gli insetticidi neonicotinoidi, hanno sulla competenza immunitaria e la composizione del microbiota intestinale, concorrendo al declino della salute delle api e alla proliferazione di parassiti e patogeni che si osserva in associazione alla sindrome del collasso delle colonie. La comprensione dei meccanismi molecolari che regolano le interazioni fra olobionti è, quindi, di cruciale importanza per analizzare la dinamica delle reti trofiche, per studiare in modo approfondito le interazioni che si instaurano fra regni diversi e comprenderne il significato funzionale. Questo aspetto è essenziale per valutare il rischio associato a qualsiasi strumento o agente di controllo utilizzato in agricoltura per il controllo di patogeni e insetti dannosi, in particolare per valutare l'impatto che essi possono avere sulle reti trofiche e quindi sugli ecosistemi.

Tuttavia, la transizione dalla conoscenza molecolare delle interazioni fra olobionti alla valutazione delle loro implicazioni a livello di popolazione, comunità ed ecosistema è molto complessa. Sono necessari approcci modellistici che prendano in considerazione fattori dipendenti dal contesto spazio-temporale, indispensabili per valutare le modifiche del sistema in risposta a una perturbazione applicata a una qualsiasi delle sue componenti. Questi sistemi possono essere efficacemente rappresentati da reti di interazioni, dove i nodi sono le componenti individuali e i segmen-

ti le loro interazioni. L'analisi di queste reti consente di individuare i nodi-chiave, di comprendere i modelli di connettività e di predire come le perturbazioni applicate in un punto specifico possano influenzare la dinamica e la stabilità dell'intero sistema. Questi sono i principali obiettivi che la ricerca deve perseguire per potere comprendere l'intricato funzionamento degli ecosistemi e predirne il comportamento in scenari mutevoli, al fine di sviluppare strategie efficaci per ridurre l'impatto ambientale delle attività umane, fra le quali l'agricoltura ha un peso rilevante.

Un approccio di questo tipo rende possibile la valutazione del rischio associato all'uso di qualsiasi strategia e/o strumento di protezione della produzione agricola, inclusi gli agrofarmaci, per i quali esiste una consolidata e valida procedura di valutazione del rischio tossicologico, mentre manca una procedura di valutazione olistica, basata su solide evidenze scientifiche, dell'impatto che queste sostanze hanno sulle interazioni trofiche che sono alla base della stabilità degli agroecosistemi, garantendone, così, la loro resilienza. Questa è un'importante esigenza non solo per gli agrofarmaci di sintesi, ma anche per tutti gli antagonisti naturali degli agenti dannosi alle piante e molecole di varia origine rientranti fra i pesticidi considerati a basso rischio tossicologico, ma che non necessariamente lo sono anche a livello ecologico. Dare una risposta concreta in questa direzione fornirebbe un notevole contributo al complesso scenario di valutazione del rischio, rendendolo molto più completo, e garantirebbe le conoscenze di base per una valutazione degli effetti associati all'uso di determinate sostanze/organismi molto più ampia e realistica.

Le interazioni antagonistiche degli insetti come fonte di nuovi strumenti e strategie di bioprotezione delle piante

Gli insetti all'interno delle reti trofiche degli

ecosistemi terrestri hanno instaurato innumerevoli forme di simbiosi che vanno dal mutualismo all'antagonismo. Il mutualismo, in molti casi, ha consentito la colonizzazione di nicchie ecologiche particolarmente difficili dal punto di vista nutrizionale. Il controllo simbiotico degli insetti, proposto in particolare per i fitomizi, è finalizzato proprio all'interruzione di un intimo mutualismo con specifici microrganismi, essenziale per la sopravvivenza. Diverse sono le strategie perseguibili a tale fine, ma la loro trattazione esula dalle finalità di questo contributo, che, invece, è focalizzato sulla utilizzazione delle conoscenze dei meccanismi sottesi alle interazioni antagonistiche, modellate da lunghi processi co-evolutivi, al fine di mimare strategie naturali di soppressione degli insetti. Lo studio dei meccanismi di virulenza e delle barriere di difesa che si contrappongono nelle diverse interfacce di contatto fra gli insetti e i loro antagonisti naturali consente di individuare nuove molecole con attività insetticida o geni la cui alterazione dei livelli di espressione può determinare una riduzione della *fitness* delle specie dannose. Questa non è certamente una novità, se si considera la notevole letteratura relativa alle sostanze insetticide di origine vegetale e microbica e i non pochi prodotti commerciali da esse derivati, non necessariamente a basso impatto ambientale e tossicologico solo perché di origine naturale.

In natura, le barriere di difesa delle piante sono molteplici, complementari e sinergiche, il cui effetto complessivo, non di rado, passa attraverso l'induzione di modifiche del microbiota intestinale dei fitofagi, attraverso forme di disbiosi disfunzionali che, talora, vedono talune specie batteriche passare da commensali a patogene. Tali barriere di difesa delle piante vengono attivate attraverso meccanismi di trasduzione del segnale di danno, i cui dettagli molecolari sono oggetto di approfonditi studi funzionali. Le crescenti conoscenze

che ne scaturiscono consentono la definizione di strategie di modulazione dei percorsi di attivazione delle risposte di difesa, anche attraverso l'utilizzazione di molecole segnale prodotte dalle piante in risposta al danno.

In questo ambito, un esempio molto interessante dal punto di vista applicativo è l'uso di un peptide ormonale, la sistemina, originariamente individuata in pomodoro e poi in altre solanacee, la cui somministrazione in pianta, ottenibile non solo attraverso un approccio transgenico, ma anche con trattamento fogliare a dosi femtomolari, induce l'espressione di geni di resistenza che esercitano un'efficace azione di controllo nei confronti di larve di lepidottero (*S. littoralis*) e di patogeni necrotrofici (*Alternaria alternata* e *Botrytis cinerea*). Studi più recenti hanno dimostrato che la porzione del pro-ormone prosistemina, che precede la sequenza del peptide attivo, ha una spiccata capacità di attivazione di analoghe risposte di difesa in pianta contro parassiti animali e patogeni. L'analisi *in silico* di queste sequenze ha consentito l'individuazione di brevi regioni ripetute, facilmente sintetizzabili, che inducono, a seguito di trattamenti fogliari o radicali a dosaggi femtomolari, efficaci risposte di difesa non solo nelle solanacee. Inoltre, piante trattate con questi peptidi presentano incrementi di crescita e di produzione. Tali peptidi, coperti da brevetto internazionale, rappresentano uno strumento molto promettente per lo sviluppo di prodotti commerciali in grado di stimolare crescita e difesa delle piante. Inoltre, l'uso combinato di questi peptidi con microrganismi benefici mostra interessanti effetti sinergici certamente degni di attenzione.

Passando dall'interfaccia pianta-insetto al livello trofico superiore insetto-antagonisti naturali, ritroviamo un serbatoio di biodiversità molecolare ricco di soluzioni in grado di impattare in modo negativo sul-

la fisiologia e sopravvivenza degli insetti, sviluppate attraverso il continuo confronto evolutivo fra strategie di virulenza di chi attacca e barriere immunitarie di chi si difende. I predatori, quali ad esempio ragni e scorpioni, così come alcuni imenotteri parassitoidi (ectofagi che inducono paralisi dell'ospite) hanno veleni che contengono un numero significativo di tossine, molte delle quali colpiscono il sistema nervoso, in grado di indurre paralisi e morte negli invertebrati ospiti. In alcuni casi queste neurotossine sono altamente selettive, avendo tossicità elevata nei confronti degli artropodi e nulla per i mammiferi. Ciò rende queste molecole particolarmente interessanti per il controllo degli insetti dannosi e sono impiegate in molte attività di sviluppo industriale di nuovi prodotti insetticidi. Poiché queste neurotossine sono essenzialmente peptidi o proteine, la messa a punto di adeguate formulazioni deve prevedere lo sviluppo di strategie per esaltare la permeabilità intestinale nei loro confronti, naturalmente ridotta o nulla, in modo da renderle attive anche a seguito di somministrazione orale. Questo obiettivo viene perseguito sviluppando proteine di fusione costituite dalla neurotossina bioattiva e da un dominio proteico che ne facilita il passaggio attraverso la barriera intestinale (Fig. 2). Fra le diverse opzioni disponibili, ci sono la lectina del bucanave o l'albumina bovina, proteine in grado di superare tale barriera e che si sono dimostrate validi *carrier*. La produzione su scala industriale di queste proteine di fusione può essere realizzata in modo economicamente sostenibile utilizzando come sistema di espressione il lievito *Pichia pastoris*.

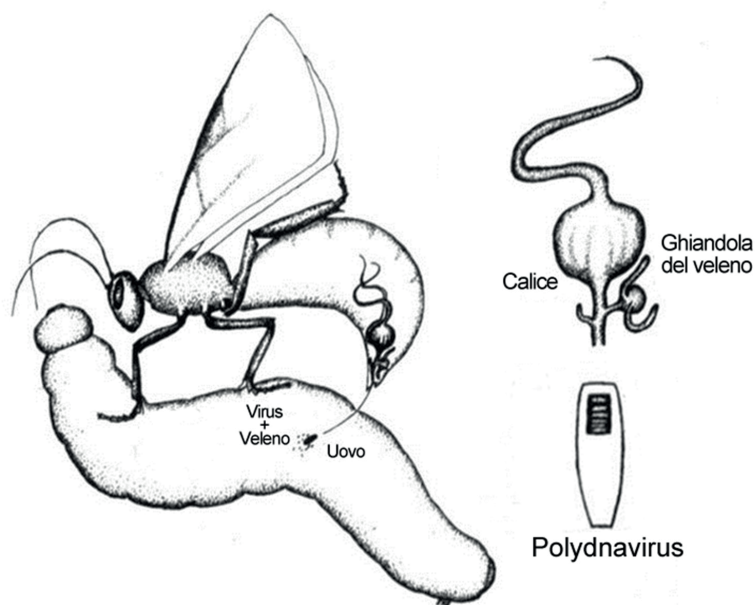


Fig. 2 Le femmine di alcuni imenotteri parassitoidi endofagi di larve di lepidotteri iniettano nell'ospite con l'ovopositore l'uovo e secreti materni, veleno e fluido del calice ovarico, quest'ultimo ricco di virus appartenenti alla famiglia Polydnviridae. Questi secreti hanno un ruolo fondamentale nella regolazione della fisiologia dell'ospite perché inducono immunosoppressione e una serie di alterazioni metaboliche e neuroendocrine necessarie a favorire lo sviluppo degli stadi giovanili del parassitoide.

Le femmine adulte dei parassitoidi endofagi di insetti mostrano strategie molto fini di regolazione della fisiologia dell'ospite, che non viene paralizzato o portato a morte in tempi rapidi, ma soggiace a una profonda soppressione del sistema immunitario e a diverse alterazioni metaboliche, di sviluppo e riproduzione. La risultante regolazione dell'ospite ha essenzialmente la funzione di evitare la soppressione immunitaria delle uova del parassitoide o dei suoi stadi giovanili e di realizzare nel corpo della vit-

tima le condizioni nutrizionali idonee a garantirne lo sviluppo ottimale. I fattori di regolazione coinvolti nell'induzione di queste modifiche funzionali sono di origine principalmente materna, in quanto le femmine iniettano all'ovideposizione il veleno e, in alcuni casi, anche virus simbiotici (polydnvirus) che codificano fattori di virulenza esclusivamente espressi nei tessuti dell'ospite che sono in grado di infettare, senza replicarsi (Fig. 3).

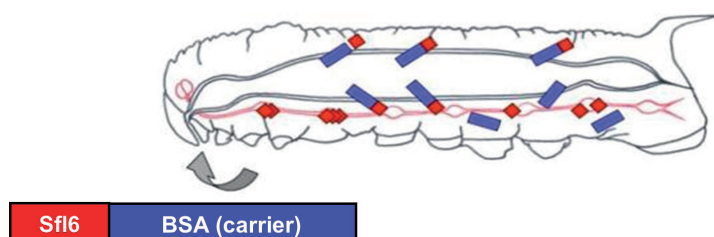


Fig. 3 La neurotossina Sfl6, presente nel veleno del ragno predatore *Segestria florentina*, interferisce con la trasmissione dell'impulso nervoso alterando i canali voltaggio-dipendenti per il sodio degli artropodi. Per consentire a questa molecola di raggiungere il target (le cellule del sistema nervoso) e di esercitare la sua azione tossica a seguito di somministrazione orale, è necessario veicarla attraverso la barriera intestinale, naturalmente non permeabile alla neurotossina. L'utilizzo di una proteina di fusione con l'albumina bovina (BSA) ne consente il trasporto transepiteliale, data la capacità della BSA di essere assorbita per transitosi.

Pertanto, veleno e polydnavirus sono un “concentrato naturale” di molecole che hanno un notevole impatto negativo sulla fisiologia e sopravvivenza degli insetti e rappresentano, quindi, un serbatoio unico di molecole naturali a potenziale azione insetticida. Esse possono essere utilizzate alla stessa stregua delle neurotossine presenti nel veleno dei predatori e di altri parassitoidi, attraverso lo sviluppo di prodotti di fusione che sono in grado di superare la barriera intestinale e raggiungere i *target* presenti nella cavità del corpo dell'insetto (emocele). Recenti studi hanno dimostrato, però, che una proteina codificata da un polydnavirus associato a un parassitoide di larve di lepidotteri, ricca di domini ripetuti di anchirina, esercita da sola tossicità orale nei confronti del lepidottero *S. littoralis*, dell'afide delle leguminose, *Acyrtosiphon pisum*, e della mosca mediterranea della frutta, *Ceratitis capitata*, interferendo con la capacità di assorbimento dei nutrienti a livello intestinale e/o alterando la struttura epiteliale dell'intestino medio.

Lo studio delle basi funzionali delle interazioni ospite-parassitoide ha consentito di individuare i target dei fattori di virulenza del parassitoide nell'insetto ospite e i percorsi di regolazione fisiologica da essi controllati. Ciò ha permesso l'identificazione dei geni immunitari dell'ospite la cui modulazione negativa in seguito alla parassitizzazione genera fenotipi immunosoppressi. Tali fenotipi possono essere riprodotti in modo molto efficiente attraverso silenziamento mediato da RNA interference (RNAi) dei geni individuati. Di particolare interesse è risultata l'induzione di un fenotipo immunosoppresso attraverso il silenziamento nelle larve di *S. littoralis* di un gene immunitario denominato *S102*. Le larve che ingeriscono il dsRNA102 sono molto più suscettibili all'azione della δ endotossina del batterio *Bacillus thuringiensis*, in quanto la setticemia letale che essa induce risulta molto più marcata in queste

larve rispetto ai controlli, con una riduzione della DL_{50} di un fattore superiore a 5. Questa sinergia consente una significativa riduzione dei dosaggi, con ovvi vantaggi economici e un più basso rischio d'insorgenza di resistenza. Inoltre, dal punto di vista ecologico, una strategia di lotta che esalta il contributo degli agenti di controllo biologico senza rilasciare sostanze tossiche tutela i servizi ecosistemici, riducendo il rischio che si inneschino squilibri nelle reti trofiche quale conseguenza dell'immissione nell'ambiente di molecole ad attività insetticida di qualsiasi origine.

Il gene *S102*, oltre a essere espresso nelle cellule immunitarie e avere un ruolo nelle risposte di difesa dell'insetto, viene espresso anche negli embrioni, regolandone lo sviluppo. Il silenziamento di questo gene durante lo stadio embrionale, attraverso immersione delle uova in una soluzione contenente dsRNA102, comporta una mortalità prossima al 90% e le poche larve che schiudono mostrano, a loro volta, una mortalità prossima all'80% a due giorni dalla schiusa. Questo risultato è anch'esso estremamente interessante, visti i recenti risultati in termini di formulazione di prodotti a base di dsRNA che ne consentono il passaggio sia attraverso la cuticola sia attraverso il corion delle uova. La definizione di formulazioni di sostanze di origine naturale o di prodotti a base di microrganismi volte a proteggere la componente attiva dalla degradazione ambientale e/o ad aumentare il raggiungimento del *target*, è uno dei più importanti ambiti da sviluppare nell'immediato futuro, sfruttando in modo virtuoso gli enormi progressi tecnologici realizzati in questa importante area di ricerca e sviluppo.

Conclusioni

Questa breve nota, senza avere la pretesa della completezza di analisi della vasta letteratura esistente sui numerosi aspetti considerati, consente di apprezzare la

grande importanza che hanno per la gestione ambientale le conoscenze dei meccanismi alla base del funzionamento delle complesse interazioni esistenti nelle reti trofiche degli ecosistemi naturali e agrari. Attraverso queste conoscenze è possibile, infatti, non solo sviluppare nuovi metodi di bioprotezione delle piante, apprendendo dalla natura strategie di soppressione degli insetti dannosi, ma anche misurarne il loro impatto sulle relazioni trofiche che sono alla base della stabilità e resilienza degli ecosistemi. Tutto questo dà un notevole contributo all'incremento della sostenibilità della produzione alimentare, grazie a una conoscenza approfondita della natura, da usare sempre più responsabilmente per preservarla e consegnarla alle generazioni future.

Bibliografia

1. Annoscia, D., Di Prisco, G., Becchimanzi, A., Caprio, E., Frizzera, D., Linguadoca, A., Nazzi, F., Pennacchio, F. (2020) Neonicotinoid Clothianidin reduces honey bee immune response and contributes to Varroa mite proliferation. *Nature Communications*, 11 (1): 5887. DOI: <https://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-19715-8>
2. Banerjee, S., van der Heijden, M.G.A. (2023). Soil microbiomes and one health. *Nature Reviews Microbiology*, 21(1):6-20. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00779-w>
3. Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D. et al. (2020). Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*, 8 (103). <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00875-0>
4. Biere, A., Bennett, A.E. (2013). Three-way interactions between plants, microbes and insects. *Functional Ecology*, 27:567-573. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12100>
5. Caccia, S., Di Lelio, I., La Stora, A., Marinelli, A., Varricchio, P., Franzetti, E., Banyuls, N., Tettamanti, G., Casartelli, M., Giordana, B., Ferré, J., Gigliotti, S., Ercolini, D., Pennacchio, F. (2016). Midgut microbiota and host immunocompetence underlie *Bacillus thuringiensis* killing mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113 (34): 9486-9491. DOI: <https://dx.doi.org/10.1073/pnas.1521741113>
6. Caccia, S., Astarita, F., Barra, E., Di Lelio, I., Varricchio, P., Pennacchio, F. (2020) Enhancement of *Bacillus thuringiensis* toxicity by feeding *Spodoptera littoralis* larvae with bacteria expressing immune suppressive dsRNA. *Journal of Pest Science*, 93: 303-314. <https://doi.org/10.1007/s10340-019-01140-6>
7. Castaldi, V., Langella, E., Buonanno, M., Di Lelio, I., Aprile, A. M., Molisso, D., Criscuolo, M. C., D'Andrea, L. D., Romanelli, A., Amoresano, A., Pinto, G., Illiano, A., Chiaiese, P., Becchimanzi, A., Pennacchio, F., Rao, R., Monti, S. M. (2024). Intrinsically disordered Prosystemin discloses biologically active repeat motifs. *Plant Science*, 340: 111969. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2023.111969>
8. Di Lelio, I., Forni, G., Magoga, G., Brunetti, M., Bruno, D., Becchimanzi, A., De Luca, M.G., Sinno, M., Barra, E., Bonelli, M., Frusciante, S., Diretto, G., Digilio, M.C., Woo, S.L., Tettamanti, G., Rao, R., Lorito, M., Casartelli, M., Montagna, M., Pennacchio, F. (2023) A soil fungus confers plant resistance against a phytophagous insect by disrupting the symbiotic role of its gut microbiota. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 120 (10): e2216922120. DOI: <https://dx.doi.org/10.1073/pnas.2216922120>
9. Di Prisco, G., Cavaliere, V., Annoscia, D., Varricchio, P., Caprio, E., Nazzi, F., Gargiulo, G., Pennacchio, F. (2013) Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110 (46): 18466-18471. DOI: <https://dx.doi.org/10.1073/pnas.1314923110>
10. Di Prisco, G., Annoscia, D., Margiotta, M., Ferrara, R., Varricchio, P., Zanni, V., Caprio, E., Nazzi, F., Pennacchio, F. (2016) A mutualistic symbiosis between a parasitic mite and a pathogenic virus undermines honey bee immunity and Health. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113 (12): 3203-3208. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1523515113>
11. Levin, S. A. (1992). The problem of pattern and scale in ecology: The Robert H. MacArthur Award Lecture. *Ecology*, 73(6):1943-1967. <https://doi.org/10.2307/1941447>
12. Nazzi, F., Brown, S.P., Annoscia, D., Del Piccolo, F., Di Prisco, G., Varricchio, P., Vedova, G.D., Cattonaro, F., Caprio, E., Pennacchio, F. (2012) Synergistic parasite-pathogen interactions mediated by host immunity can drive the collapse of honeybee colonies. *PLoS Pathogens*, 8 (6): e1002735. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002735>
13. Pennacchio, F., Strand M. R. (2006) Evolution of developmental strategies in parasitic Hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, 51: 233-258. doi:10.1146/annurev.ento.51.110104.151029.
14. Shikano, I., Rosa, C., Tan, C. W., Felton, G. W. (2017) Tritrophic Interactions: Microbe-Medi-

ated Plant Effects on Insect Herbivores. Annual Review of Phytopathology, 55: 313-331. doi: 10.1146/annurev-phyto-080516-035319.

15. Topping, C.J., Alroe, H.F., Farrell, K.N., Grimm, V. (2015) *Per Aspera ad Astra: Through Complex Population Modeling to Predictive Theory. American Naturalist*, 186(5):669-674. <https://doi.org/10.1086/683181>