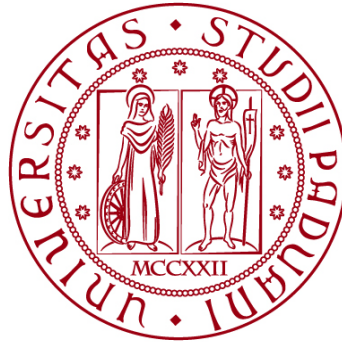


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Corso di Laurea in Biotecnologie



ELABORATO DI LAUREA

**NANOPARTICELLE PER CONTRASTARE I
PARASSITI DELLE PIANTE**

Tutor: Prof. Paolo Carletti

Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e
Ambiente - DAFNAE

Laureando: Luca Gennaro

ANNO ACCADEMICO 2023/2024

NANOPARTICELLE PER CONTRASTARE I PARASSITI DELLE PIANTE

Abstract: L'agricoltura è una delle pratiche più antiche e diffuse sul pianeta. Ha accompagnato l'uomo per millenni e si è evoluta di pari passo, adattandosi alle condizioni più diverse. La sua importanza economica e sociale è fondamentale per miliardi di persone in tutto il mondo: da essa deriva la maggior parte del cibo che alimenta la popolazione mondiale. Il riscaldamento globale e l'uso eccessivo dei pesticidi ne stanno però compromettendo la stabilità, causando perdite sempre maggiori e danni all'ambiente, all'ecosistema e alla salute umana non trascurabili. Uno dei maggiori problemi con cui l'agricoltura deve avere a che fare è quello relativo ai parassiti delle coltivazioni, i quali determinano ogni anno perdite dal 20% al 40% della produzione. Le nanotecnologie possono rappresentare la soluzione a questo problema, con la formulazione dei nanopesticidi: prodotti sintetici che permettono di svolgere la loro attività antiparassitaria in modo diretto o veicolando altri principi attivi. I vantaggi rispetto ai pesticidi tradizionali sono maggiore efficienza, minor tossicità su organismi non-bersaglio e quantità necessaria di prodotto da somministrare ridotta. I nanopesticidi possono essere la chiave per una transizione verso un'agricoltura più sostenibile e resiliente nei confronti dei cambiamenti climatici, oltre che la soluzione per aumentare la resa produttiva agro-alimentare al fine sostenere la crescente domanda alimentare di una popolazione in costante aumento.

Introduzione

Fin dall'antichità, l'agricoltura è stata la principale fonte di sostentamento sia delle grandi civiltà che delle piccole popolazioni diffuse su tutto il pianeta. Nel corso dei secoli, la pratica agricola ha visto numerose innovazioni nel campo della tecnica, nei metodi di coltivazione, è andata incontro a cambiamenti nella varietà delle coltivazioni e ha dovuto sapersi adattare alle più diverse condizioni climatiche. Molti dei cambiamenti sono avvenuti nel corso dell'ultimo secolo, quando l'agricoltura ha subito una meccanizzazione dei processi produttivi, ha assistito al miglioramento dei sistemi di irrigazione, ha visto l'introduzione dei pesticidi e l'avvento dei fertilizzanti sintetici, grazie al processo di Haber-Bosch¹. Questo processo chimico brevettato da Fritz Haber e successivamente migliorato da Carl Bosch nel 1910, permise di dare avvio alla sintesi industriale dell'ammoniaca a partire da azoto e idrogeno, sfruttando le alte temperature e un catalizzatore in ferro. Le grandi quantità di ammoniaca prodotta resero possibile la produzione su larga scala dei fertilizzanti sintetici, con un notevole aumento delle rese agricole. Tutte queste innovazioni rientrano nella cosiddetta "Green Revolution", la terza rivoluzione agricola che ha permesso di far fronte alla crescente domanda alimentare, dovuta all'incremento demografico costante, e ha migliorato le condizioni di lavoro di moltissimi agricoltori. Queste innovazioni hanno reso possibile aumentare le rese produttive, ma hanno portato l'agricoltura verso uno sfruttamento intensivo dei terreni che ha avuto come conseguenza un impatto ambientale non trascurabile.

Un esempio è il fenomeno dell'eutrofizzazione delle acque di fiumi e canali, dovuto all'eccessivo utilizzo dei fertilizzanti nelle coltivazioni. In seguito al dilavamento del terreno, buona parte di questi finisce nei corsi d'acqua e determina una eccessiva proliferazione di microalghe e batteri, che sul lungo periodo causa la morte di diversi organismi acquatici.

Un altro esempio è quello dei pesticidi: sostanze chimiche fondamentali per controllare o eliminare i parassiti delle coltivazioni (insetti, piante infestati, specie fungine), ma che allo stesso tempo sono coinvolti nell'inquinamento del suolo e possono rivelarsi tossici anche per organismi non bersaglio, come gli animali da allevamento e in alcuni casi anche per l'uomo.

Al giorno d'oggi i pesticidi sono uno dei principali trattamenti che permettono di mantenere delle rese produttive adatte a sostenere la domanda alimentare globale, diminuendo o azzerando le perdite di produzione dovute ai parassiti. Data l'importanza fondamentale dei prodotti fitosanitari, risulta impossibile rinunciare al loro utilizzo; di conseguenza, soprattutto negli ultimi anni, si sta cercando di muovere il sistema agricolo verso la sostenibilità.

Sebbene l'agricoltura sostenibile sia un concetto abbastanza generico, con questo termine si intende indicare un approccio che sia più rispettoso nei confronti

dell'ambiente, che utilizzi sostanze nutritive, acqua ed energia senza sprechi, che abbia un ridotto consumo di suolo, un minor impatto sulla biodiversità, che produca meno emissioni inquinanti, il tutto puntando sempre ad un aumento della produttività grazie alle innovazioni. Oltre a questi aspetti ambientali, l'agricoltura sostenibile si pone l'obiettivo di garantire una maggior equità sociale e un accesso indiscriminato ai prodotti agricoli; infatti, mentre la domanda mondiale di cibo è destinata ad aumentare, le risorse naturali come acqua, terreno coltivabile e fertilità del suolo sono finite. Questa sfida sociale è uno degli aspetti che l'agricoltura odierna, ma soprattutto quella del futuro, dovranno affrontare, rendendo cruciale la ricerca di nuove soluzioni produttive sostenibili.

Nell'ottica di una transizione verso un modello di agricoltura più sostenibile si sono proposte diverse strategie, soluzioni e innovazioni tecnologiche che vengono continuamente valutate e dibattute. Alcuni esempi sono l'agricoltura biologica, l'agricoltura idroponica o l'utilizzo della biologia molecolare per ottenere OGM e OGE.

In questo ventaglio di soluzioni si inseriscono anche le nanotecnologie: strumenti per un'agricoltura più efficiente e con un ridotto impatto ambientale, la cosiddetta "Agri-tech Revolution"¹.

Un'idea delle prospettive di evoluzione dell'agricoltura è data dal grafico (**Figura 1**) di Gregory V. Lowry *et al.*¹ che illustra gli andamenti nel corso del tempo dell'impatto ambientale e della resilienza agricola oltre che la variazione del rapporto resa-domanda. Nonostante le curve non siano rappresentative, questa illustrazione fornisce un'immagine chiara di come tutti i lati dell'agricoltura, analizzati durante il periodo della Green Revolution, si sviluppino in aspetti problematici quando si arriva al presente. Il grafico mostra però anche come la nuova "Agri-tech Revolution" possa essere la risposta a tutte queste sfide riducendo l'impatto ambientale, stabilizzando il rapporto resa-domanda e aumentando la resilienza nei prossimi anni, portando finalmente l'agricoltura verso la sostenibilità.

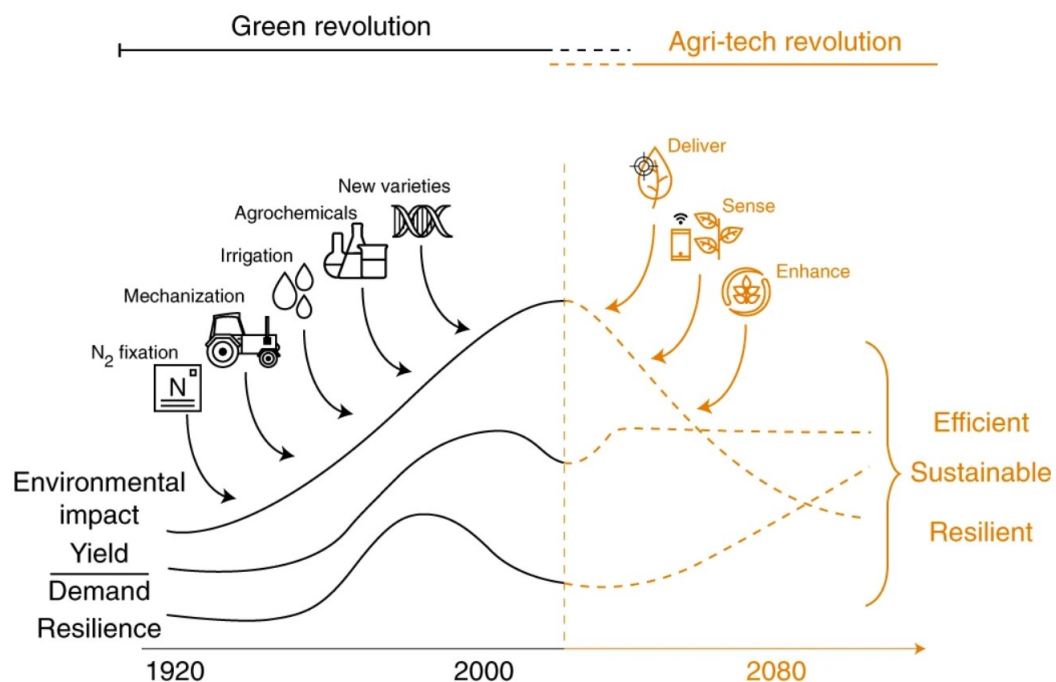


Figura 1: Le tecnologie della Green Revolution, come il processo di Haber-Bosch, la meccanizzazione e le nuove tecniche di irrigazione, hanno aumentato le rese agricole a tal punto da eccedere la domanda alimentare globale, senza cambiamenti massicci nell'uso del terreno coltivabile. Più recentemente, l'appiattimento delle curve di rendimento e l'aumento della domanda, il calo della resilienza (ad esempio, a causa dei cambiamenti climatici e della degradazione del suolo) e l'incremento insostenibile dei danni ambientali indicano che la Green Revolution è ormai giunta al termine. Sembra quindi necessaria una nuova "Agri-tech Revolution", guidata in parte dalle nanotecnologie, per allineare le rese con la crescente domanda, aumentare la resilienza e ridurre gli impatti ambientali in modo da rendere l'agricoltura più sostenibile. Le curve rappresentate nel grafico hanno solo uno scopo illustrativo e non sono basate su dati concreti; il loro obiettivo è quello di mostrare le tendenze relative all'impatto ambientale, alla resilienza e al rapporto resa-domanda¹.

Parassiti e pesticidi: situazione attuale e sfide per l'agricoltura

L'agricoltura deve costantemente far fronte a diversi problemi e, tra questi, i parassiti rappresentano uno di quelli principali.

Il termine "parassita", in agricoltura, è utilizzato per indicare qualunque organismo indesiderato che si insedi in una coltivazione portando effetti deleteri sulla pianta, danneggiando la produzione agricola oppure influenzando negativamente sulla conservazione del prodotto finale nei magazzini. Un parassita può agire in diversi momenti del processo produttivo (semina, germinazione, vita adulta, stoccaggio) oltre che in differenti siti della pianta (foglie, frutti, radici e rizosfera, fusto).

Quindi con "parassiti" ci si riferisce ad un gruppo generico di organismi di cui fanno parte insetti (ad esempio afidi, cocciniglie, coleotteri e bruchi), acari, nematodi, funghi, batteri, virus, molluschi e piccoli mammiferi. Questi organismi possono nutrirsi dei tessuti vegetali, causando danni a foglie, fiori e frutti o possono infestare le radici delle piante, compromettendo la capacità della pianta di assorbire acqua e sostanze nutritive. Ciò che ne risulta è defoliazione, perdita nella

qualità e nella quantità dei frutti e nei casi più estremi anche un rallentamento della crescita della coltura. Oltre ai danni diretti, i parassiti possono causare anche danni indiretti, come sottrarre le sostanze nutritive e veicolare malattie.

Tra i parassiti non rientrerebbero le piante infestanti, ma rappresentano comunque un problema per le coltivazioni dal momento che, competendo per le risorse naturali, ne rallentano la crescita e lo sviluppo.

I parassiti delle coltivazioni sono diffusi in tutto il mondo, anche se ovviamente variano in base alla posizione geografica. Molto spesso una determinata specie non è parassitaria ed è normalmente presente nell'habitat delle coltivazioni; tuttavia, la sua presenza può diventare un problema quando si ha una proliferazione eccessiva o quando viene a mancare l'equilibrio ecologico di coesistenza con gli altri organismi, in particolare i nemici naturali dei parassiti. Questi, infatti, svolgono un ruolo fondamentale nell'ecosistema mantenendo sotto una certa soglia la presenza dei parassiti.

Nel 2019 la FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*) ha stimato perdite dal 20% al 40% nella produzione agricola globale a causa dei parassiti e ne ha fatto un bilancio economico annuale. Dalle stime è risultato un danno attorno ai 220 miliardi di dollari a causa delle malattie delle piante e di 70 miliardi di dollari a causa degli insetti invasivi.

Osservando questi dati ci si rende conto dell'impatto che i parassiti hanno sull'economia globale e sulla produzione agro-alimentare internazionale; è un problema persistente che comporta grosse perdite ogni anno e che rischia di peggiorare a causa del riscaldamento globale. Secondo alcuni studi, l'innalzamento delle temperature porterebbe ad un aumento delle perdite dei raccolti a causa degli insetti invasivi: temperature maggiori accelererebbero il loro metabolismo, portandoli a consumare più cibo, con conseguenti infestazioni più lunghe². Inoltre, un clima più caldo modificherebbe anche il tasso di crescita degli insetti diminuendo nelle zone tropicali, ma aumentando alle latitudini maggiori². Alla proliferazione degli insetti va aggiunta anche quella dei funghi e dei batteri che è favorita dalle temperature più miti; questo rappresenta un grosso problema non solo per l'agricoltura ma anche per la salute pubblica poiché alcuni generi di funghi come *Fusarium* o *Aspergillus* sono in grado di produrre tossine molto pericolose per l'essere umano e che possono essere ritrovate anche negli alimenti se contaminati da questi organismi.

Alla luce di queste problematiche, si pone d'obbligo agire per mantenere una sicurezza alimentare e un livello produttivo adatto a soddisfare il fabbisogno alimentare della popolazione mondiale.

Attualmente per combattere i parassiti vegetali si utilizzano i pesticidi.

Con il termine "pesticidi" o "prodotti fitosanitari" si fa riferimento ad una serie di prodotti che vengono utilizzati per "mantenere in buona salute le colture e

impedire loro di essere distrutte da malattie e infestazioni” (fonte: *European Food Safety Authority* o EFSA). In realtà l’EFSA chiarisce che oltre ai prodotti fitosanitari, i “pesticidi” comprendono anche i biocidi che “non sono destinati all’uso su piante, ma servono a debellare organismi nocivi e portatori di malattie come insetti, ratti e topi”. I pesticidi comprendono insetticidi, erbicidi, fungicidi, rodenticidi, molluschicidi e nematocidi, ma la caratteristica comune è “che tutti contengono almeno una sostanza attiva. Tali sostanze possono essere sostanze chimiche oppure microrganismi, inclusi i virus, che permettono al prodotto di svolgere la sua azione” (fonte EFSA).

Ogni pesticida ha un meccanismo di azione proprio, ma l’obiettivo comune è quello di uccidere i parassiti o bloccarne la crescita, in modo da controllarne la diffusione all’interno della coltivazione.

I primi utilizzi di prodotti con funzione antiparassitaria risalgono all’antichità quando diverse civiltà scoprirono le proprietà di alcune sostanze derivate in modo semplice da minerali. Circa 4500 anni fa i Sumeri utilizzavano dei preparati di zolfo per controllare acari e insetti, mentre 3200 anni fa i Cinesi utilizzavano delle miscele di mercurio e arsenico per controllare i pidocchi³. Altre sostanze usate in antichità da Cinesi, Persiani, Greci e Romani erano quelle di origine vegetale come il piretro, un insetticida ottenuto dall’essiccazione dei fiori di *Chrysanthemum cinerariifolium*, dal quale negli anni ‘40 e ‘50 del XX secolo sono stati sintetizzati artificialmente piretrine e piretroidi. Queste due classi di insetticidi sono utilizzate anche al giorno d’oggi, grazie alla loro efficacia e sicurezza. I preparati di origine naturale vennero utilizzati proprio fino alla metà del XX secolo, quando vennero soppiantati dalla sintesi dei primi pesticidi sintetici come paradiclorodifeniltricloroetano (DDT), aldrin, parathion e 2,4-D³. Questi composti chimici, mostrarono inizialmente un’ottima efficacia, tant’è che vennero largamente impiegati in molti campi, ottenendo non solo benefici nel controllo dei parassiti delle coltivazioni, ma anche notevoli risultati sanitari come la riduzione della diffusione della malaria, grazie all’uccisione del vettore della malattia: le zanzare. Tuttavia, dopo una ventina di anni, si riscontrarono i primi effetti negativi che quei pesticidi sintetici avevano sull’uomo, sugli animali e sull’ambiente: queste sostanze mostravano tossicità a lungo termine, capacità di bioaccumulo e danni a organismi non bersaglio (ad esempio ai sistemi endocrino o riproduttivo), motivi per cui alcuni di essi furono vietati.

Attualmente sono in commercio molti pesticidi e sono classificati in base alla loro origine, alla classe chimica a cui appartengono, ai gruppi funzionali che presentano, alla modalità di azione oppure alla loro tossicità. Per fornire un’idea più chiara e schematica di questa classificazione, sono riportate di seguito 3 tabelle (**Tabella 1**, **Tabella 2** e **Tabella 3**), tradotte dalla pubblicazione “Pesticides, History, and Classification” di Abubakar Yusuf *et al*⁴.

Tabella 1: Classificazione dei pesticidi in base all'origine

Tipo di origine	Provenienza ed esempi
Origine organica	-Naturale o dalle piante (oli essenziali, estratti vegetali, scarti dell'estrazione dell'olio dai semi) -Prodotti da sintesi chimica (ad esempio piretroidi, organo-fosfati, carbammati e organo-cloruri)
Origine inorganica	-Mix di sali inorganici -Bordeaux mixture: Cu (OH) ₂ , CaSO ₄ -Malachite Cu (OH) ₂ , CuCO ₃ e zolfo
Origine biologica	Pesticidi microbici (batteri, virus e funghi)

Tabella 2: Classificazione dei pesticidi in base al parassita bersagliato

Pesticida	Classe	Parassiti Target
Acaricidi	Acari	Bifonazolo
Alghicidi	Alghe	Solfato di rame
Avicidi	Uccelli	Avitrol
Battericidi	Batteri	Complessi di rame
Fungicidi	Funghi	Azoxystrobin
Diserbanti	Erbe infestanti	Atrazina
Insetticidi	Insetti	Aldicarb
Larvicidi	Larve	Metoprene
Molluschicidi	Lumache	Metaldeide
Nematocidi	Nematodi	Aldicarb
Ovicidi	Uova (previene la schiusa delle uova di insetti e acari)	Benzoxazina
Piscicidi	Pesci	Rotenone
Repellenti	Insetti	Metiocarb
Rodenticidi	Roditori	Warfarin
Termiticidi	Uccide le termiti	Fipronil
Virucidi	Virus	Scytovirin

Tabella 3: Classificazione dei pesticidi in base alla funzione

Azione	Funzione	Esempi
Deterrenti alimentari	Prevencono un insetto o un parassita dal nutrirsi	(<i>Azadirachta indica</i> A. Juss)
Deterrenti degli ovopositori	Prevencono la deposizione delle uova da parte delle femmine gravide	(<i>Azadirachta indica</i>)

Repellenti	Dissuadono i parassiti dall'avvicinarsi alle colture	Olio essenziale di piante
Attrattivi	Attirano i parassiti	Gossyplure
Fumiganti	Uccidono i parassiti bersaglio producendo vapore	Fosfina
Regolatori di crescita degli insetti	Agiscono interrompendo la crescita o lo sviluppo di un insetto	Diflubenzuron
Sinergici	Una sostanza chimica che aumenta la tossicità di un pesticida, ma che da sola non è tossica per i parassiti	Piperonil butossido

La ricerca e la sintesi di nuovi prodotti fitosanitari non si è mai fermata, puntando a scoprire e produrre nuove molecole con tossicità sempre più specifica e minori effetti collaterali sugli organismi non-target. Questo ha portato alla formulazione di nuovi pesticidi più efficienti, che hanno permesso di ridurre la quantità di prodotto da somministrare per ettaro.

Nonostante questi progressi abbiano ridimensionato l'impatto ambientale, il problema persiste: nel 2022 (i più recenti dati disponibili) la FAO ha stimato un uso annale di 3.7 milioni di tonnellate di pesticidi a livello globale con un aumento del 4% rispetto all'anno precedente, con una tendenza sempre in crescita (**Figura 2**). Di questa enorme quantità solo una piccola parte viene effettivamente usata per contrastare i parassiti, mentre il resto viene disperso nell'ambiente³.

Dopo la somministrazione, il comportamento e la persistenza dei vari pesticidi nell'ambiente dipendono ovviamente dalle proprietà chimiche della sostanza, ma generalmente il prodotto va in contro ad una dispersione e ad una degradazione, producendo nuove sostanze chimiche. I principali fattori che causano la degradazione del pesticida sono a luce, le reazioni chimiche e la comunità microbica del suolo. Sebbene la degradazione dei pesticidi possa sembrare un risvolto positivo, spesso questo fenomeno rappresenta un pericolo maggiore perché dalla scissione del principio attivo si possono generare sostanze chimiche ancora più dannose.

Per quanto riguarda la dispersione, invece, la maggior parte del prodotto somministrato viene perso e finisce nel terreno, dove può essere adsorbito nelle particelle che compongono il suolo (argille, colloidali organici) e può rimanere a lungo a seconda delle caratteristiche del suolo (come pH e composizione del terreno). Nel terreno i pesticidi possono andare incontro a lisciviazione, finendo nelle falde acquifere e contaminandole. Altri fenomeni di dispersione molto comuni sono la volatilizzazione del prodotto dovuta ad alte temperature e basse umidità oltre che alla dispersione che opera naturalmente il vento in seguito all'applicazione di pesticidi spray³.

Tutti questi fenomeni di dispersione contribuiscono ad estendere la contaminazione ambientale (di suolo, aria e acqua) anche a zone distanti dal sito di applicazione dei pesticidi, finendo addirittura nella filiera alimentare e quindi interessando un grande numero di animali, piante e uomini. Proprio per questo motivo, l'Unione Europea ha introdotto con il *Green Deal* nel 2020 degli obiettivi per ridurre almeno del 50% l'utilizzo dei pesticidi⁵.

Figure 1: Global pesticides use by category

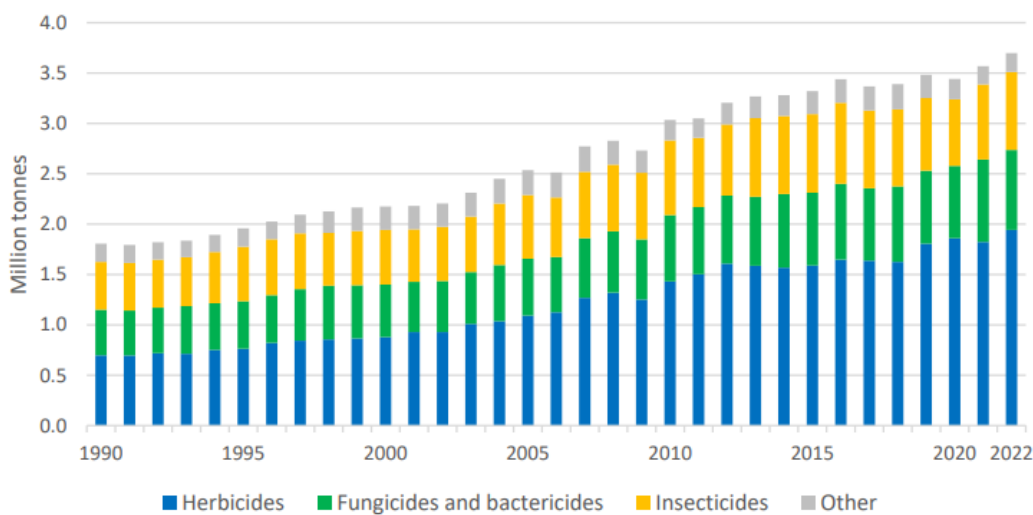


Figura 2: Fonte FAO 2024. FAOSTAT: Evoluzione dell'utilizzo globale dei pesticidi per categoria in milioni di tonnellate.

L'impatto ambientale dei prodotti fitosanitari è una problematica importante, ma queste sostanze chimiche sono coinvolte in una sfida ancora più rilevante: fornire abbastanza cibo alla popolazione mondiale.

In un secolo, infatti, la popolazione mondiale è cresciuta da 1,5 miliardi nel 1900 a 6,1 miliardi nel 2000³, raggiungendo le 8,1 miliardi di unità nel 2024. Questo progresso non sarebbe stato possibile senza un parallelo aumento della produzione alimentare e tra i fattori che permisero questo progresso, i pesticidi sono uno dei più importanti, consentendo di ridurre le perdite dei raccolti e della produzione agricola causate da parassiti, erbe infestanti e malattie. Al giorno d'oggi, circa un terzo dei prodotti agricoli sono ottenuti utilizzando pesticidi³. Senza il loro utilizzo, in determinati settori si avrebbe un calo drastico della produzione perché si avrebbe una perdita del 78% nel settore frutticolo, del 54% in quello degli ortaggi e del 32% nella produzione dei cereali³.

Si stima che la crescita demografica continui, arrivando ad una popolazione prevista di 9,4-10 miliardi di persone nel 2050 e di conseguenza anche la produttività agricola dovrà adattarsi³. A questa sfida si aggiunge anche quella dei cambiamenti climatici che portano siccità, eventi metereologici estremi,

condizioni climatiche instabili, rendendo più imprevedibili gli attacchi dei parassiti e la loro gestione nei prossimi decenni.

Per affrontare tutte queste sfide, il settore agricolo dovrà utilizzare tutte le risorse possibili, sicuramente facendo affidamento a nuovi strumenti e alle innovazioni tecnologiche.

In questo scenario, le nanotecnologie potrebbero rappresentare la soluzione per veicolare i pesticidi in modo più efficiente e mirato, al fine di guidare l'agricoltura verso una produzione più sostenibile.

Nanotecnologie: cenni storici e settori di applicabilità

La nanotecnologia è “un ambito delle scienze e tecnologie applicate che si occupa del controllo della materia su scala atomica e molecolare, di solito al di sotto di 100 nanometri” (fonte: EFSA); grazie alle loro dimensioni molto ridotte, i nanomateriali possono avere proprietà fisico chimiche diverse rispetto alle sostanze analoghe su scala normale. Questa peculiarità può essere sfruttata in modi diversi e in settori diversi.

Il concetto di manipolare la materia a livello atomico risale alla seconda metà del '900, quando Richard Feynman (Nobel per la fisica nel 1965) lo introdusse durante una conferenza intitolata “There's Plenty of Room at the Bottom”.

La parola “nanotecnologia” venne utilizzata per la prima volta, una quindicina di anni dopo, dallo scienziato giapponese Norio Taniguchi, ma è solo negli anni '80 che acquisisce il significato odierno. Infatti, nel 1986 Eric Drexler, nel suo libro intitolato “Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology”, propone l'idea di macchine molecolari (*assembler*) in grado di autoreplicarsi e di costruire oggetti di dimensioni molecolari.

Negli anni successivi, le nanotecnologie hanno attirato sempre più attenzione sia da parte dei ricercatori che da parte degli investitori e ciò ha permesso di portare avanti lo sviluppo di questa innovazione. Tutt'ora, quello delle nanotecnologie è un settore all'avanguardia che continua ad attirare interesse e per il quale è prevista una crescita futura.

Al giorno d'oggi le nanotecnologie sono impiegate in ambito medico e farmaceutico come biosensori diagnostici, come vettori per veicolare farmaci in modo mirato, come sonde per identificare cellule tumorali, come antibatterici, ma anche per ridurre infiammazioni e aiutare la guarigione dei tessuti⁶.

Le nanotecnologie possono trovare spazio nel settore energetico e dell'elettronica⁶, agendo come sistemi fotosintetici artificiali e semiconduttori; possono essere utilizzate anche per produrre nuovi materiali con nuove proprietà chimico-fisiche, per poi essere impiegati ad esempio come additivi o materiali per costruzioni⁶. Le nanotecnologie possono vedere applicazione anche nel trattamento delle acque reflue, per ottenere acqua pulita. Infine, uno dei settori

in cui il loro utilizzo sembra molto promettente è quello agro-alimentare, come ad esempio l'impiego di nanomateriali per il packaging alimentare oppure per veicolare fertilizzanti e pesticidi⁶.

Nanotecnologie in agricoltura

Parlando di nanotecnologie applicate alle specie vegetali, solitamente ci si riferisce ad un loro impiego nelle coltivazioni e a come l'agricoltura possa trarre beneficio da questa tecnologia. Ciò è dovuto alla fondamentale importanza economica e sociale che ha l'agricoltura a livello globale. Infatti, dal momento che lo sviluppo nanotecnologico a livello di ricerca e sperimentazione richiede grandi risorse economiche, si cerca ottenere dei risultati nei settori di cruciale importanza. Il fine ultimo della loro applicazione è quello di aumentare le rese produttive e ridurre gli sprechi, andando a migliorare l'efficienza della produzione. Tutti questi sforzi sono volti a favorire il passaggio ad un'agricoltura più sostenibile, riducendo i costi ambientali che essa comporta durante la produzione e allo stesso tempo a garantire abbastanza cibo ad una popolazione mondiale in continua crescita, combattendo la povertà e la malnutrizione.

Questa valutazione sull'applicazione delle nanotecnologie nelle coltivazioni non esclude però la possibilità che in futuro non possano essere fatti interventi anche su piante non da reddito come, ad esempio, potenziali trattamenti di controllo sulla diffusione di specie vegetali invasive.

In ambito agricolo le nanotecnologie possono essere utili sotto molti aspetti.

- *Nanotecnologie per veicolare sostanze chimiche in agricoltura (come fertilizzanti, pesticidi, erbicidi, regolatori di crescita e ormoni):* molte nanoparticelle possono essere usate come veicolo per il trasporto delle sostanze desiderate, grazie alla loro incapsulazione o intrappolamento. Questo permetterebbe di aumentare la stabilità della sostanza chimica e di renderla più resistente alla degradazione ambientale. In tal modo, grazie ad un uso più efficiente, si può avere una riduzione nelle quantità del prodotto da somministrare, con conseguenti vantaggi economici per l'agricoltore e un minore impatto ambientale.

Un altro grande vantaggio del nano-trasporto è la possibilità di regolare il rilascio della sostanza chimica, andando quindi a fornirla in modo controllato, evitando possibili sovra utilizzi e quindi anche in questo caso ridurre input e sprechi^{1,7}.

- *Sistemi di biosensori in campo per monitorare le condizioni e gli stress delle coltivazioni:* le nanotecnologie possono essere sviluppate per monitorare in tempo reale parametri come temperatura, umidità, livello di fertilità del suolo, presenza di parassiti o malattie, ma anche per controllare il livello di sviluppo delle piante. Tutto questo permetterebbe ancora una volta di

utilizzare le risorse in modo più efficiente e anche di valutare le condizioni migliori per la semina e il raccolto^{1,7}.

- *Contribuire alla selezione genetica di tratti di interesse commerciale nelle piante:* le nanotecnologie possono aiutare le biotecnologie a migliorare le piante a livello genetico, permettendo un sequenziamento più rapido, affidabile e a costi inferiori⁷.
- *Nanotecnologie per studiare i meccanismi di azione delle malattie delle piante:* con lo sviluppo di strumenti che permettano lo studio delle interazioni biologiche tra le cellule vegetali e i patogeni, in modo da capire le cause scatenanti di determinate malattie e aiutare a prevenirle e curarle⁷.
- *Migliorare l'efficienza della fotosintesi e dell'uso dell'acqua:* grazie ad una distillazione dell'acqua salata ad opera di nanotecnologie che sfruttano l'energia del sole, si potrebbe rendere l'acqua con alta salinità adatta all'agricoltura. Oltre a questo la nanotecnologia ha la possibilità di migliorare l'efficienza della fotosintesi, agendo a più livelli diversi¹.
- *Migliorare l'integrità e la salute del suolo:* le nanotecnologie possono promuovere la salute del suolo, ad esempio grazie a nano-additivi che riducono la contaminazione, oppure possono manipolare le interazioni a livello della rizosfera tra il suolo e i microorganismi (fondamentali per lo sviluppo vegetale)¹.

É importante ricordare che, nonostante i possibili benefici che le nanotecnologie possano portare e nonostante l'interesse industriale in quest'area, gli esempi disponibili di prodotti commerciali sono pochi: la maggior parte delle applicazioni nanotecnologiche sono ancora a livello di ricerca e sviluppo; tuttavia, è probabile che il settore agro-alimentare veda queste innovazioni presto utilizzate anche su larga scala.

Nanoparticelle: produzione e tipologie

Tra i possibili utilizzi delle nanotecnologie in agricoltura, quello per veicolare sostanze chimiche è stato uno dei primi ad essere sviluppato e al giorno d'oggi è senza dubbio uno dei più diffusi. La somministrazione del fertilizzante o del pesticida desiderato viene fatta con l'aiuto di nanoparticelle (NPs) e nanomateriali (NMs) che permettono la nano-incapsulazione, l'intrappolamento o il loro rivestimento con la sostanza chimica di interesse. Le nanoparticelle utilizzate possono essere di materiali e dimensioni diverse e le proprietà di ciascuna cambiano in base a queste due caratteristiche. In generale, più sono piccole e più superficie hanno a disposizione per legare le sostanze chimiche e per fare scambi con l'ambiente. NPs e NMs rendono possibile migliorare l'efficienza di utilizzo di pesticidi ed erbicidi, ridurre la dispersione nell'ambiente e quindi andare a

diminuire l'inquinamento ambientale, oltre che eventuali danni collaterali agli organismi non bersaglio.

Per sintetizzare le nanoparticelle esistono tre approcci (come hanno rappresentato Smriti Arora *et al.*⁸ in **Figura 3**): i primi ad essere stati sviluppati sono gli approcci top-down e bottom-up, ma più recentemente ha preso piede anche l'approccio di sintesi biologica.

L'approccio top-down prevede la rottura dei legami tra le molecole di sostanze di partenza dette *bulk components*, per ottenere particelle o cristalli di dimensione nell'ordine dei nanometri, utilizzando generalmente metodi fisici come fresatura meccanica, laser, incisione. Se da un lato è un processo relativamente semplice, dall'altro ci sono dei lati negativi da prendere in considerazione, come la difficoltà a proseguire con uno scale-up produttivo, l'uso eccessivo di energia necessaria a disgregare la materia di partenza (che rende questo approccio costoso) e la possibile alterazione delle sue proprietà chimico-fisiche originali^{5,8}.

L'approccio bottom-up, invece, consiste nel formare le nanoparticelle partendo dai singoli atomi o gruppi funzionali e unendoli in modo controllato, generalmente utilizzando metodi chimici, come solventi, catalizzatori e riducenti. Considerando l'impatto ambientale di questo processo ci si rende conto che può essere inquinante per l'ambiente e quindi rappresenta un controsenso, se si pensa all'obiettivo per cui vengono progettate le nanoparticelle^{5,8}.

La terza strategia di produzione delle NPs è la sintesi biologica, un metodo a basso costo ed eco-friendly. Questo approccio sfrutta come bioreattori piante o microorganismi (batteri, funghi, alghe) per la produzione di vari tipi di nanomateriali grazie a enzimi, proteine, riducenti naturali, zuccheri e lipidi. Le NPs vengono poi prelevate dagli estratti cellulari e purificate^{5,8}.

In base al processo e ai materiali che si utilizzano, si possono conferire proprietà e dimensioni diverse a seconda delle necessità e dell'utilizzo desiderati.

La diversa morfologia, composizione chimica e le caratteristiche della superficie possono classificare le NPs in categorie differenti.

Una prima classificazione può essere fatta in base alla natura chimica, dividendo le nanoparticelle in organiche e inorganiche. Delle NPs inorganiche fanno parte AgNP, AlNP, CuNP, Zinc oxide (ZnO), Silica NP (SiNP), Cerium oxide (Ce₂O₃), Titanium oxide (TiO₂), FeNP, Iron oxide (Fe₃O). Ogni nanoparticella ha proprietà differenti; ad esempio, le nanoparticelle di silicio (SiNP) hanno una abbondante porosità e una grande superficie, le nanoparticelle di ferro invece hanno proprietà magnetiche, mentre quelle di argento hanno proprietà antibatteriche.

Nelle NPs organiche rientrano polimeri, lipidi e nanotubi di carbonio; la peculiarità di questi nanomateriali organici è quella di essere biodegradabili.

Una seconda classificazione può essere fatta in base al tipo di caratteristiche della superficie delle nanoparticelle, le quali possono essere sintetizzate per presentare

parziali cariche positive o negative, per formare legami idrogeno, interazioni idrofobiche o di Van der Waals, o ancora interazioni covalenti o non-covalenti. A seconda delle caratteristiche della superficie si può avere il rivestimento o la nanoincapsulazione con differenti pesticidi o erbicidi, migliorando la loro stabilità, biodisponibilità e regolando il loro rilascio.

Esistono quindi una molteplicità di nanoparticelle con proprietà diverse e che permettono un approccio mirato a seconda del tipo di intervento che si vuole portare avanti su una coltivazione. Le NPs forniscono un'elevata flessibilità di azione, ma allo stesso richiedono una grande conoscenza della chimica, della biologia e della tossicologia, per valutare l'applicabilità di ogni singolo trattamento. La maggior parte delle sperimentazioni con NMs sono state fatte in laboratori e quindi in condizioni stabili, cosa che invece non si ha in un campo aperto, dove la variabilità delle condizioni è molto ampia. Per questo motivo sono necessari ulteriori studi per ampliare la conoscenza sui meccanismi di azione delle nanoparticelle e sulle loro possibili conseguenze a lungo termine sulle coltivazioni e sugli agricoltori.

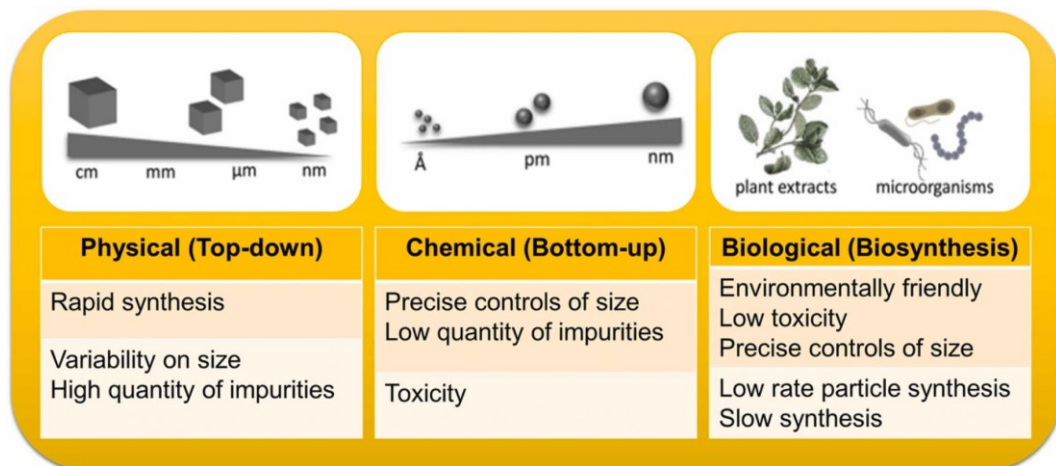


Figura 3: I tre approcci per la sintesi delle nanoparticelle⁸.

Nanopesticidi per contrastare i parassiti delle piante

Grazie alla loro versatilità e alle uniche proprietà fisiche e chimiche dovute alle loro dimensioni ridotte, le nanoparticelle aiutano a contrastare i parassiti delle piante. In questo campo le nanotecnologie sono impiegate per la produzione di nanopesticidi.

I nanopesticidi possono essere divisi in due categorie⁹:

- *Tipo 1:* nanoparticelle metalliche che agiscono direttamente sulla pianta, svolgendo una propria azione antibatterica, antivirale o antifungina. Questa categoria di nanopesticidi è attualmente quella più studiata;

- *Tipo 2*: nanotrasportatori (o nanocarriers) che hanno la funzione di veicolare altri principi attivi come pesticidi classici o bio-pesticidi, pesticidi a RNA o pesticidi a feromoni “attract-and-kill”.

Per quanto riguarda i nanopesticidi di Tipo 1, si è osservato che nanoparticelle metalliche come Ag, Cu, ZnO₂, TiO₂ e SiO₂ hanno degli effetti positivi nel contrastare batteri, funghi e virus, a diversi livelli dei loro cicli vitali e indipendentemente dal sito di applicazione (fogliare o suolo)⁵. È stato dimostrato che le Ag NPs hanno un’azione citotossica nei confronti di alcune specie fungine, probabilmente danneggiando la membrana delle spore o causando danni al DNA e alle proteine. Invece, gli effetti antibatterici delle CuO NPs si ritiene siano dovuti all’induzione di un alto numero di ROS (specie reattive dell’ossigeno) e quindi causando stress ossidativo. Altri studi hanno descritto un’attività antivirale delle ZnO₂ NPs e SiO₂ NPs, dopo la loro somministrazione in piante di *Nicotiana benthamiana* infettate dal virus del mosaico del tabacco (TMV); queste nanoparticelle agivano impedendo la replicazione del virus, deattivandolo⁵.

I nanopesticidi di Tipo 2 invece sono più versatili poiché possono essere progettati in anticipo a seconda del trattamento che si intende applicare: in questo modo si può dirigere il principio attivo in punti precisi della pianta e controllarne il rilascio a seconda degli effetti desiderati o delle condizioni ambientali (temperatura, umidità o pH). Queste proprietà consentirebbero di effettuare dei trattamenti sulle coltivazioni in anticipo che andranno ad attivarsi in determinate condizioni ambientali. Oltretutto, sarebbe possibile progettare delle nanomateriali per il trasporto sincrono di fertilizzanti e pesticidi, riducendo di conseguenza il numero di trattamenti.

Il principio attivo può essere adeso fisicamente o chimicamente sulla superficie della nanoparticella oppure può essere dissolto, adsorbito o nanoincapsulato nel nanocarrier. Le modalità di fusione del nanotrasportatore con il principio attivo sono molte e dipendono dalle caratteristiche di entrambi, ma in generale sono coinvolti legami covalenti, legami idrogeno, interazioni idrofobiche e idrofiliche e l’adesione può avvenire durante la sintesi o alla fine di essa.

Un nanocarrier generalmente conferisce maggior stabilità al pesticida incorporato, proteggendolo dalla naturale degradazione a cui andrebbe incontro nell’ambiente (fotolisi, a causa delle temperature o di reazioni chimiche) e aiuta la pianta ad assorbirlo. Queste proprietà permettono di ridurre le quantità di pesticida per ettaro da somministrare, aumentando contemporaneamente l’efficacia di somministrazione e riducendo la perdita di prodotto per dispersione e distruzione; a questi effetti va aggiunta anche una ridotta tossicità nei confronti degli organismi non bersaglio.

I nanotrasportatori possono incapsulare pesticidi classici ma anche bio-pesticidi (meno impattanti dal punto di vista ambientale e solitamente di origine batterica o vegetale).

Nell'ambito dei nanocarrier per veicolare pesticidi è stato osservato come l'adsorbimento dell'avermectina su boro nitrile NPs⁵ permettesse di ottenere rilascio controllato da pH, protezione dalla degradazione UV e maggior capacità di adesione ai tessuti vegetali. L'avermectina è il capostipite di un gruppo di insetticidi naturali, prodotti da *Streptomyces avermitilis*, e la sua tossicità è dovuta all'afflusso di ioni cloro che causa nelle cellule degli insetti bersaglio. Questo effetto porta ad iperpolarizzazione della membrana cellulare, culminando nella paralisi del sistema neuromuscolare dell'invertebrato. Grazie a queste proprietà le avermectine sono impiegate come insetticidi, nematocidi, antielmintici e aracnicidi⁵. Studi scientifici hanno dimostrato maggior protezione e adesione grazie al nanotrasporto anche per la tossina *Bt* (veicolata da NMs di titanato di sodio)¹⁰, prodotta naturalmente da *Bacillus Thuringiensis* e che si attiva nell'intestino di alcuni invertebrati grazie a pH alcalini, portandone alla morte.

Le nanotecnologie possono essere utili anche per mediare il trasporto di acidi nucleici all'interno delle cellule vegetali, permettendogli tra le molte cose di svolgere un'azione antivirale o antibatterica. In biologia vegetale è nota, infatti, l'importanza che hanno i siRNA (RNA a doppio filamento lunghi 19-21 nucleotidi) nella regolazione, nel silenziamento genico e nel contrasto alle infezioni virali. L'uomo ha imparato a sfruttare questo fenomeno per combattere gli attacchi virali, fornendo degli RNA specifici in grado di riconoscere e tagliare il genoma virale durante un'infezione, bloccando l'infezione. Questa tecnologia è chiamata RNA interference (RNAi) ed è molto potente perché comporta ridotti costi di sviluppo a fronte di un'altissima specificità. Nonostante ciò, riscontra molti problemi nel far assorbire alla pianta L'RNA sintetico, oltre che alla facilità con cui questo va incontro a degradazione nell'ambiente. I nanocarriers (come LDH-bioclay¹⁰) possono superare questo ostacolo, veicolando i siRNA artificiali, proteggendoli e migliorando l'efficienza di assorbimento. Sempre nell'ambito del trasporto di acidi nucleici i nanomateriali (come i chitosan-complex carbon nanotubes¹⁰) potrebbero essere usati per inserire DNA all'interno delle cellule e dirigerlo in determinate regioni o organelli cellulari. Questa applicazione permetterebbe di inserire DNA esogeno in una cellula, senza integrarlo nel genoma e quindi evitando le restrittive regolazioni sugli organismi geneticamente modificati, portando un grosso contributo alla ricerca biotecnologica¹⁰.

Al giorno d'oggi uno dei più potenti metodi di controllo degli insetti invasivi consiste nell'attirarli e ucciderli con trappole a feromoni. Tuttavia, a causa della natura volatile dei feromoni, la loro durata solitamente è molto breve e per questo motivo è necessario applicare ripetutamente il prodotto. Sono state però

sviluppati dei nanogel (matrici di NPs che rilasciano il principio attivo gradualmente in seguito alla loro decomposizione) o delle nanoparticelle di silicio che presentano una struttura porosa in grado di assorbire i feromoni e proteggerli dalla degradazione ad opera della luce, della temperatura e della umidità a cui vanno in contro una volta rilasciati nell'ambiente¹⁰. Il loro adsorbimento ha come effetto finale quello di prolungare la durata del trattamento, riducendo il numero di somministrazioni da effettuare.

Prospetti per il futuro

Le nanotecnologie applicate ai pesticidi sono un campo della ricerca relativamente recente e molte applicazioni sono ancora ad una fase di sviluppo; per questo motivo è necessario sottolineare che potrebbero dover far fronte ad alcune complicazioni nel loro progresso.

Il primo aspetto critico riguarda l'impatto ambientale che i nanopesticidi potrebbero avere sulle piante, sull'uomo sugli animali e sul microbioma del suolo. Infatti, grazie alle loro proprietà, riescono ad attraversare le barriere biologiche e gli effetti sulla salute umana, sulla fisiologia cellulare microbica e sull'espressione genica, non sono ancora ben definiti⁸⁻¹⁰. Per capire in modo più completo questi effetti, sono necessari ulteriori studi negli anni a venire.

La valutazione del rischio a monte del rilascio delle nanoparticelle è quindi una tappa fondamentale per la biosicurezza, ma attualmente non esistono protocolli standard per la classificazione e la valutazione dei nanomateriali in agricoltura. Alcune nazioni come USA, Cina, Germania e Francia⁸ e organizzazioni come le agenzie e i comitati scientifici dell'Unione Europea o la Food and Drug Administration (FDA) si stanno muovendo in questa direzione cercando di regolare la produzione e l'utilizzo dei nanomateriali, al fine di determinarne la sicurezza per l'ambiente e per il consumatore.

Un secondo aspetto critico riguarda la produzione industriale dei nanomateriali, poiché gli alti costi di produzione e la complessità del processo produttivo non permetterebbero di generare un significativo margine di guadagno economico¹⁰. Infine, un ultimo ostacolo potrebbe essere l'opinione pubblica, dal momento che non si sa come l'introduzione su larga scala dei nanopesticidi possa essere vista. La sicurezza e la qualità alimentare sono due concetti molto importanti per i cittadini; quindi, una divulgazione scientifica chiara e trasparente sui benefici e sugli eventuali aspetti negativi portati dai nanopesticidi, è fondamentale per determinare il successo di questa tecnologia.

Conclusioni

Le nanotecnologie applicate ai pesticidi permettono di aumentare la resa e la qualità delle coltivazioni, permettono di migliorare l'efficienza di

somministrazione dei prodotti fitosanitari, ridurre le perdite per dispersione e degradazione e limitare gli effetti di tossicità nei confronti degli organismi non-bersaglio. Wang, D. *et al*⁹ hanno analizzato 36,658 brevetti e 500 riviste peer-reviewed e dal loro studio è emerso che, quando comparati con i loro analoghi non su nano-scala, i nanopesticidi hanno un'efficacia contro organismi bersaglio maggiore del 31.5% in laboratorio e del 18.9% in test in campo aperto. La tossicità nei confronti degli organismi non-target è ridotta del 43,1%, la perdita di principio attivo prima di raggiungere la pianta è minore del 41.4% e diminuisce del 22.1% anche il potenziale di lisciviazione del prodotto nel suolo.

I dati derivanti da questa analisi evidenziano come i benefici che i nanopesticidi possono portare all'agricoltura siano essenziali per contrastare le sfide che si pongono a causa del cambiamento climatico. Oltre a ciò, dimostrano come questa tecnologia possa essere la chiave per una pratica agricola meno impattante e per una sicurezza alimentare globale, tendendo verso il raggiungimento degli obiettivi di sviluppo sostenibile delle Nazioni Unite per un futuro migliore.

Bibliografia

1. Gregory V. Lowry *et al.* Opportunities and challenges for nanotechnology in the agri-tech revolution. *Nature Nanotechnology* (2019) doi:10.1038/s41565-019-0461-7.
2. Curtis Deutsch *et al.* Increase in crop losses to insect pests in a warming climate. *Science* (2018) doi:10.1126/science.aat3466.
3. Muyesaier Tudi *et al.* Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health* (2021) doi:10.3390/ijerph18031112.
4. Abubakar Yusuf *et al.* Pesticides, History, and Classification. (2020) doi:10.1016/b978-0-12-819304-4.00003-8.
5. Magnabosco, P., Masi, A., Shukla, R., Bansal, V. & Carletti, P. Advancing the impact of plant biostimulants to sustainable agriculture through nanotechnologies. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 10, 117 (2023).
6. H. N. Cheng *et al.* Nanotechnology Overview: Opportunities and Challenges. (2016) doi:10.1021/bk-2016-1220.ch001.
7. Hongda Chen *et al.* Nanotechnologies in agriculture: New tools for sustainable development. *Trends in Food Science and Technology* (2011) doi:10.1016/j.tifs.2011.09.004.
8. Smriti Arora *et al.* A Comprehensive Overview of Nanotechnology in Sustainable Agriculture. *Journal of Biotechnology* (2022) doi:10.1016/j.jbiotec.2022.06.007.
9. Wang, D. *et al.* Nano-enabled pesticides for sustainable agriculture and global food security. *Nature Nanotechnology* 17, 347–360 (2022).

10. An, C. *et al.* Nanomaterials and nanotechnology for the delivery of agrochemicals: strategies towards sustainable agriculture. *Journal of Nanobiotechnology* 20, 11 (2022).