

UN NUOVO BIOINSETTICIDA A BASE DI PEPTIDI (GS-OMEGA/KAPPA-HXTX-HV1A) PER LA GESTIONE DEI LEPIDOTTERI FITOFAGI SU POMODORO, VITE E MELO



Daniel Peck & Marja Koivunen, Vestaron
Michele Preti, Astra Innovazione e Sviluppo

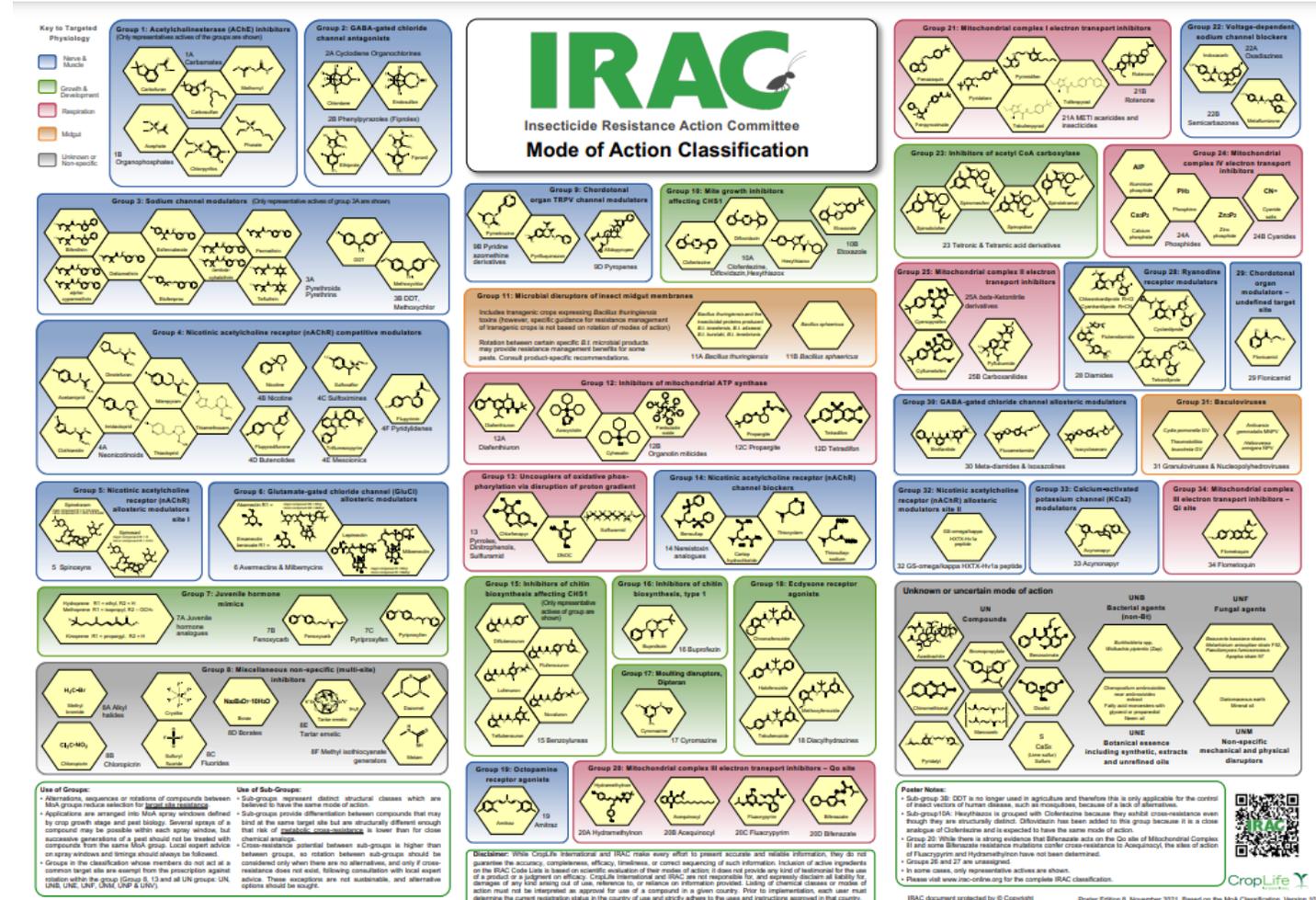
Giornate Fitopatologiche, Bologna, Italia 13 Marzo 2024

VESTARON[®]

Necessità di MoA nuovi e più sicuri

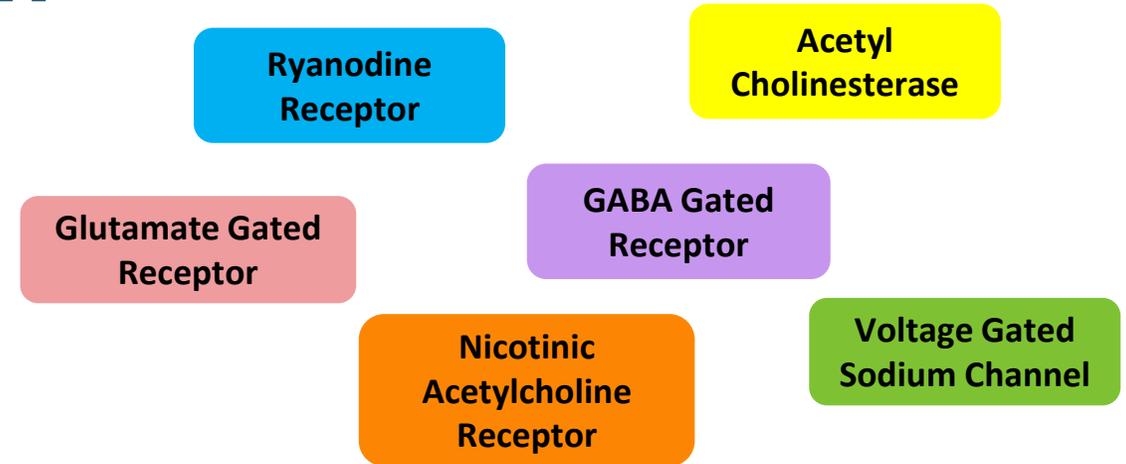
Gestione della resistenza agli insetticidi:

- Richiede una gestione coscienziosa dei MoA esistenti
- Così come fonti di nuovi MoA

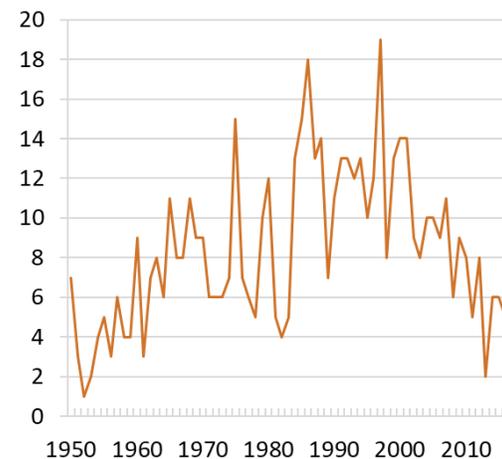


Necessità di MoA nuovi e più sicuri

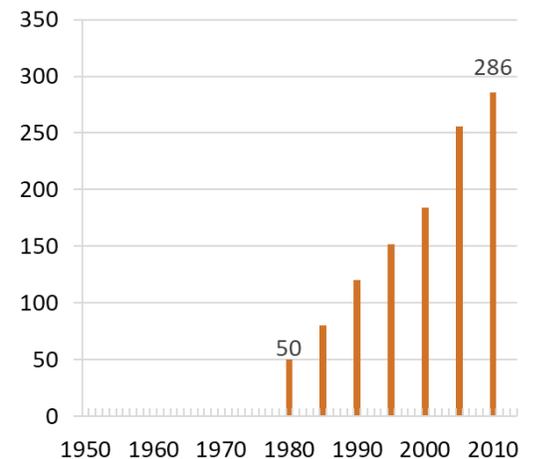
- L'80% del mercato globale degli insetticidi si basa su 6 recettori nervosi e muscolari
- I nuovi gruppi IRAC per nuovi principi attivi sono pochi e rari
- I principi attivi convenzionali si trovano ad affrontare costi di sviluppo crescenti, fallimenti in fase avanzata di sviluppo e crescenti ostacoli normativi
- Ciò offre maggiori opportunità per lo sviluppo di ingredienti attivi a base biologica



Number of novel actives introduced



Cost of developing a novel active (\$M)



Source: Philips McDougall

Attributi degli insetti a base peptidica

I peptidi naturali con proprietà insetticide sono una fonte nota di nuovi principi attivi:

- Derivati da costituenti del veleno animale
- Struttura resistente alla degradazione
- Dimostrata la specificità del sito bersaglio
- Offrono nuove modalità di azione

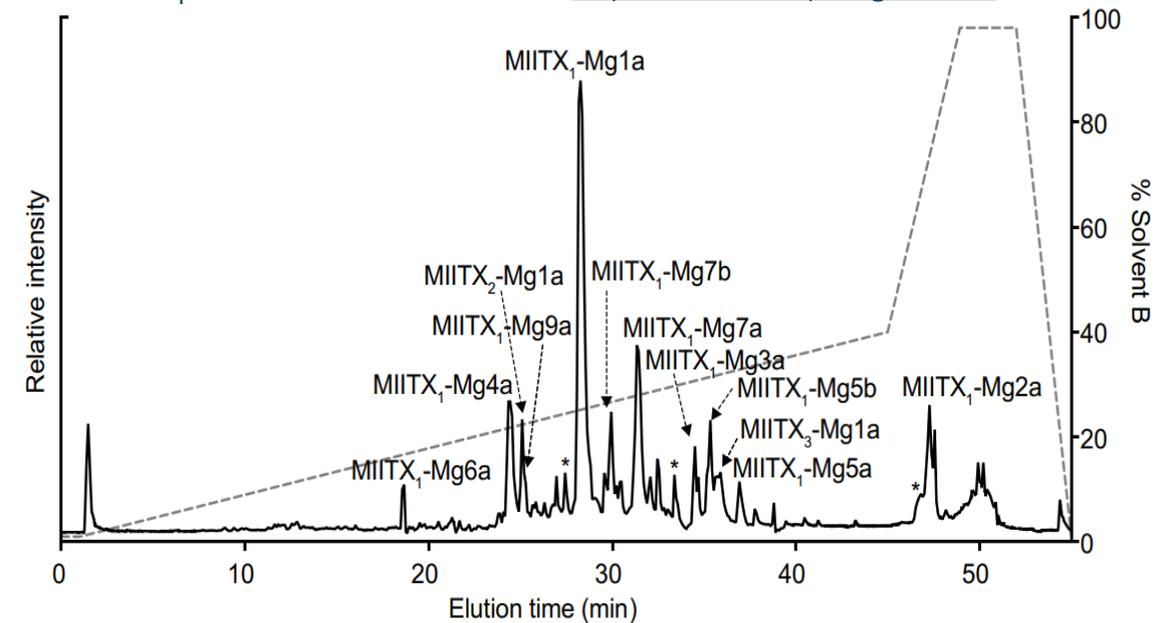
Quattro ostacoli principali allo sviluppo commerciale (Bao et al., 2020) superati solo di recente:

- Biodisponibilità (dimensione della molecola per raggiungere il bersaglio)
- Stabilità del prodotto (in formulazione liquida e nell'intestino dell'insetto)
- Costi di produzione
- Percorso normativo



I veleni animali contengono centinaia di proteine/peptidi diversi

- Enzimi digestivi
- Peptidi di difesa
- Peptidi antimicrobici
- Peptidi selettivi per gli insetti



Cromatogramma ionico totale del veleno della formica toro rossa gigante. I picchi corrispondono ai peptidi del veleno identificati. Robinson et al, Sci. Adv. 2018

Attributi del peptide SPEAR®

- Primo peptide insetticida commerciale
- Derivato dal veleno di un ragno australiano
- Principio attivo GS-omega/kappa-Hctx-Hv1a
- Brand come tecnologia SPEAR® da Vestaron Corporation

FEBS
Letters



Insecticidal spider toxins are high affinity positive allosteric modulators of the nicotinic acetylcholine receptor

Chris Chambers¹, Penny Cutler¹, Yen-Hua Huang², James A. Goodchild¹, Judith Blythe¹, Conan K. Wang², Aurélien Bigot³, Quentin Kaas², David J. Craik², Davide Sabbadin³ and Fergus G. Earley¹ 

¹ Syngenta, Jealott's Hill Research Centre, Bracknell, Berkshire, UK

² Institute for Molecular Bioscience, the University of Queensland, Brisbane, Queensland, Australia

³ Syngenta Crop Protection AG, Stein, Switzerland



Blue Mountains funnel-web spider
(*Hadronyche versuta*)

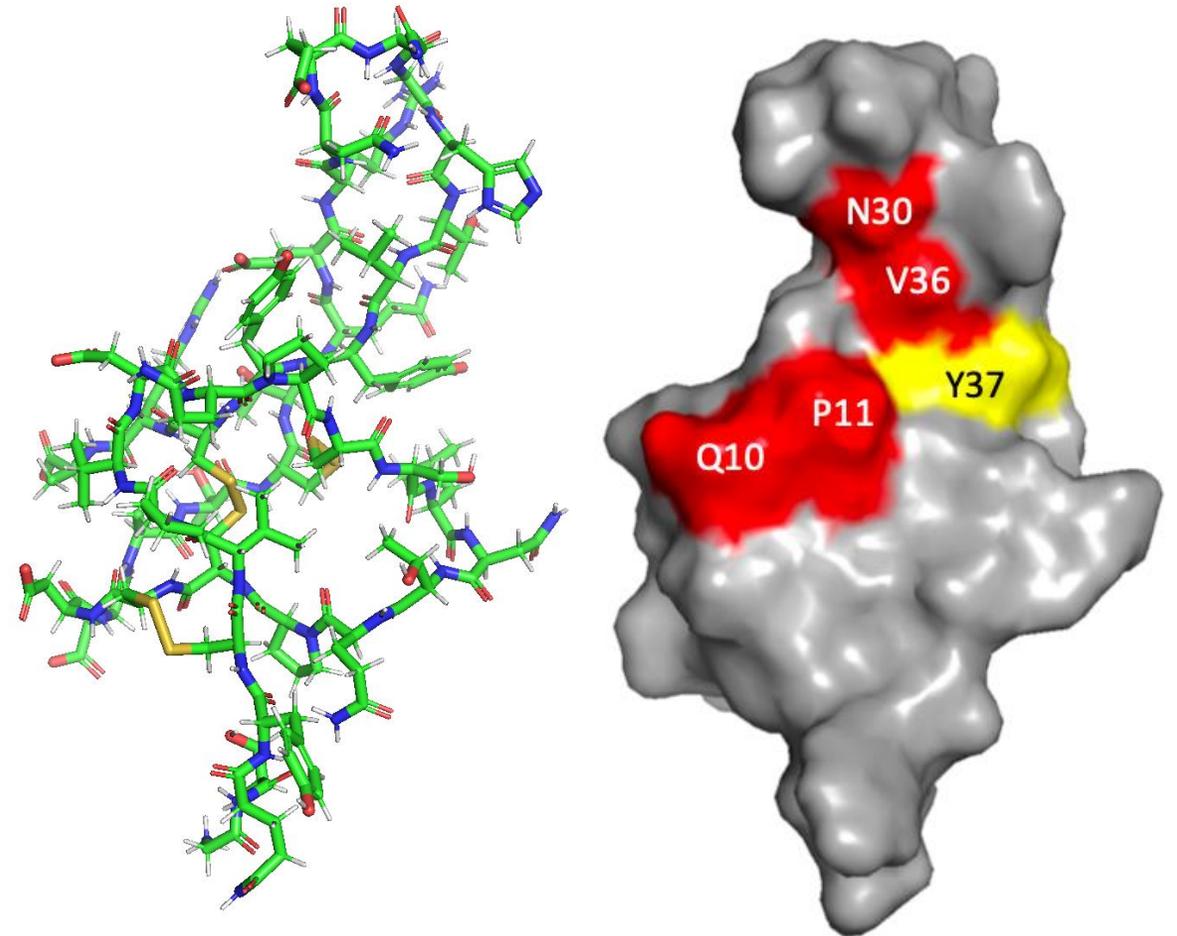
Attributi del peptide SPEAR®

Proteina inibitrice del nodo cistina (ICK):

- Struttura di 40 aminoacidi
- 3 ponti disolfuro che ne danno una conformazione 3D

Specificità del sito target:

- Premiato come nuovo Gruppo IRAC 32 nel novembre 2018
- Modulatore allosterico del recettore nicotinico dell'acetilcolina - Sito II
- Nessuna resistenza incrociata con altri interferenti nAChR (spinosine, neonicotinoidi)



GS-omega/kappa-Htx-Hv1a
MW 4,571 dáltones

Attributi del peptide SPEAR®

- Primo peptide insetticida commerciale
- Proteina inibitrice del nodo cistina (ICK)
- Specificità del sito target
- Caratteristiche della sostanza attiva

Caratteristiche della sostanza attiva

Caratteristiche chimiche:

Nome chimico: GS-omega/kappa-Hctx-Hv1a

Numero CAS: 1219988-33-6

Classe chimica: Peptide

Formula molecolare: C₁₈₅H₂₈₂N₅₆O₆₈S

Caratteristiche fisiche:

Stato fisico: liquido

Colore: rosso/marrone

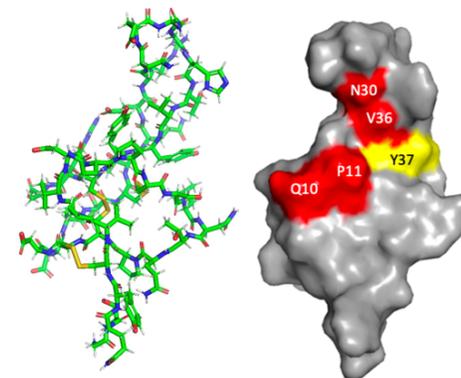
Odore: fenolico, maltato, di lievito

Peso molecolare: 4564,85 g/mol

Coefficiente rip. ottanolo/H₂O (LogP): 1,35

Densità: 1,03 g/mL

Visualizzazione grafica della struttura:



Caratteristiche tossicologiche (tossicità sui mammiferi):

Orale (acuta)	Ratto	DL ₅₀ > 5000 mg p.a./kg b.w.
Dermale (acuta)	Ratto	DL ₅₀ > 5000 mg p.a./kg b.w.
Inalazione (acuta)	Ratto	CL ₅₀ > 2.05 mg p.a./L
Irritazione oculare	Coniglio	minima irritazione all'occhio
Irritazione cutanea	Coniglio	moderatamente irritante per la pelle
Sensibilizzazione cutanea	metodo Buehler	non è un sensibilizzante da contatto
Mutagenicità	metodo Ames	non è mutagenico

Caratteristiche ecotossicologiche:

Uccelli	<i>Colinus virginianus</i>	DL ₅₀ > 630 mg p.a./kg peso corporeo
Api (orale)	<i>Apis mellifera</i>	DL ₅₀ (48 ore) > 100 mg p.a./ape
Api (contatto topico)	<i>Apis mellifera</i>	DL ₅₀ (48 ore) > 25 mg p.a./ape
Pesci	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	CL ₅₀ (96 ore) > 100 mg p.a./L
Invertebrati acquatici	<i>Daphnia magna</i>	EC ₅₀ (48 ore) > 1000 mg p.a./L
Alghe acquatiche	<i>Raphidocelis subcapitata</i>	NOEC _{cronico} (96 ore) = 72 mg p.a./L

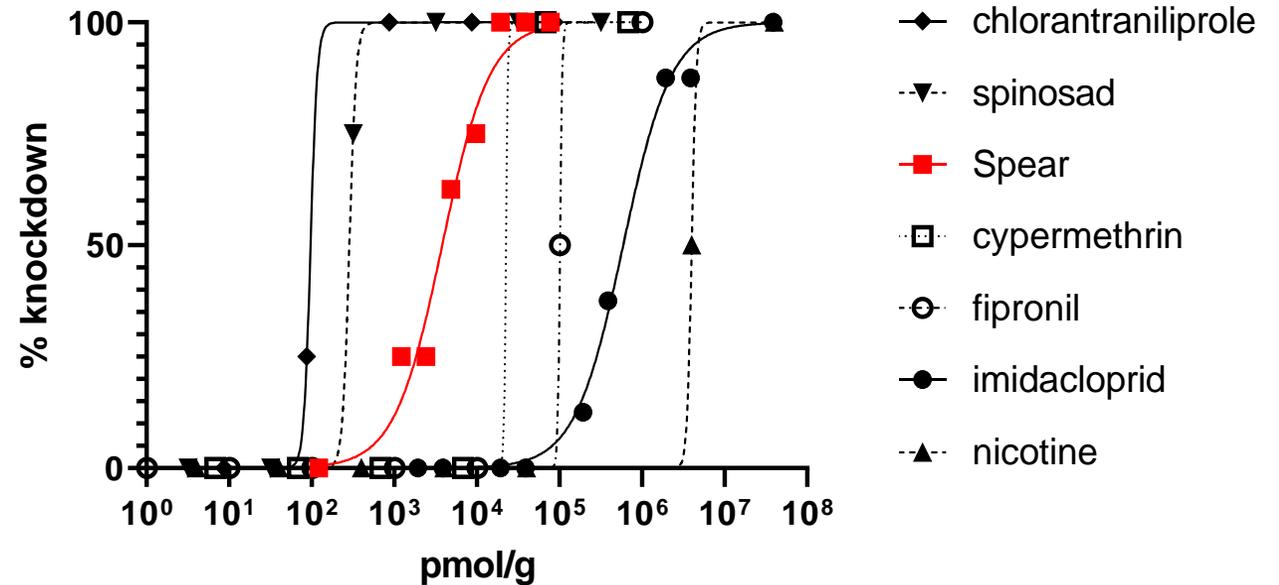
Attributi del peptide SPEAR®

- Primo peptide insetticida commerciale
- Proteina inibitrice del nodo cistina (ICK)
- Specificità del sito target
- Caratteristiche della sostanza attiva
- Molecola altamente potente (per iniezione)

KD50 è la concentrazione molare del principio attivo necessaria per uccidere il 50% delle larve di *H. zea* mediante iniezione.

La potenza è determinata dall'affinità della molecola al suo sito di legame e dal numero di recettori con siti di legame disponibili.

Helicoverpa zea 4th instar injection



Attributi dell'insetticida SPEAR® LEP

Attivo per ingestione se applicato con un “facilitatore” che altera l'intestino del fitofago.

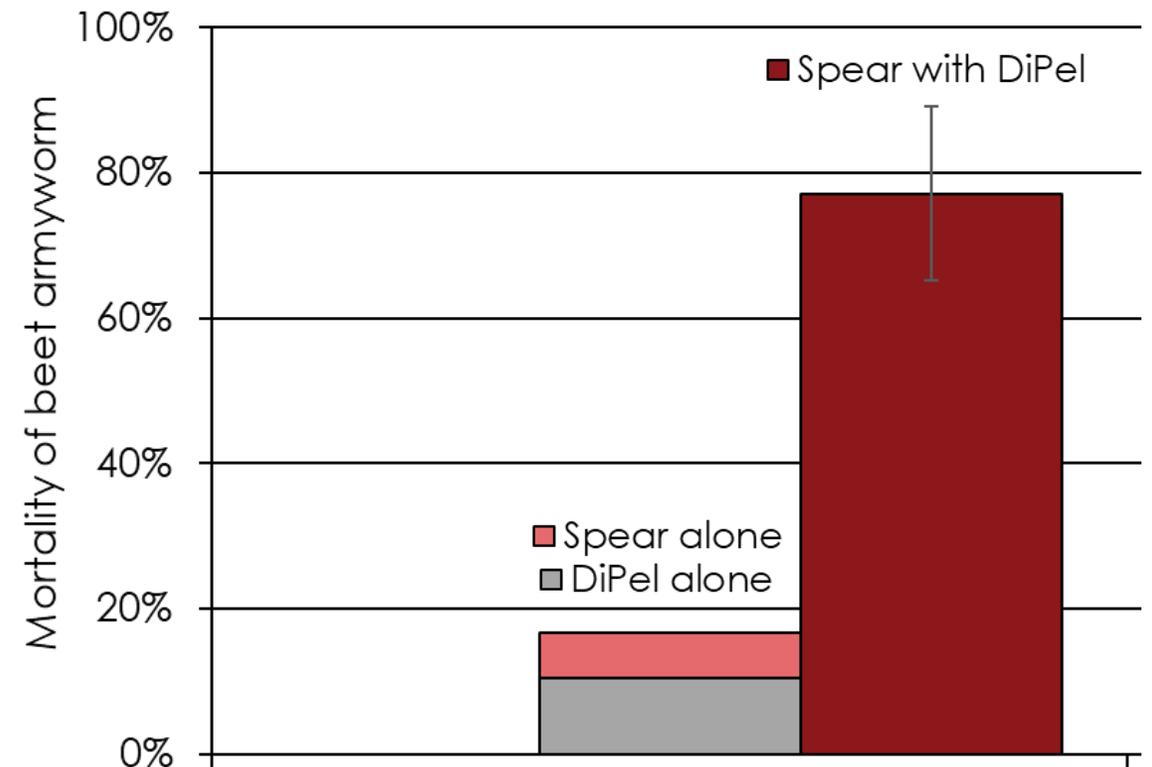
Miscela estemporanea con la dose bassa di etichetta del prodotto Bt:

- Ruolo di Spear: neurotossina
- Ruolo del Bt – setticemia subletale
- Tutti i lepidotteri fitofagi sono considerati sensibili

Formulazione liquida al 2%, 20 g p.a./litro, Avvertenza "Attenzione". Cronologia normativa:

- Stati Uniti 2018, Messico 2021, Canada 2023
- In UE all'inizio del 2022 presentata la valutazione come nuova sostanza attiva
- L'UE attualmente sta esaminando le richieste di autorizzazione all'uso di emergenza per affrontare l'emergenza fitosanitaria della gestione della *Tuta absoluta* nella produzione di pomodoro

I tassi subletali di SPEAR e Btk sono maggiori di quelli additivi quando applicati in combinazione



Verifiche Sperimentali

I protocolli seguivano le linee guida EPPO per la valutazione dei prodotti fitosanitari.

Sei tesi in prova:

- Testimone non trattato
- SPEAR LEP a 1,2, 1,75, 2,3 L/ha in miscela con la dose più bassa in etichetta di un prodotto a base di *Bt kurstaki* autorizzato per quella combinazione coltura-parassita
- *Bt kurstaki* da solo
- Standard locale ammesso in biologico

Applicazioni:

- 2-4 ad intervalli di 7-8 giorni per *T. absoluta*
- 2-4 a intervalli di 9-38 giorni per *L. botrana*
- 4 ad intervalli di 10-14 giorni per *C. pomonella*

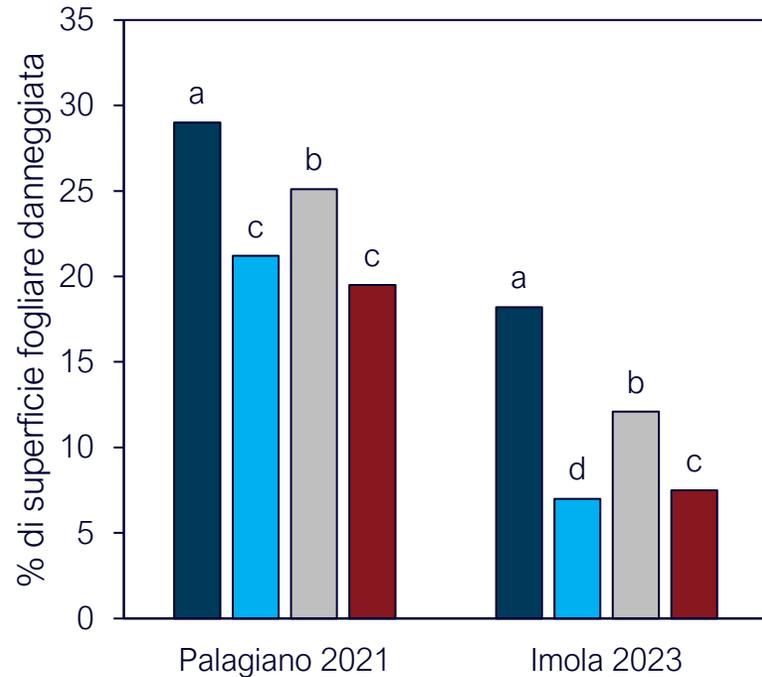
Tabella 1. Sintesi dei siti di prova e delle tesi in prova.

Avversità bersaglio	Località (provincia) e anno	Date delle appl.	Varietà	Volume di appl. (L/ha)	Facilitatore Btk e dosaggio del formulato	Standard di riferimento locale (p.a.), e dosaggio del formulato
<i>Tuta absoluta</i> su pomodoro in serra	Palagiano (TA) 2021	15/5, 22/5	Skate	750-820	BioBit DF, 0,5 kg/ha	Delfin (Btk), 150 g/ha
	Ravenna (RA) 2021a	27/6, 4/7, 11/7, 18/7	Dovizio F1	400	BioBit DF, 0,5 kg/ha	Delfin (Btk), 150 g/ha
	Imola (BO) 2023	1/8, 9/8, 16/8	Anairis	700	DiPel DF, 0,5 kg/ha	Laser (spinosad), 0,3 L/ha
<i>Lobesia botrana</i> su vite da vino	Costigliole d'Asti (AT) 2021a	14/7, 23/7	Moscato bianco	500	BioBit DF, 0,5 kg/ha	Prev-Am Plus (olio d'arancio), 1,6 L/ha
	Costigliole d'Asti (AT) 2021b	10/7, 14/7, 23/7, 1/9	Barbera	500	BioBit DF, 0,5 kg/ha	Prev-Am Plus (olio d'arancio), 1,6 L/ha
	Costigliole d'Asti (AT) 2022	19/7, 28/7	Barbera	300	BioBit DF, 0,5 kg/ha	Prev-Am Plus (olio d'arancio), 1,6 L/ha
<i>Cydia pomonella</i> su melo	Ravenna (RA) 2021b	2/7, 12/7, 24/7, 4/8	Modi	800	BioBit DF, 0,5 kg/ha	Delfin (Btk), 150 g/ha
	Aguscello (FE) 2021	2/7, 12/7, 24/7, 4/8	Imperatore	800	BioBit DF, 0,5 kg/ha	Delfin (Btk), 150 g/ha
	Ravenna (RA) 2022	6/6, 14/7, 28/7, 11/8	Modi	800	BioBit DF, 0,5 kg/ha	Carpovirusine Plus (<i>CpGV</i>), 1 L/ha

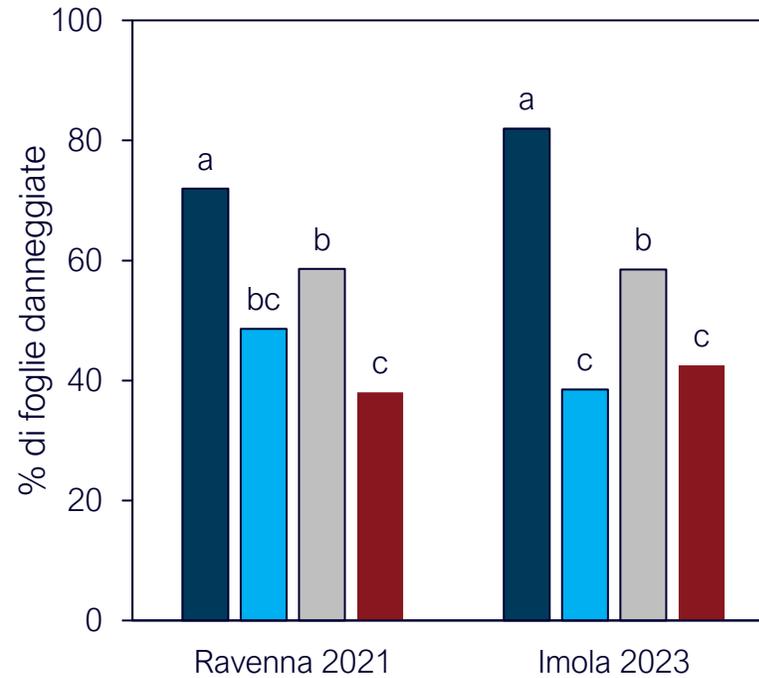


Tuta absoluta, Pomodoro

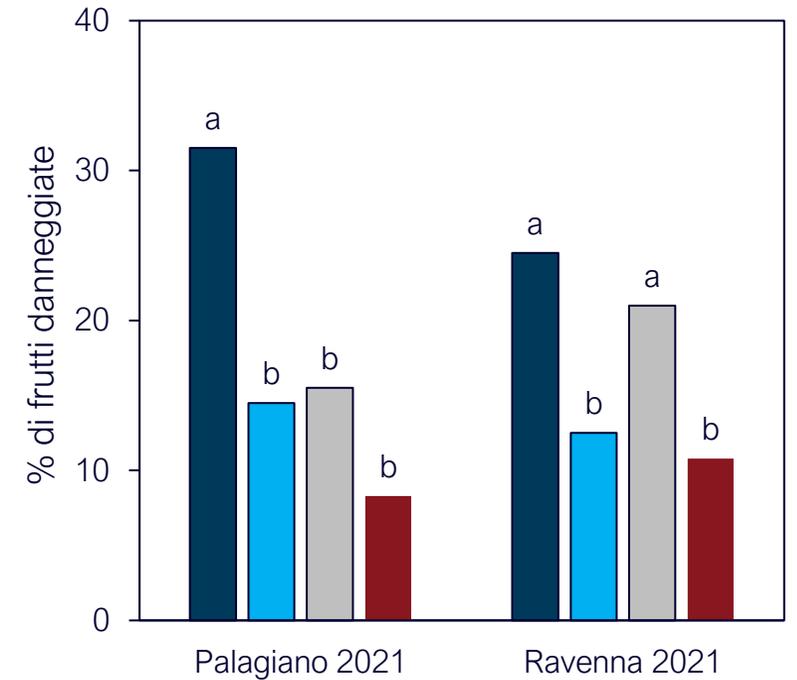
Gravita del danno su foglia



Incidenza del danno su foglia



Incidenza del danno su frutti

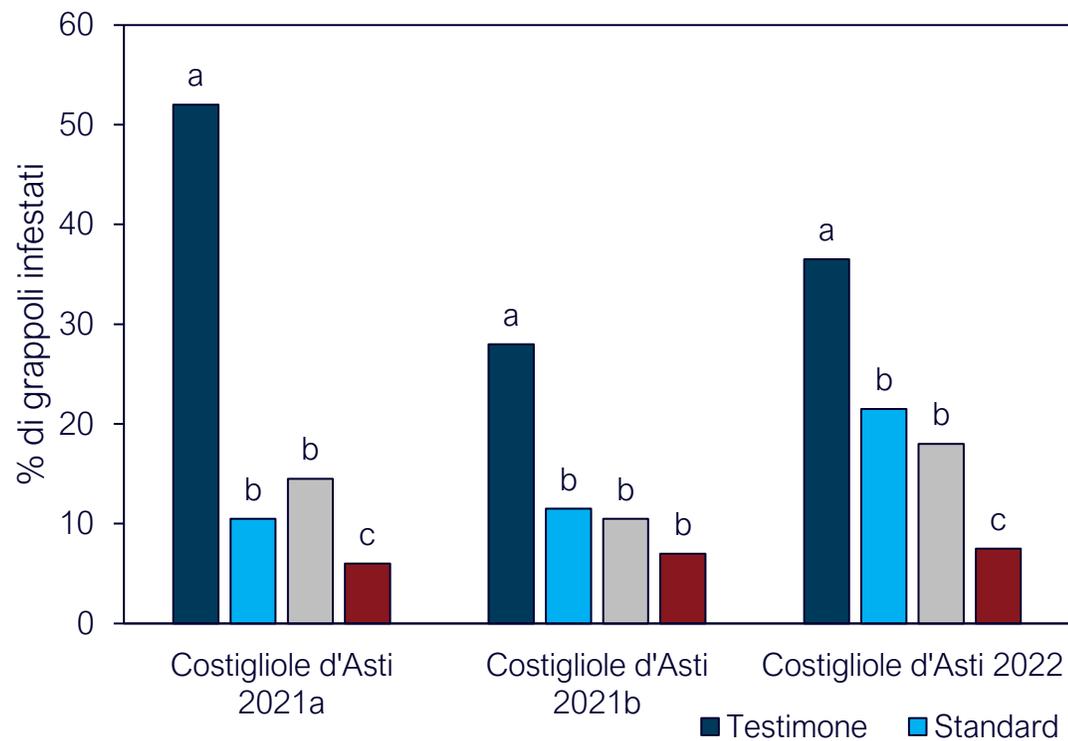


■ Testimone ■ Standard ■ Btk ■ Spear Lep 2.3 L/ha + Btk

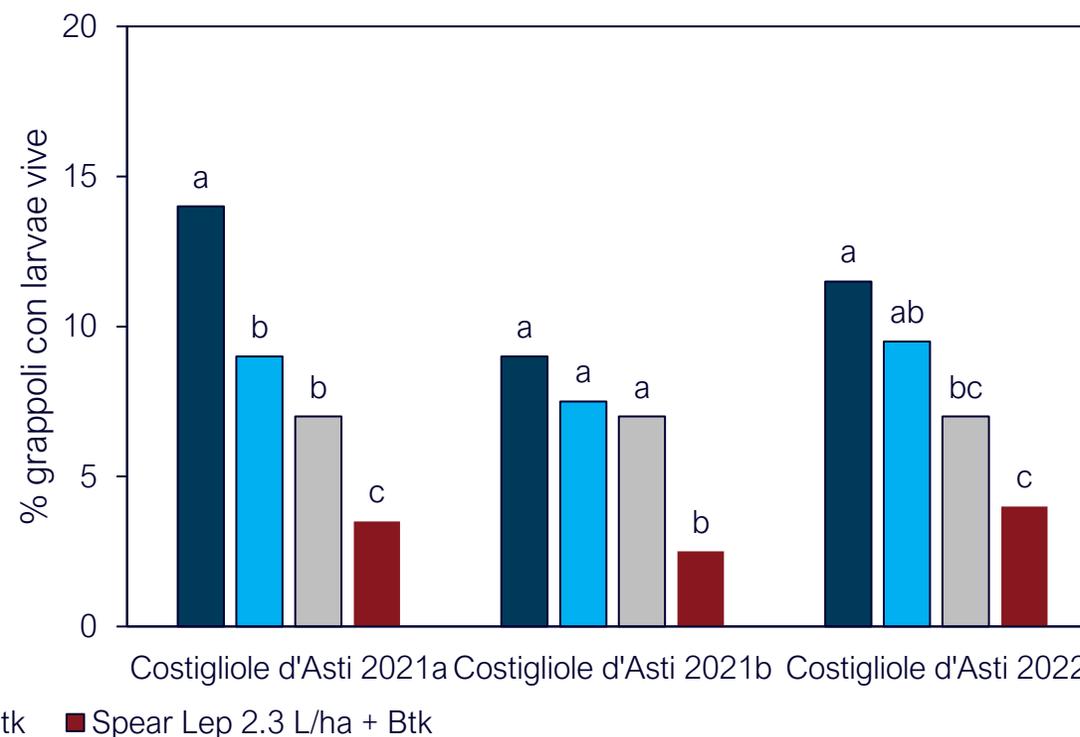


Lobesia botrana, Vite

Incidenza del danno sui grappoli



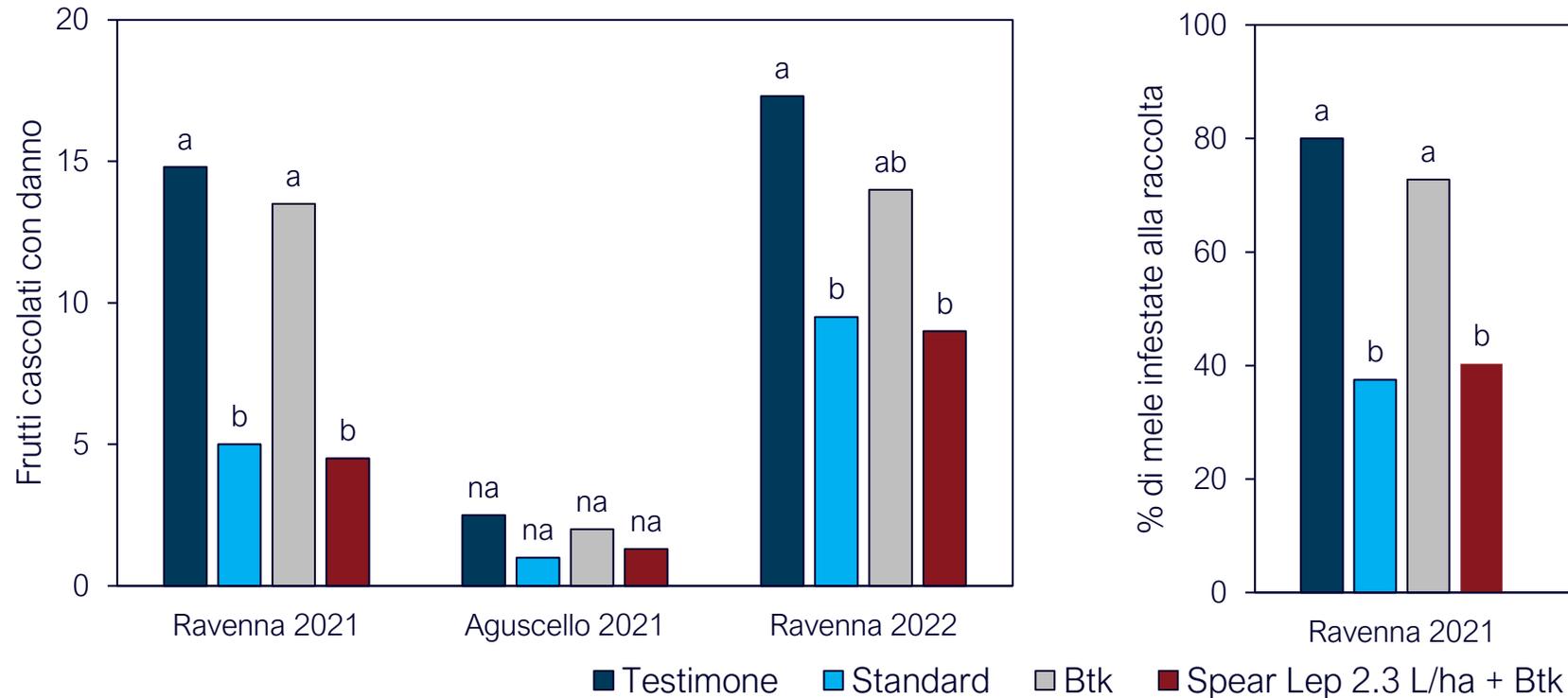
Presenza di larve vitali sui grappoli osservati



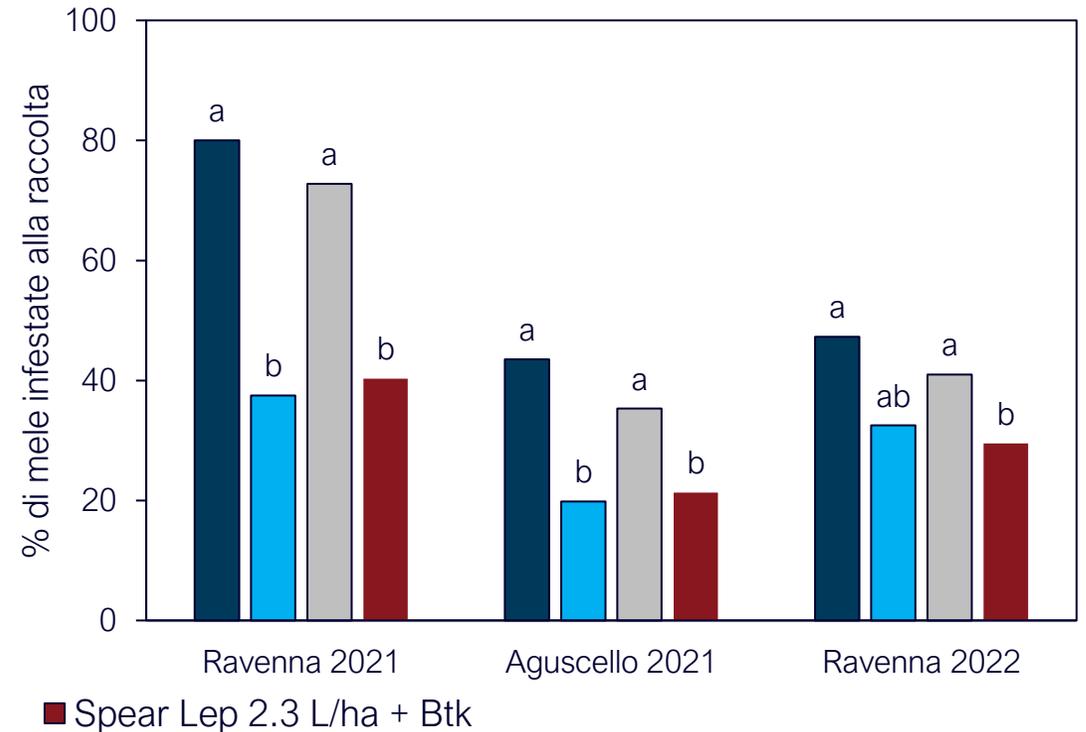


Cydia pomonella, Melo

Frutti cascolati con danno



% di mele infestate alla raccolta



Panoramica dei vantaggi di SPEAR®

Profilo di sicurezza

- A base biologica
- Sicurezza dell'operatore, dei vertebrati, impollinatori, e nemici naturali
- Nessun residuo nocivo
- Basso rischio di fitotossicità sulle piante

Versatilità

- PHI 0 giorni, REI 4 ore, esente da MRL (in base all'etichetta statunitense)
- Applicazione pre-raccolta per la gestione dei residui
- Sostituzione dei prodotti convenzionali
- Durata di conservazione minima di 2 anni a temperatura ambiente

Gestione della resistenza agli insetticidi

- Nuovo gruppo IRAC 32
- Nessuna resistenza incrociata e nessuna resistenza corrente
- Incorporazione nelle rotazioni dei prodotti, in strategia con altri MoA



Combinazioni coltura/avversità previste	
Mandorlo/Pesco	<i>Anarsia lineatella</i>
Melo	<i>Cydia pomonella</i>
Brassicacee	<i>Pieris brassicae</i>
Vite	<i>Lobesia botrana</i>
Mais	<i>Ostrinia nubilalis</i>
Solanacee	<i>Helicoverpa, Spodoptera</i>
Pomodoro	<i>Tuta absoluta</i>

UN NUOVO BIOINSETTICIDA A BASE DI PEPTIDI (GS-OMEGA/KAPPA-HXTX-HV1A) PER LA GESTIONE DEI LEPIDOTTERI FITOFAGI SU POMODORO, VITE E MELO

Grazie per l'attenzione!

Daniel Peck & Marja Koivunen, Vestaron
Michele Preti, Astra Innovazione e Sviluppo

Giornate Fitopatologiche, Bologna, Italia, 13 Marzo 2024