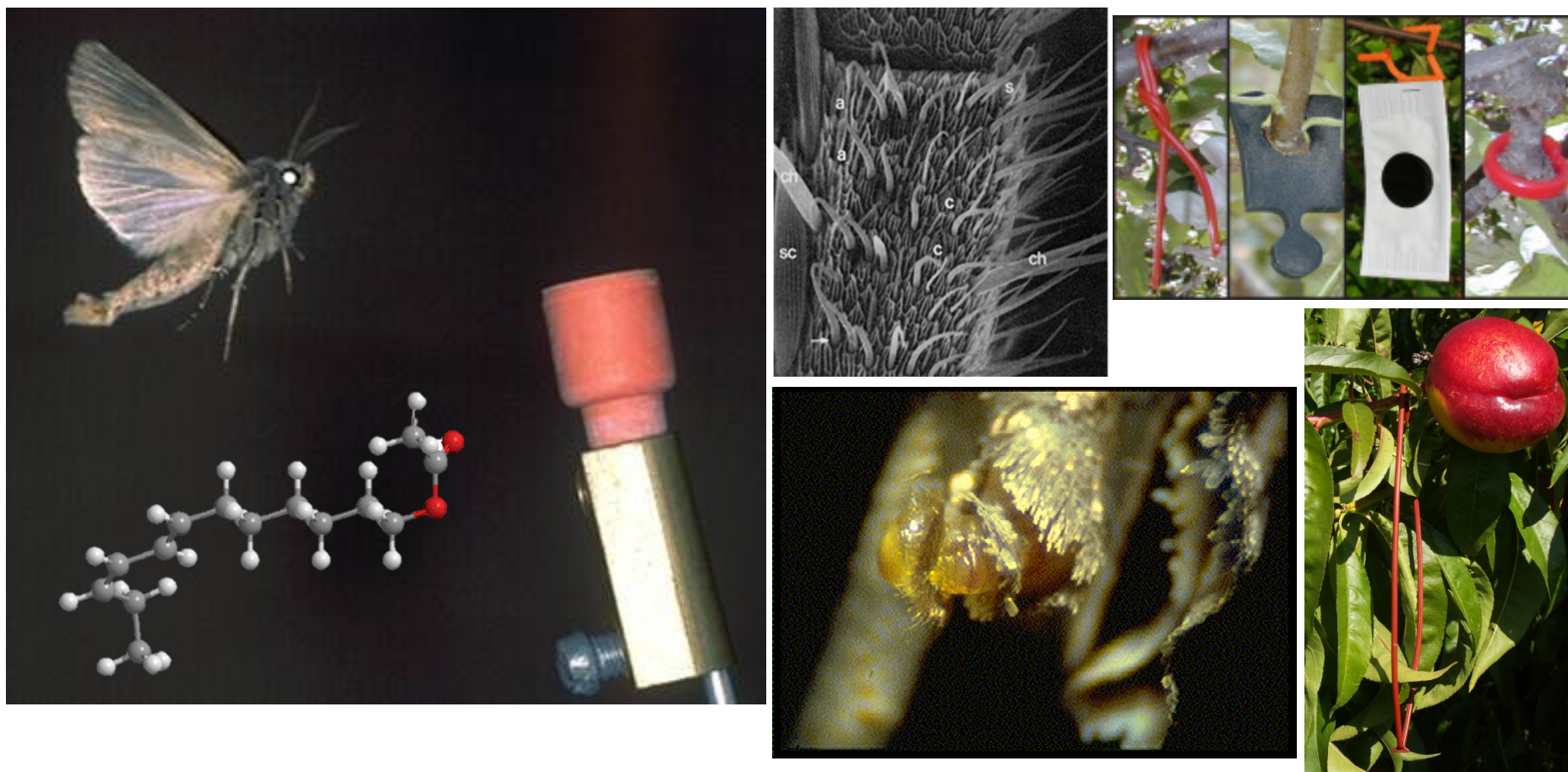


I feromoni e la confusione sessuale per il controllo dei Lepidotteri dannosi alle colture agrarie



Ordine degli Agronomi di Napoli 2 marzo 2016

Feromoni

storia

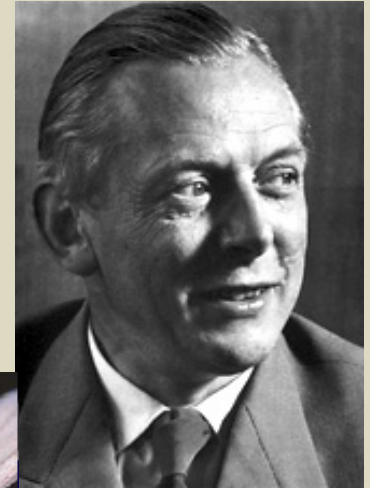


Jean-Henri Fabre
1823-1915

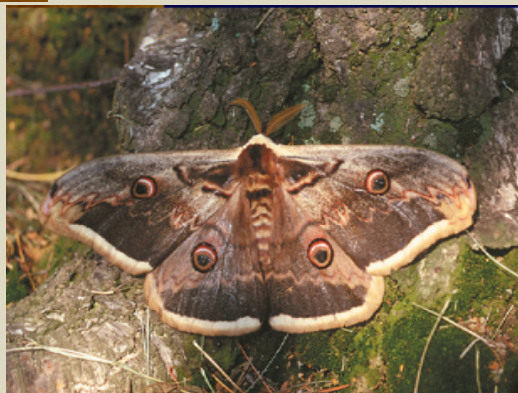
Prima evidenza di sostanze
di comunicazione
(1879)

Adolf Butenandt
1903-1995

Identificazione del
Bombicolo
(1959)



I feromoni



- **Karlson e Lüscher (Nature, 1959)**
Sostanze che, secrete da un individuo e ricevute da un altro **della stessa specie**, determinano una reazione specifica
- **Fanno parte dei “semiochimici”**

Feromoni storia

“50 anni di feromoni”



T. Wyatt 2009 - Fifty years of pheromones
Nature - Vol. 457 15 January 2009

OPINION

NATURE | Vol 457/15 January 2009

ESSAY

Fifty years of pheromones

Powerful chemical signals have been identified in moths, elephants and fish, recounts **Tristram D. Wyatt**. But, contrary to stories in the popular press, the race is still on to capture human scents.

Fifty years ago this month, Peter Karlson and Martin Lüscher proposed a new word for the chemicals used to communicate between individuals of the same species: pheromones¹. Since then, pheromones have been found across the animal kingdom, sending messages between courting lobsters, alarmed aphids, suckling rabbit pups, around-bulking termites and trail-following ants. They are also used by algae, yeast, ciliates and bacteria.

The new word met a pressing need. Karlson had discussed it with his colleague Adolf Butenandt, who was about to publish the first chemical identification of a pheromone — bombykol, the sex pheromone of the silk moth *Bombyx mori*. The bombykol paper showed the equivalent of Koch's postulates for establishing causal relationships for pheromones: isolation, identification, synthesis and bioassay confirmation of activity². Butenandt's work established that chemical signals between animals exist and can be identified, marking the start of modern pheromone research. Popular speculation about human pheromones, still going strong today, began too.

The idea of chemical communication was not new in 1959. The ancient Greeks knew that the secretions of a female dog in heat attracted males. Charles Butler had warned in *The Female Monarchie* (1699) that if you are stung by one honeybee, "other bees smelling the make favour of the poison cast out with the sting will come about you as thick as hail". In *The Descent of Man, and Selection in Relation to Sex* (1871), Charles Darwin included chemical signals alongside visual and auditory cues as outcomes of sexual selection, describing the success of the smallest among breeding male crocodiles, ducks, goats and elephants. Jean-Henri Fabre, also in the 1870s, described how male emperor moths flocked around a female moth hidden behind wire-gauze, but ignored visible females sealed under glass. Surely her smell was the attraction.

In 1932, the physiologist Albrecht Bethe had proposed the broad term 'ectohormone' to cover many kinds of chemical interaction, including communication or attraction of an animal to a food smell. Karlson and Lüscher wanted a term that more narrowly covered communication between members of the same species, but more broadly allowed for those chemicals to be created by a variety of organs ('hormones' by definition come from the endocrine glands). Their new

term, from the Greek *pherein* for 'to transfer', and *hormōnē* to excite, at a stroke replaced ectohormone. 'Pheromone' was sonorous, and close enough to 'hormone' to imply some similarities along with the differences: like hormones, pheromones could be expected to be specific, and active in minute amounts. They defined pheromones as: "substances which are secreted to the outside by an individual and received by a second individual of the same species, in which they release a specific reaction, for example, a definite behaviour or a developmental process". The new word and definition stuck.

Feast for the senses

Karlson and Lüscher were far-sighted, noting that pheromones were likely to be used by a wide range of animals, including fish and underwater crustaceans as well as land mammals and insects. They predicted that most pheromones would act via the conventional senses of smell or taste, but that some might be ingested and act directly on the brain or other organs — as happens in termites, whose pheromones affecting caste development are passed round by mouth through the colony.

All these anticipations have been borne out, although Karlson and Lüscher might have been amazed at the range of molecules identified as pheromones since 1959, including everything from low-molecular-weight formic acid to polypeptides. We now know that many pheromones (including the sex pheromones of most moths) are not single compounds, but rather a species-specific combination of molecules in a precise ratio.

The ubiquity and variety of pheromones can be explained by natural selection. The evolutionary development of sex pheromones in a fish, for example, might have started with male fish detecting sex hormones leaking from a female about to spawn. The most sensitive males would get there first. Over generations, there would be selection for increased sensitivity of the receptor and increased production of the signal by the sender.

Chemical communication can also be exploited by other species. For example, some orchids, which benefit from attracting pollinators, produce a mixture of compounds

that mimics female wasp pheromones. The mimicry is so good that duped males will ejaculate on the flowers.

Karlson also catalysed a completely new field of study in biology, by asking a young biologist neighbour, Dietrich Schneider, if he could invent an electrophysiological way to assess Butenandt's silk-moth extracts for activity. Schneider's solution was the electroantennogram, still used today: wires inserted into both ends of a moth antenna are used to measure electrical signals as different extracts are presented. Recordings of activity in single antennal sensory cells followed in later years, as moths and their pheromones became a key model system in neurobiology.

The pursuit of pheromone science has not been entirely sweet and easy. The concept has faced key periods of controversy over mammalian pheromones, in battles almost as heated as the 'stink wars' between opposing troops of ring-tailed lemurs, which wave their pheromone-coated tails to assert their dominance.

In the 1970s, a group of researchers studying mammals argued that the term 'pheromones' should not be used for mammalian chemical signals, citing in particular the complex, highly variable odours that mammals use to distinguish littermate from stranger, for example for altruism or mate choice.

These individual odours, including some related to the immune system, need to be learnt for recognition, and did not seem to fit Karlson and Lüscher's definition. Some researchers even doubted that complex mammals, including humans, could have their behaviour altered by something as simple as an instinctive reaction to a smell.

Debate continues among those in the field. I now agree that these variable odours are not pheromones, and instead are better termed 'signature odours' (the same holds for complex variable odours in social insects such as ants and bees, which also have to be learnt and are used for colony recognition). But species-specific small molecules that do fit the classic pheromone definition have now been identified for mammals. Most spectacular was the 1996 discovery that the female Asian elephant's sex pheromone is a small molecule — (2E)-7-dodecen-1-yl acetate — also used by some

"Controversy over mammalian pheromones has been almost as heated as the 'stink wars' between opposing troops of ring-tailed lemurs."

Semiochimici o mediatori chimici

SOSTANZE CHIMICHE, SECRETE ALL'ESTERNO, CHE IN NATURA REGOLANO LE INTERAZIONI TRA DUE ORGANISMI, STIMOLANDO NEL RICEVENTE RISPOSTE DI TIPO FISIOLOGICO E/O COMPORTAMENTALE = MODIFICATORI DEL COMPORTAMENTO

FEROMONI

REGOLANO I RAPPORTI FRA INDIVIDUI DELLA STESSA SPECIE

ALLELOCHIMICI

REGOLANO I RAPPORTI FRA INDIVIDUI DI SPECIE DIVERSE

ALLOMONI (utili per l'organismo che li emette)

CAIROMONI (utili per l'organismo che li riceve)

SINOMONI (utili per entrambi)

Brown W.L., Einner T., Whittaker R.H. (1970): *Allomones and kairomones: transpecific chemical messengers*. «BioScience», 20, pp. 21-22

Whittaker R.H., Feeny P. (1971): *Allelochemicals: chemical interactions between species*. «Science», 171, p. 757.



Feromoni

classificazione

pherein (portare) + *horman* (stimolo)

❖ Releasers danno luogo a risposte immediate

feromoni sessuali (attrattivi sessuali)

aggregazione

marcatura

allarme.....

❖ Primers danno luogo a risposte lente

maturazione sessuale

sviluppo

stato fisiologico



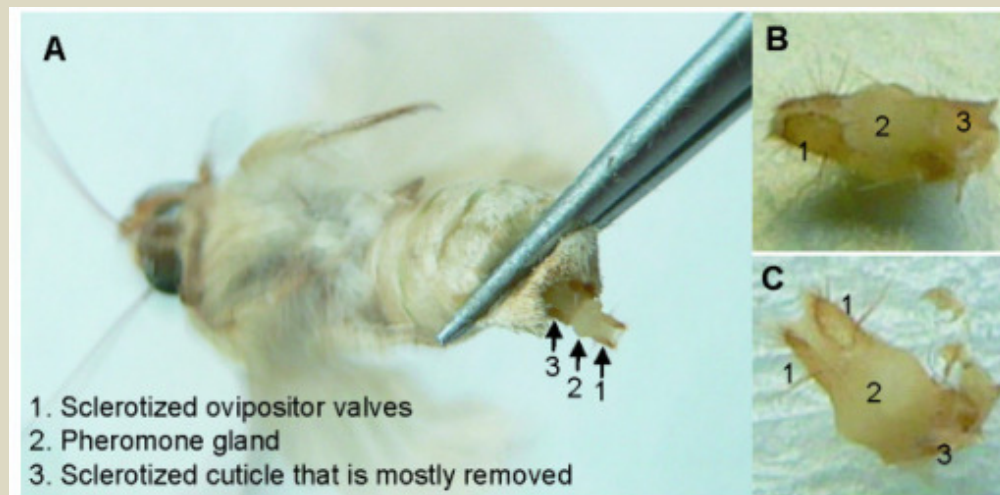
Fred E. Regnier and John H. Law (1968): Insect pheromones "Journal of lipid research", volume 9 , 1968

Feromoni

definizione

Feromone = *phero* (porto) + *hormao* (stimolo)

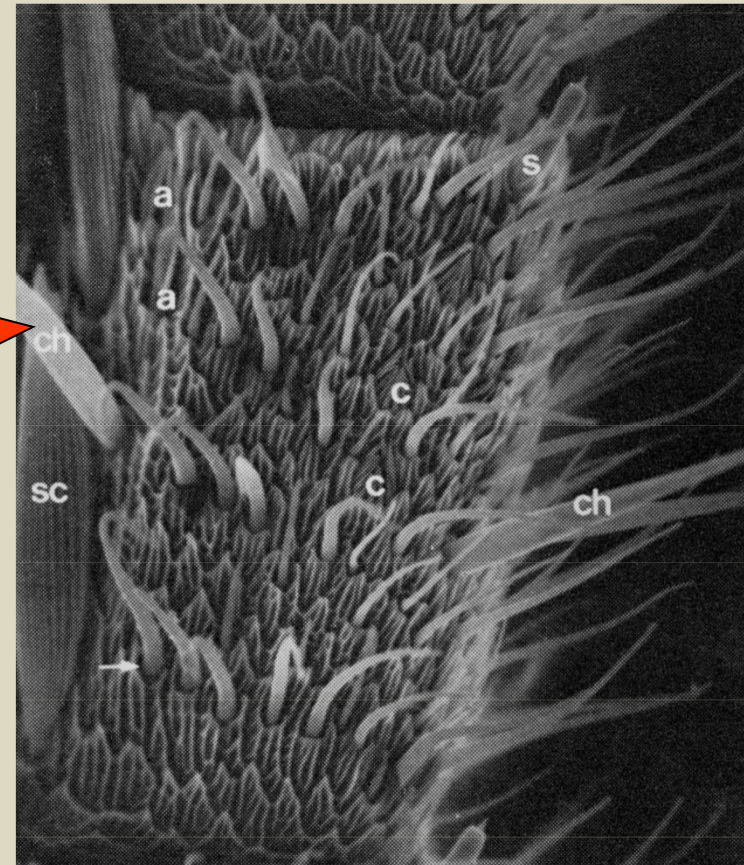
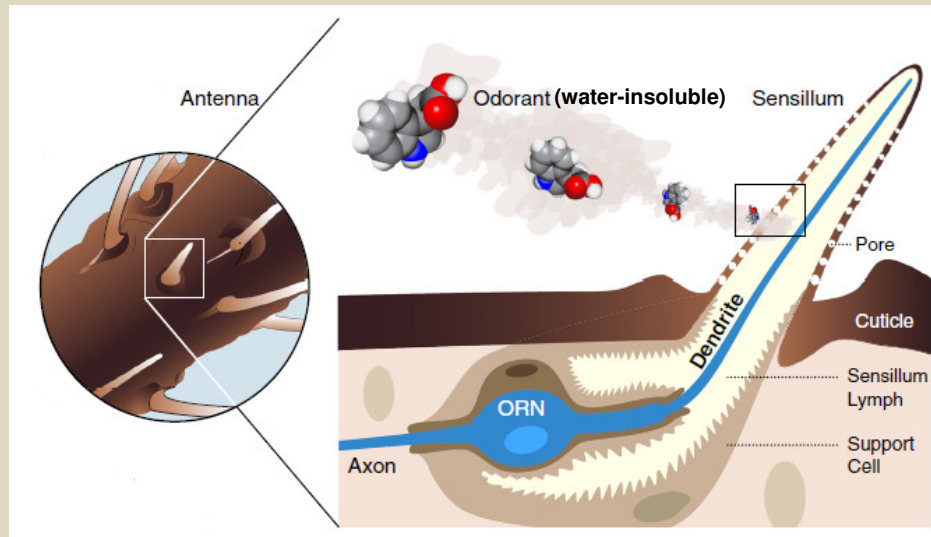
- Le femmine vergini dei Lepidotteri producono e rilasciano il feromone sessuale da ghiandole esocrine, localizzate tra l' 8° e 9° segmento addominale, estroflesse dalle femmine durante la fase di richiamo dei maschi (*calling*)



Feromoni

definizione

- I feromoni vengono percepiti da recettori olfattivi (Phe-ORNs) alloggiati nei sensilli tricoidei **antennali** del maschio
- Un recettore olfattivo consiste tipicamente di una o due cellule nervose alloggiati all'interno di una seta o "pelo" sull'antenna.



Feromoni

definizione

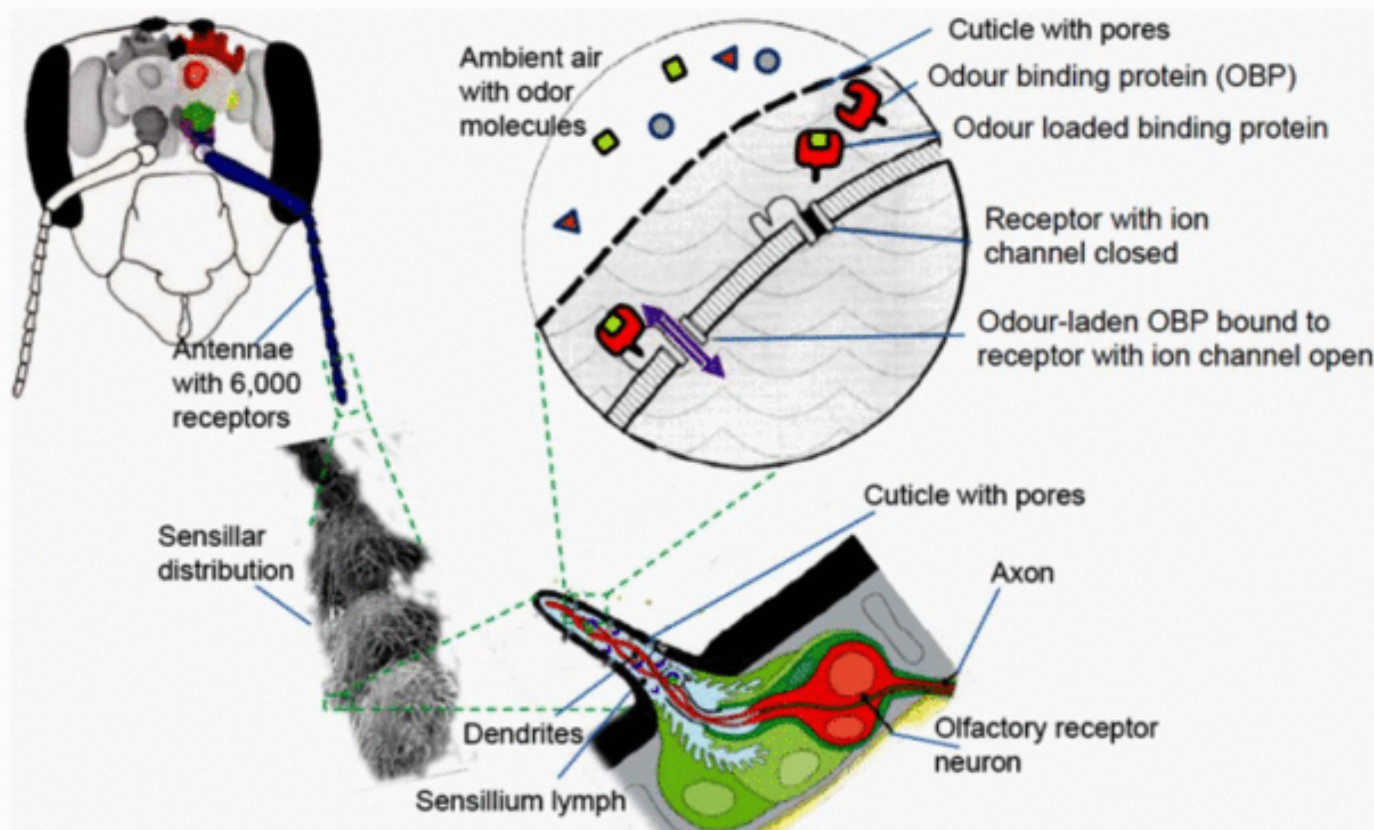


Figure: Insect olfactory system.

Feromoni

risposta motoria



DISTANZA RAVVICINATA

A LUNGA DISTANZA

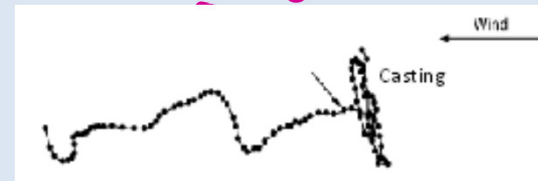
accoppiamento

corteggiamento

pre-copula

atterraggio

afrodisiaci,
attrattivi,
antiafrodisiaci,
inibitori volo



volo zig-zag "casting"

volo orientato c

partenza per il v

percezione odo

CHEMIOCLINOTASSI
ANEMOTASSI
OPTOMOTORIA

comportamento generato internamente che fa sì che l'insetto sia rivolto alla direzione del flusso del fluido (vento) e guidato da feedback visivi.

Feromoni

utilizzazioni pratiche



- Monitoraggio
- Controllo

«Mass annihilation»

- ❖ Cattura di massa (*mass trapping*)
- ❖ Metodo attratticida (*attract & kill*)

«Mating disruption» Inibizione degli accoppiamenti

P. Witzgall & P. Kirsch & A. Cork (2010): Sex Pheromones and Their Impact on Pest Management
"Journal of Chemical Ecology" January 2010, Volume 36, pp 80-100

cattura massale (Mass trapping)

utilizzazioni pratiche



cattura massale Lepidotteri cossidi

utilizzazioni pratiche

Zeuzera pyrina



Cossus cossus



cattura massale processionaria

utilizzazioni pratiche



cattura massale tignole delle derrate

utilizzazioni pratiche

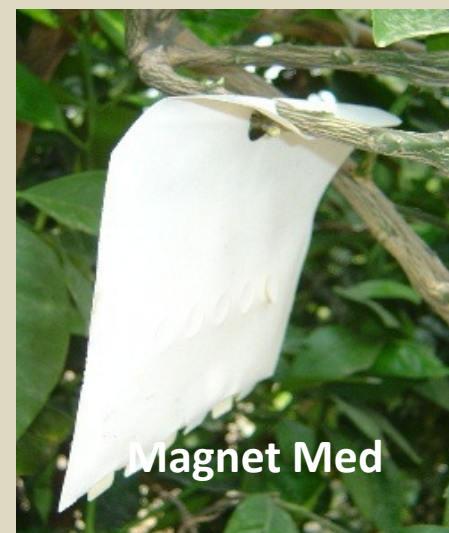
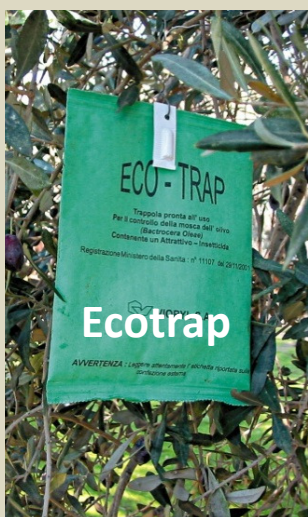


metodo attratticida (Attract & kill)

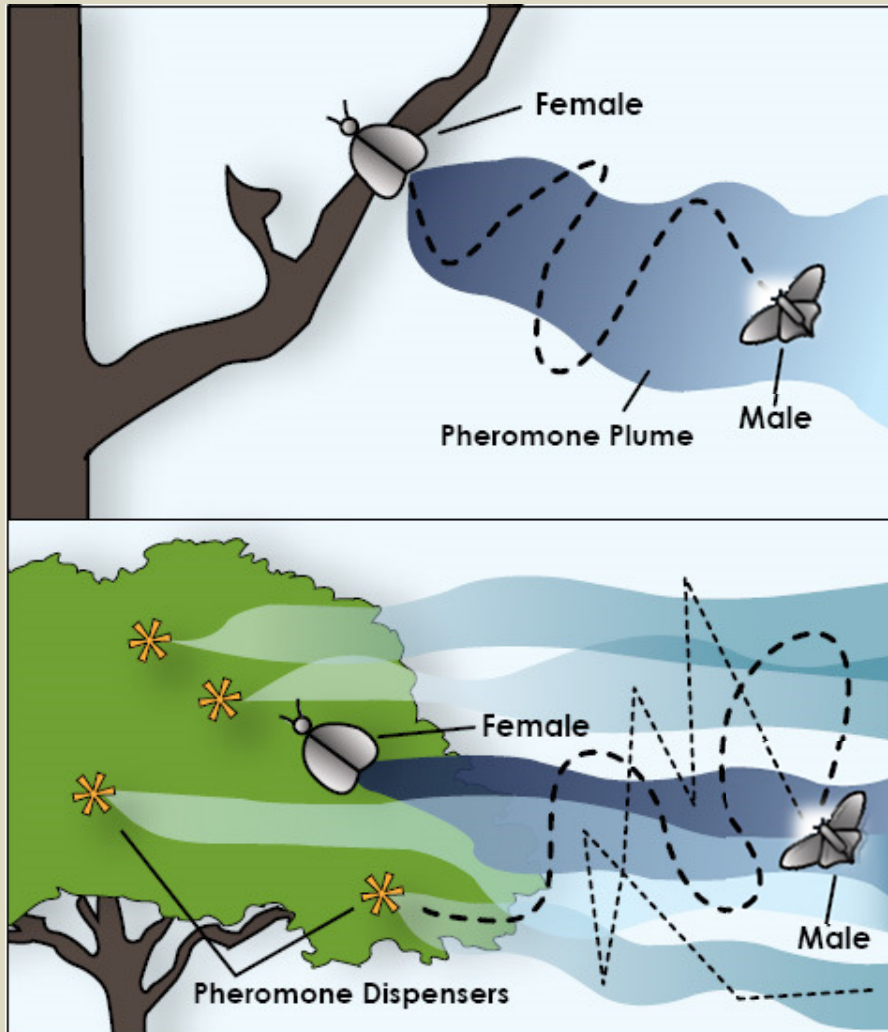
utilizzazioni pratiche

I migliori risultati si sono ottenuti nella lotta ai ditteri tefritidi, con dispenser combinati feromone + attrattivi alimentari, che attirano entrambi i sessi

- A & Kill per la mosca delle olive: Sono disponibili due sistemi Ecotrap e Magnet Oli
- A & Kill per la mosca mediterranea: è stato registrato Magnet Med un sistema che è in grado di garantire un'ottima efficacia per 6 mesi dal posizionamento
- Esiste anche un sistema A & Sterilize (Address), per la lotta alla *Ceratitis* che induce sterilità negli adulti che si nutrono dell'esca attivata con lufenuron.



inibizione degli accoppiamenti principali meccanismi



I meccanismi fisiologici proposti per spiegare come agisca la confusione sessuale sono:

- A) **attrazione competitiva** in cui i maschi vengono distratti nella ricerca delle vere femmine per mezzo di “false piste” (*false trail following*);
- B) **attrazione non competitiva** mediante “mascheramento delle scie naturali” (*camouflage*) o “inibizione della capacità di percezione” (*desensitization*) del maschio che cessa di rispondere allo stimolo olfattivo con conseguente inibizione degli accoppiamenti

Ritardo negli accoppiamenti con conseguente riduzione di fertilità e fecondità

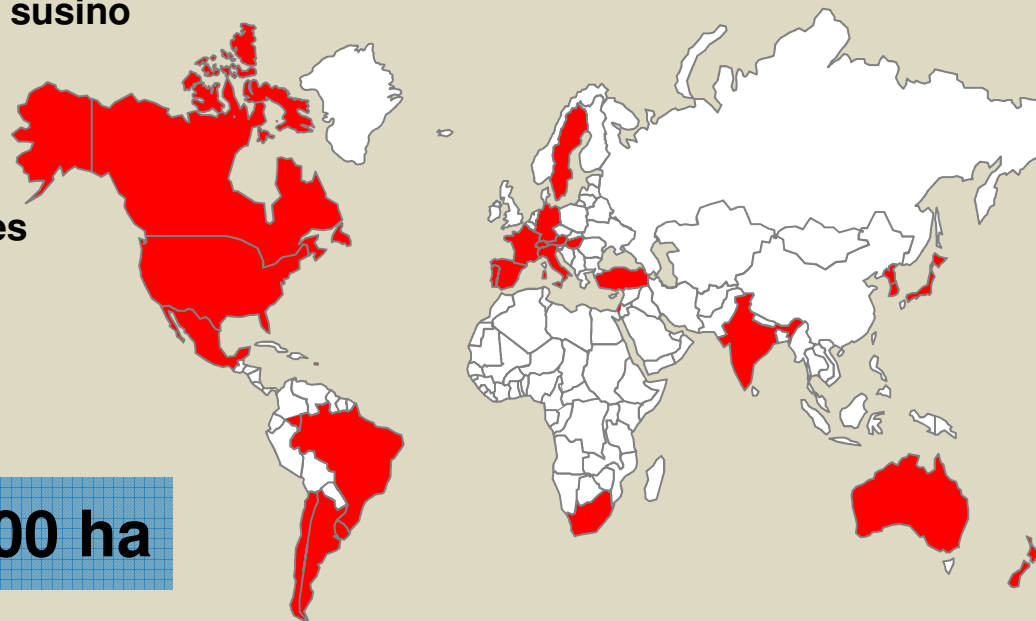


**MASCHIO SINGLE
CERCA ANIMA
GEMELLA**

applicazione della confusione nel mondo

(stime 2012)

<u>Fitofago</u>	<u>Coltura</u>
<i>Pectinophora gossypiella</i>	cotone
<i>Cydia pomonella</i>	melo, pero, noce
<i>Grapholitha molesta</i>	pesco, melo, susino
<i>Lobesia botrana</i>	vite
<i>Eupoecilia ambiguella</i>	vite
Ricamatori	fruttiferi, tea
<i>Synanthedon spp.</i>	fruttiferi, ribes
<i>Keiferia lycopersicella</i>	pomodoro
<i>Zeuzera pyrina</i>	pero, olivo
<i>Chilo suppressalis</i>	riso
<i>Lymantria dispar</i>	Forestali
Totale superficie	1.000.000 ha



confusione sessuale – il mercato italiano

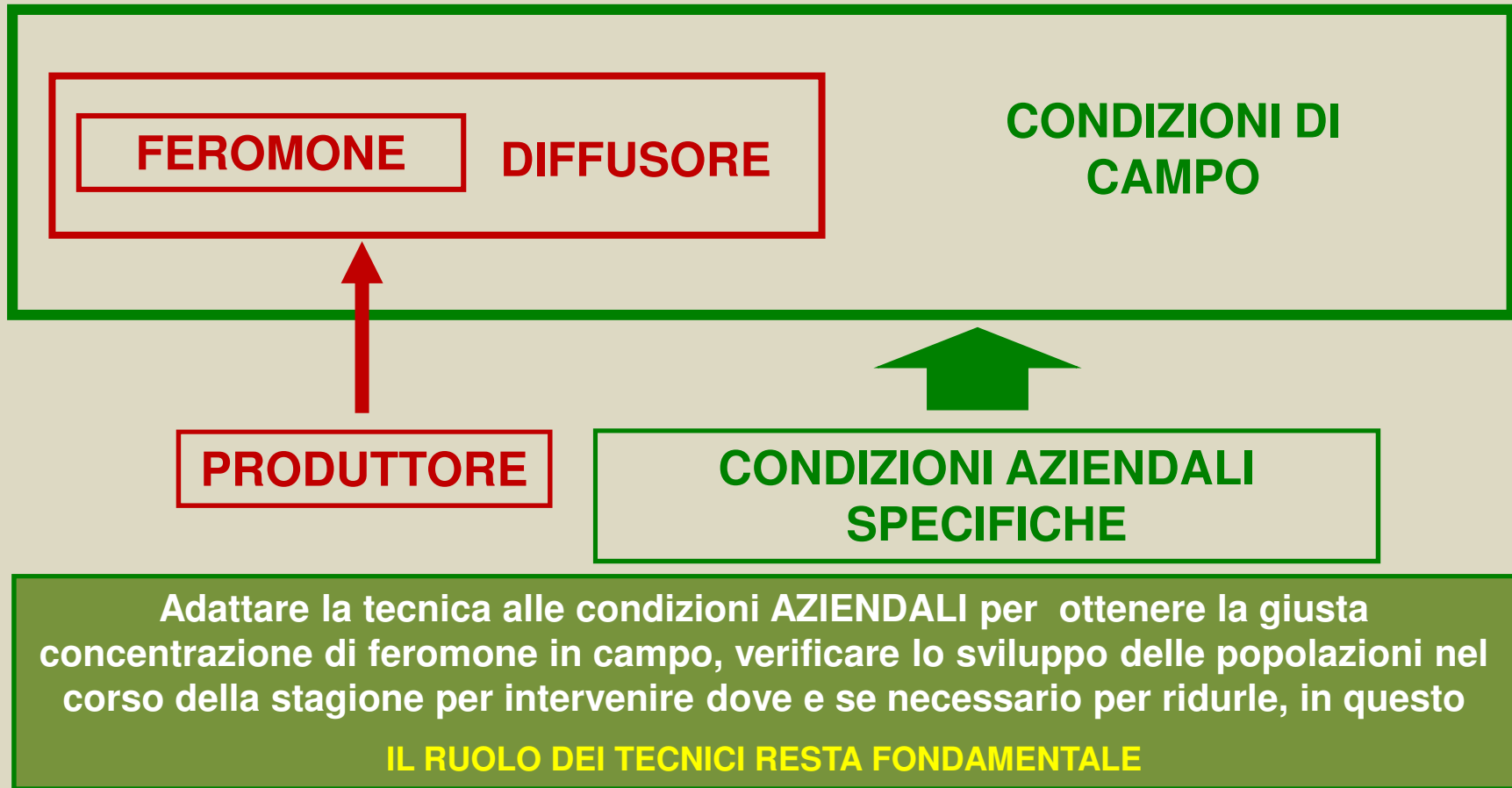
(stime 2014)

<u>Coltura</u>	Ha Totali	<u>MD Ha's</u>	<u>%</u>
Pomacee (Carpocapsa, Cidia m, ricamatori)	98.000	30.000	30 %
Drupacee (Cidia, Anarsia)	86.000	20.000	23 %
Vite (Tignoletta e Tignola)	740.000	20.000	2.7 %
Total market	924.000	70.000	7.5 %

L' Italia rappresenta c.a il 30% del totale del mercato europeo della confusione sessuale

metodo della confusione

componenti fondamentali



metodo della confusione

feromone

FEROMONE

DIFFUSORE

CONDIZIONI DI
CAMPO

FEROMONI DI TIPO I

- ❖ Catena lineare di C10-C18 atomi di carbonio terminante con gruppo funzionale - alcohol, aldeide o acetato, con 0-3 doppi legami;
- ❖ Biosintetizzato de-novo a partire da acidi grassi;
- ❖ Usato approssimativamente dal 75% di lepidotteri

Es. Lepidotteri tortricidi



Feromoni classificazione

FEROMONI DI TIPO I

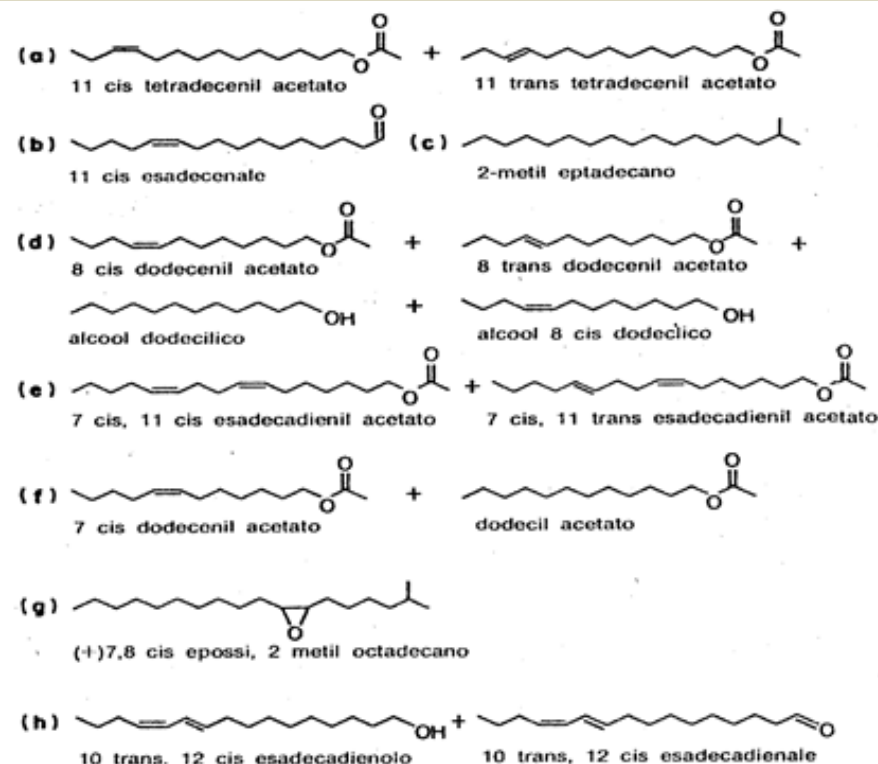


Fig. 2 - Esempi di feromoni sessuali femminili identificati in alcuni Lepidotteri:

a) *Ostrinia nubilalis* (Pyralidae) - Piralide del Mais

b) *Platyptilia carduidactyla* (Pterophoridae)

c) *Holomelina nigricans* (Arctiidae)

d) *Grapholitha molesta* (Tortricidae) - Tignola orientale del Pesco

e) *Pectinophora gossypiella* (Gelechiidae)

f) *Trichoplusia ni* (Noctuidae)

g) *Lymantria dispar* (Lymantriidae) - Bombice dispari

h) *Bombyx mori* (Bombycidae) - Baco da seta

(da: M.C. Birch e K.F. Haynes, 1984, Introduzione ai feromoni, CLESAV)

FEROMONI DI TIPO II

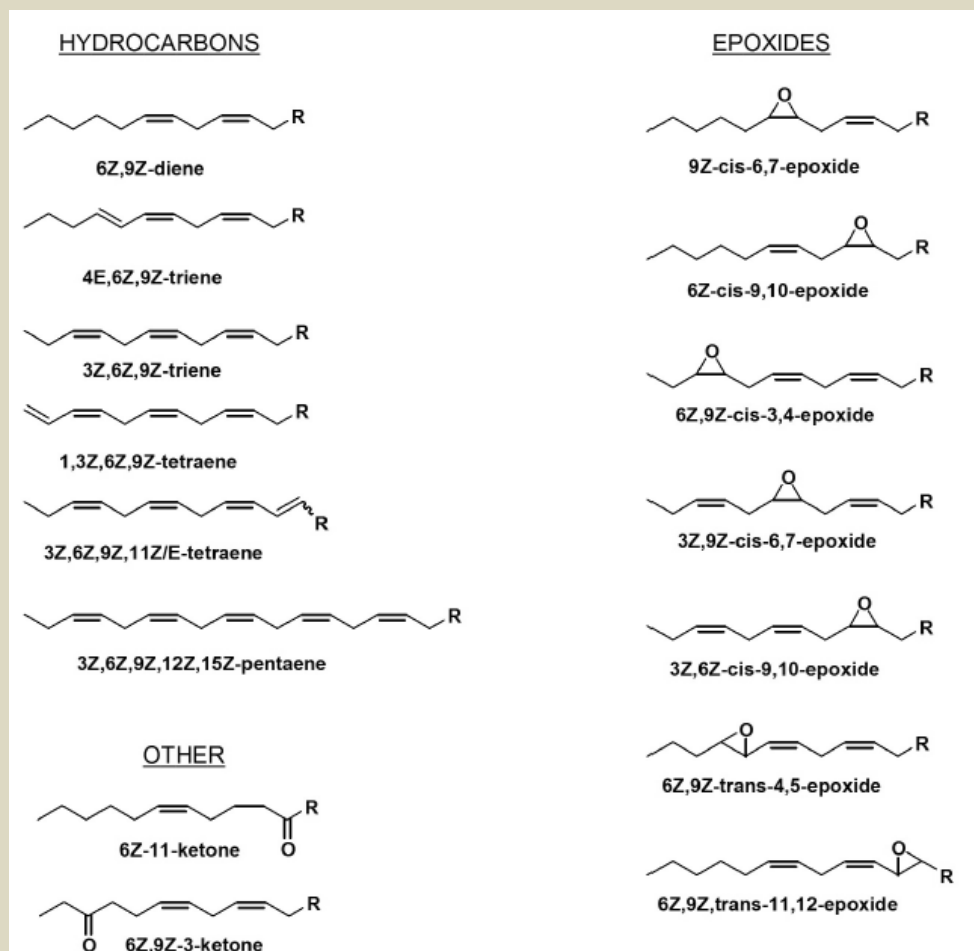
- ❖ Comprendono idrocarburi insaturi e i loro derivati epossidici;
- ❖ Catene di idrocarburi e epossidi C17–C23
- ❖ Originano dalle lunghe catene di idrocarburi prodotti fuori dalle ghiandole a feromoni (PGs).
- ❖ Sintetizzati negli enociti o cellule epidermiche
- ❖ Identificati principalmente in 4 famiglie di Lepidotteri: Arctiidae, Geometridae, Noctuidae, e Lymantriidae



Feromoni

classificazione

FEROMONI DI TIPO II



Il primo feromone di Tipo II è stato identificato e descritto verso la fine degli anni '70, circa 20 anni dopo l'identificazione del primo feromone di Tipo I

metodo della confusione

caratteristiche feromone

❖ Volatilità

- ✓ Sufficiente pressione di vapore a temperatura ambiente tale da produrre un segnale rilevabile dai maschi
- ✓ Basso peso molecolare (100-300 Daltons) ma non troppo per garantire la specie-specificità della sostanza;
- ✓ Nessuno o pochi gruppi funzionali polari che diminuiscono la volatilità;

❖ Stabilità

- ✓ Sufficiente stabilità in modo da generare un segnale affidabile, ma non troppo in modo che un substrato da cui le femmine emettono il richiamo possa rimanere contaminato e continuare ad attrarre maschi per ore o giorni

❖ Rapida degradazione

metodo della confusione

feromone

Posizione del doppio legame
Geometria E o Z



Gruppo funzionale
-OAc -OH -CHO



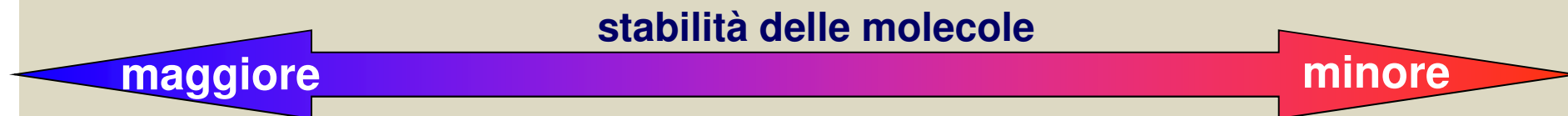
	OAc	E5-10:Ac	<i>Anarsia lineatella</i>
	OAc	E7Z9-12:Ac	<i>Lobesia botrana</i>
	OH	E8E10-12:OH	<i>Cydia pomonella</i>
	CHO	Z11-16:Al	<i>Plutella xilostella</i>

Lunghezza della catena di atomi di carbonio (C10-
C18)

www.pherobase.com

metodo della confusione

feromone



(1) Gruppo funzionale

Acetato > Alcool >> Aldeidi

(2) Numero di doppi legami

Nessuno > Un doppio legame >> Più doppi legami coniugati
Più doppi legami non coniugati

(3) Geometria del doppio legame

Un doppio legame Isomero E > Isomero Z
Isomero EZ >> Isomero ZZ
Due doppi legami Isomero EE > Isomero ZE

metodo della confusione

feromone



metodo della confusione

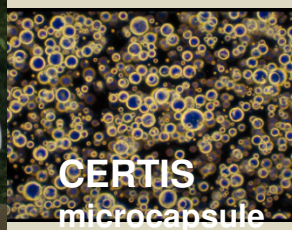
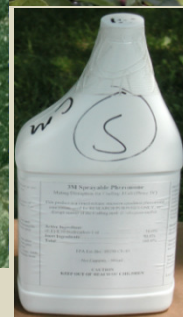
diffusore

FEROMONE

DIFFUSORE

CONDIZIONI DI
CAMPO

metodo della confusione diffusore



metodo della confusione

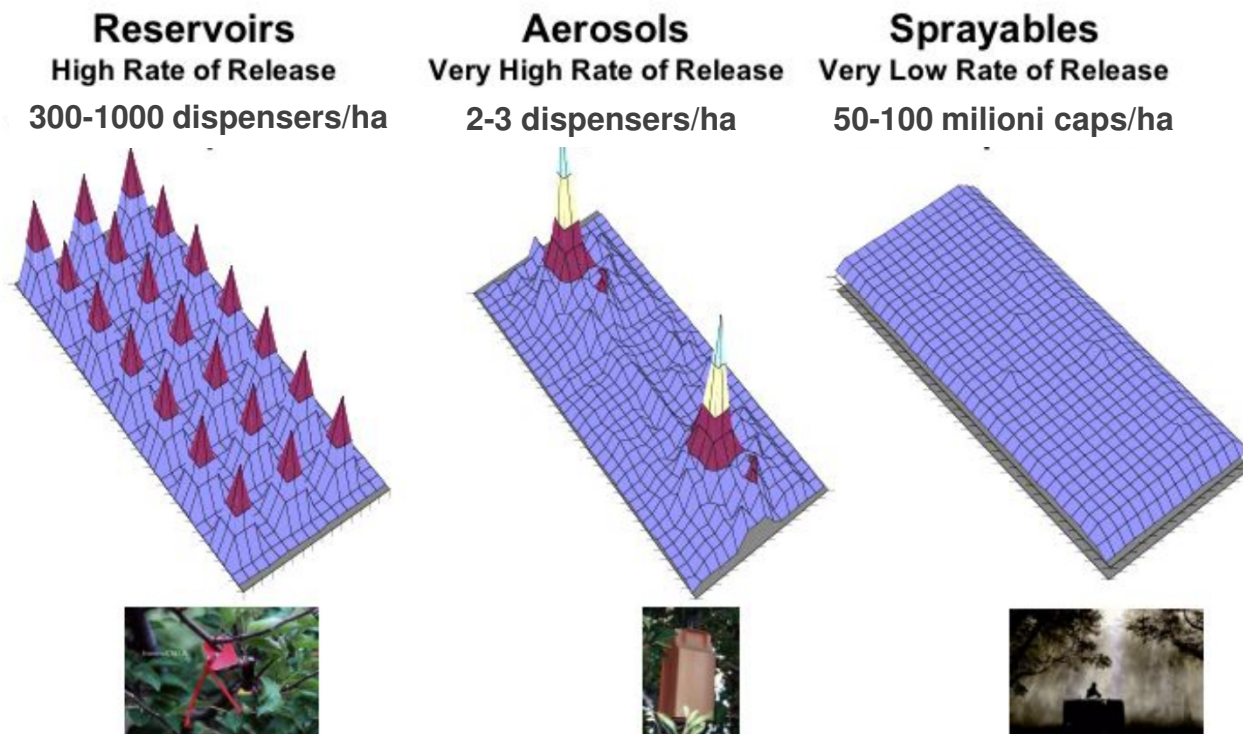
diffusore

OBIETTIVO:

- erogare feromone per tutta la stagione**
- adattarsi al variare delle temperature medie giornaliere**
- adattarsi al variare delle velocità media dei venti giornalieri**

punti sorgenti e concentrazione

Delivery System vs Pheromone Distribution Sensory Environment



R. Issacs, Michigan State University

erogatori o dispensers ad alto rilascio

- diffondono una quantità di feromone relativamente elevata (alcuni mg al giorno), centinaia di volte superiore all'emissione di una femmina
- Si distribuiscono dai 300 ai 1000 erogatori/ettaro a seconda del modello utilizzato e dell'insetto da controllare



formulazioni “sprayable” (flowable)

- sospensioni di microcapsule contenenti feromone
- applicazione con attrezzature convenzionali
 - **trattamento ogni 15-30 giorni**



erogatori a basso rilascio (disorientamento o distrazione sessuale)

rilasciano quantità di feromone in grado di competere con quelle emesse dalle femmine
il risultato è il cosiddetto *disorientamento o metodo della false tracce*

2000-3000 erogatori per ettaro

+ applicazioni/stagione per coprire il volo completo dell'insetto target

