STUDIA UNIVERSITATIS MOLDAVIAE
*Revista științifică a Universtității de Stat din Moldova, 2024, nr. 1(171)*

**CZU: 632.9** **https://doi.org/10.59295/sum1(171)2024_03**

# REALIZĂRI BIOTEHNOLOGICE ÎN COMBATEREA INSECTELOR DĂUNĂTOARE

***Leonid VOLOȘCIUC, Mihail BATCO,***

*Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al USM*

Schimbările climatice, securitatea alimentară globală și sustenabilitatea mediului au devenit provocări majore pe parcursul ultimelor decenii. Cursa contracronometru, în care se află omenirea datorită caracterului ireversibil al încălzirii globale și sporirea impactului organismelor dăunătoare asupra culturilor agricole, care reduc considerabil securitate alimentară și siguranța alimentelor, determină necesitatea elaborării și aplicării mijloacelor biotehnologice, ecologic inofensive de menținere a echilibrului dinamic dintre agenții fitosanitari și entitățile naturale utile. Prezenta lucrare pune în discuție rezultatele înregistrate în aplicarea metodelor biotehnologice de producere și aplicare a mijloacelor biologice orientate la reducerea impactului populațiilor de insecte dăunătoare prin aplicarea microorganismelor entomopatogene și a metodelor genetice de combatere prin sterilizare, cultivarea exemplarelor de acelaşi sex şi condiționalsterile, aplicarea tehnologiilor de editare a genomului, care schimbă fondul genetic al lor.

***Cuvinte-cheie:*** *agenți fitosanitari, biotehnologii, controlul densității populației, preparate biologice, sterilizare.*

## BIOTECHNOLOGICAL ACHIEVEMENTS IN COMBATING PEST INSECTS

Climate change, global food security and environmental sustainability have become major challenges over the past decades. The race against the clock, in which humanity finds itself due to the irreversible nature of global warming and the increasing impact of harmful organisms on agricultural crops, which considerably reduce food security and food safety, determines the need to develop and apply biotechnological, ecologically harmless means of maintaining the dynamic balance between phytosanitary agents and useful natural entities. This paper discusses the results recorded in the application of biotechnological methods of production and application of biological means aimed at reducing the impact of harmful insect populations through the application of entomopathogenic microorganisms and genetic methods of combat through sterilization, the cultivation of same-sex and conditionally sterile specimens, the application of technologies genome editing, which changes their genetic background.

***Keywords:*** *phytosanitary agents, biotechnologies, population density control, biological preparations, sterilization.*

### Introducere

Sporirea impactului organismelor dăunătoare pe fundalul schimbărilor climatice și creșterea prevalenței dăunătorilor prin manifestarea diverselor dificultăți, accentuează rolul procedeelor tehnologice de producere a culturilor agricole: monitorizarea dezvoltării, analiza riscului organismelor dăunătoare și sporirea randamentului mijloacelor de protecție a plantelor fără afectarea stării ecologice a agroecosistemelor [1,2].

Metodele de control a densității populațiilor de insecte dăunătoare cu aplicarea pesticidelor, deși înregistrează succese semnificative, totuși utilizarea lor devine mai limitată din cauza impactului asupra sănătății omului, dar și grație elaborărilor biotehnologic orientate la producerea și aplicarea mijloacelor ecologic inofensive [3]. Au devenit recunoscute realizările noastre înregistrate pe parcursul ultimilor ani: elaborarea procedeelor tehnologice de producere a 15 entomofagi, îndeosebi a celor aplicați în protecţia culturilor de seră; selectarea microorganismelor de perspectivă și elaborarea tehnologiilor de producere și aplicare a agenților microbiologici de combatere a organismelor dăunătoare şi omologarea pe baza lor a 16 preparate biologice; identificarea şi sinteza feromonilor sexuali a 18 specii de insecte dăunătoare şi elaborarea schemelor de sinteză originală a feromonilor la 72 de specii şi procedeelor tehnologice de producere și utilizare a lor pentru monitorizarea, capturarea în masă, sterilizarea şi dezorientarea insectelor dăunătoare [4].

Realizările biotehnologiei, ca știință și practică, au ajuns în multe domenii aplicative, cum sunt sănătatea umană, agricultură și ameliorarea condițiilor mediului înconjurător. Unele realizări semnificative, cum este agricultura ecologică și regenerativă, editarea genelor, promit să revoluționeze sănătatea publică, con-

trolul organismelor dăunătoare, ameliorarea culturilor, elaborarea tehnologiilor pentru diverse procedee tehnologice de obținere a produselor și materialelor. Tehnologiile de editare a genomului demonstrează posibilitățile de îmbunătățire a culturilor și a animalelor și chiar de vindecare a pacienților de boli care au fost și mai rămân până acum incurabile. Din gama metodelor molecular biologice, metodologia CRISPR-Cas9, ca platformă de editare a genomului, s-a dovedit a fi flexibilă pentru specii, are un potențial mare de aplicare [5]. Deoarece tehnologia nu lasă semne de transgeneză, plantele generate de editarea genomului nu sunt considerate OMG-uri și nu provoacă discuții și provocări politice și sociale care deocamdată mai însoțesc biotehnologiile agricole [6].

Un interes deosebit reprezintă investițiile orientate la aplicarea mecanismelor genetice pentru combaterea insectelor dăunătoare, constituind strategiile de management genetic al dăunătorilor, care urmărește valorificarea sistemelor naturale de introducere a populațiilor modificate în populația insectelor dăunătoare, urmare a cărora este sterilizarea indivizilor, reducerea vitalității sau constituirea altor populații, modificate. În acest sens, agentul de control genetic este reprezentat de indivizii dăunătorului cu o modificare ereditară dorită și necesară pentru combaterea agentului fitosanitar, care sunt crescuți în condiții de laborator, iar apoi sunt eliberați în condițiile populațiilor naturale, dăunătoare. Interacțiunea dintre aceștia se manifestă prin procesul de introgresare a unor trăsături necesare, îndeosebi sterilitatea sau letalitatea, care asigură pierderea fertilității, indicatorilor morfometrici, reducerea dimensiunii numerice a populației, ceea ce se manifestă în suprimarea populației [7].

Managementul genetic al insectelor dăunătoare este aplicat pentru controlul populațiilor multor dăunători, asigurând indicatori semnificativi ai eficacității biologice. Drept urmare a polenizării încrucișate și transferul orizontal de gene, indivizii cu gene modificatoare sunt capabili să se reproducă și să se răspândească în populațiile naturale în mod independent și necontrolat în spațiul înconjurător [8, 9].

Managementul genetic al dăunătorilor reprezintă utilizarea geneticii în controlul dăunătorilor prin împerecherea indivizilor modificați cu omologii lor de tip sălbatic. Acest lucru permite ca trăsăturile ereditare să fie transferate în populația de dăunători sălbatici. Scopul este de a reduce daunele cauzate de populația dăunătorilor cu rezultatele scontate tipice, care se încadrează în mare parte prin suprimarea populației sau modificarea ei. Metoda genetică are caracteristici distinctive care sunt solicitate și reprezintă abordări autonome de combatere sau instrument valoros în sistemele de protecție integrată a plantelor [10]. Metoda biologică de combatere a organismelor dăunătoare se bazează pe utilizarea relațiilor dintre aceștia și organismele utile, ca mecanisme naturale, prin aplicarea mecanismelor de reglare a densității populațiilor organismelor dăunătoare [11].

**Materiale și metode de cercetare**

Metoda genetică de combatere a dăunătorilor a fost elaborată de A. S. Serebrovsky (1938, 1950) *în* scopul saturării populațiilor naturale ale insectelor dăunătoare cu indivizi, purtători de translocații, inferiori din punct de vedere genetic. Drept rezultat, femelele dintr-o populație naturală, care se împerechează cu asemenea indivizi, depun ouă neviabile sau sterile, nu produc urmași, iar *în populația* dăunătorului se auto lichidează. Materialul modificat se obține prin aplicarea radiației (raze gamma, raze X) *și* preparatelor chimice cu proprietăți sterilizante. Sterilizarea dăunătorilor cu aplicarea radiației se manifestă prin apariția leziunilor genetice în aparatul cromozomial la femele și masculi, iar în cazul sterilizării chimice (compușii alchilanți, antimetabolice și antibiotice) se realizează la femele [12].

Realizarea metodei este legată de creșterea în masă a insectelor dăunătoare pe medii artificiale de cultură, expunând indivizii experimentali la radiații pentru a provoca leziuni cromozomiale, urmate de eliberarea lor în populația dăunătorului. Insectele eliberate și împerecheate depun ouă, care nu eclozează din cauza deteriorării materialului genetic, ca mutații letale cuplate cu genul, din linia germinală a părintelui [9].

Pentru tratamentul cu chemosterilizanţi, insectele mascule, timp de o zi sunt plasate într-un loc închis în capcană prelucrată din interior cu soluție de sterilizant timp de 8-10 min. Tratamentul se efectuează la faza de inițiere a activității sexuale și maturare a celulelor sexuale.

Gradul de acțiune al agenților sterilizanți asupra potențialului de reproducere al fluturilor se determină prin numărarea larvelor eclozate și a ouălor în care, la diferite faze de dezvoltare, au murit embrionii,

ceea ce se determină prin analiza pontelor fluturilor tratați și împerecheați cu insectele martor. Testarea în condiţii de laborator, pe loturile de experiență și de producere a mijloacelor microbiologice și genetice de protecţie a plantelor s-a efectuat în repetiții randomizate [13] cu prelucrarea statistică a rezultatelor.

**Rezultate și discuții**

**Scurte schițe istorice în dezvoltarea metodei genetice de combatere a dăunătorilor**

Ideea obținerii și eliberării insectelor sterile în populațiile naturale a speciilor de insecte dăunătoare pentru gestionarea acestora a fost concepută de A. S. Serebrowskii în anul 1938 și continuată de F. L. Van der Planck și E. F. Knipling. Van der Planck și Serebrowskii s-au concentrat asupra sterilității rezultate din încrucișările hibride între diferite specii sau tulpini genetice diferite, iar Knipling a utilizat radiațiile ionizante pentru a induce mutații letale dominante care cauzează sterilitate [10].

Managementul genetic al dăunătorilor se realizează prin eliberarea atât a masculilor, cât și a femelelor. Eliberările numai a masculilor este mai eficientă decât eliberările mixte de sex, deoarece numai masculii trebuie adăpostiți și hrăniți. Masculii homozigoți sunt eliberați pentru a se împerechea cu femelele sălbatice, ai căror descendenți moștenesc letalitatea dominantă și astfel nu pot supraviețui până la maturitatea reproductivă. A devenit cunoscută utilizarea metodei genetice pentru controlul densității populațiilor muștei mediteraneene a fructelor (*Ceratitis capitata* Wied.) prin sterilizare cu radiații. Metoda genetică a fost folosită cu succes împotriva viermelui merelor (*Carpocapsa pomonella* L.), obținând controlul eficient al dăunătorului [12]. Modelarea eliberării dăunătorului a făcut posibilă identificarea dozelor raționale de radiații și a ratelor de eliberare a masculilor sterili, precum și compararea eficacității diferitor variante ale metodei genetice. Rezultate impresionante au fost obținute la eliberarea masculilor sterili de *Lymantria dispar* L. într-o populație naturală de insecte. Succese similare au fost înregistrate la suprimarea numărului de gărgărița fasolei (*Acanthoscelides obtectus* Say.) în condiții de câmp și grânare sub iradiere cu radiații gamma, gărgărița bumbacului (*Anthonomus grandis* Boheman.), sfredelitorul porumbului (*Ostrinia nubilalis* L.), molia verzei (*Plutella xylostella* L.), molia făinei (*Ephestia kuehniella* L.), precum și a muștii verzei (*Delia flores* L.) [14]. Utilizarea translocației legate de sex a fost argumentată și încercată experimental de Anisimov și Samoilov (1985), demonstrând că această translocare nu afectează viabilitatea purtătorilor heterozigoți (masculi), ceea ce contribuie la reducerea potențialului de reproducere a populației [12].

Dezvoltarea ingineriei genetice permite utilizarea de noi abordări legate de eliberarea de insecte care poartă gene în mai mulți loci responsabili de distrugerea femelelor. Eliberarea insectelor purtătoare de astfel de alele modifică raportul dintre sexe într-o populație naturală în favoarea masculilor. O scădere a numărului de femele duce la reducerea numărului următoarei generații [15, 16].

Pornind de la axioma că istoria este învățătoarea vieții și în scopul utilizării ideilor și rezultatelor înregistrate pe parcursul dezvoltării managementului genetic al insectelor dăunătoare, e rațional să aplicăm postulatele promovate de savanții și centrele științifice care au fundamentat și orientat necesitățile metodei genetice de combatere a dăunătorilor: Serebrowskii și posibila utilizare a translocațiilor cromozomiale pentru a provoca sterilitate parțială moștenită, Vanderplank și utilizarea sterilității hibride pentru combaterea muștelor tse-tse, Knipling și utilizarea sterilității induse de radiația ionizantă, care conțin informații complete despre elaborarea și utilizarea liniilor sterile pe diferite insecte dăunătoare, rezultate privind utilizarea pe scară largă a diferiților factori la obținerea și utilizarea liniilor sterile de dăunători. Trecând prin mai multe generații de cercetări și aplicând diverse metode și metodologii orientate la aplicarea potențialului genetic al organismelor dăunătoare și utilizarea diferitor factori pentru modificarea și promovarea populațiilor insectelor dăunătoare în scopul protecției culturilor agricole, comunitatea științifică a promovat prin mai multe etape de ameliorare a rezultatelor și de soluționate a problemelor legate de reducerea impactului organismelor dăunătoare [10].

Ținând cont de necesitatea menținerii insectelor dăunătoare la nivelul inferior pragului economic de dăunare, aplicarea metodelor genetice poate înregistra rezultate semnificative la integrarea lor cu alte metode și mijloace de protecție a plantelor, cum este sterilizarea populațiilor naturale prin utilizarea combinată a feromonilor sexuali și a sterilizanților chimici, ceea ce sporește considerabil eficacitatea lor biologică. În acest sens capsulele cu feromoni sunt plasate în capcane cu feromoni, iar suprafața lor interioară este tratată

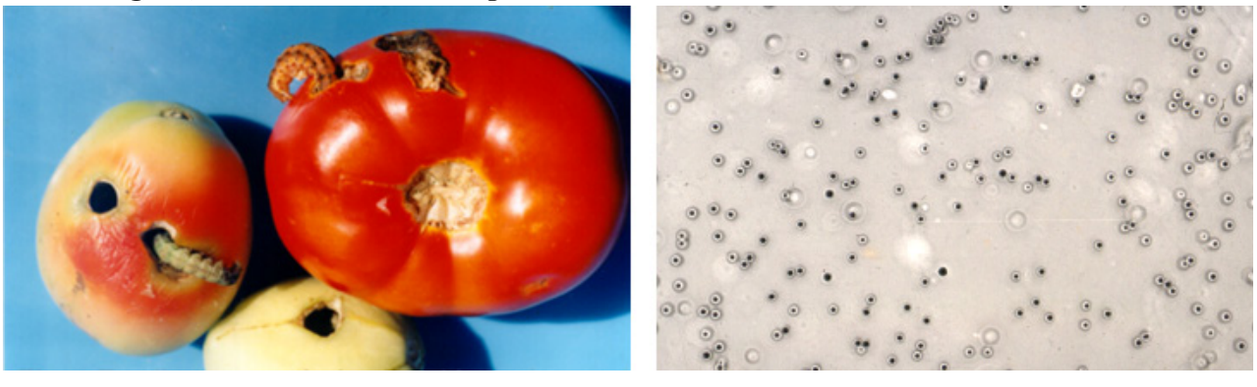
cu sterilizanți chimici: tiotef, dimatif. Dezvoltarea ulterioară a metodei autocide este asociată cu îmbunătățirea metodelor de inginerie genetică și este determinată de interacțiunea strânsă a cercetătorilor din domeniul geneticii moleculare, ecologiei insectelor și specialiștilor din domeniul biotehnologiei și protecției plantelor [17].

Rezultate semnificative orientate la sterilizarea populațiilor de insecte cu aplicarea radiației gamma și a chimiosterilizatului tiotef (4%) la Buha verzei (*Mamestra brassicae* L.) au fost înregistrate în cercetările efectuate de Батко М., Нямцу А. [18]. Studierea eficacității metodei de auto sterilizare în capcanele feromonale, prelucrate cu analogii sintetice ai hormonului juvenil, în combaterea moliilor strugurilor, moliilor miniere, viermilor mărului, prunului şi oriental) a demonstrat eficacitatea înaltă a metodei la nivelul etalonului chimic [19]. Realizări semnificative au fost înregistrate în Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor al USM, care au fost inițiate și implementate sub conducerea profesorului Boris Kovaliov [20].

**Elaborarea și aplicarea preparatelor biologice în baza virusurilor entomopatogene**

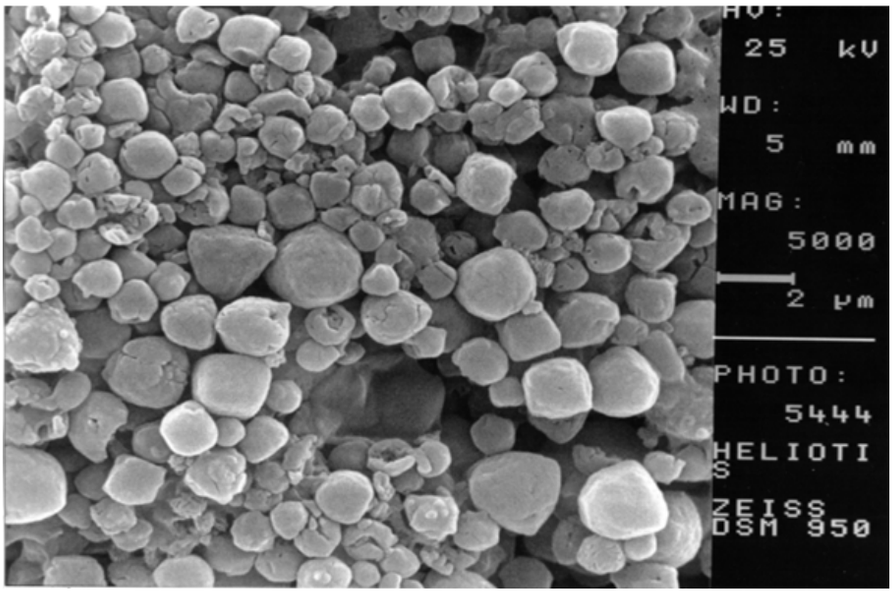
Buha fructificaţiilor (*Helicoverpa armigera*) reprezintă una din speciile de noctuide dăunătoare, care se evidențiază cu o plasticitate ecologică deosebită și se caracterizează cu un grad ridicat de polifagie. Atacă peste 120 de specii de plante gazdă (fig. 1). Pagubele sunt produse de larve prin distrugerea organelor florale si a fructelor in formare. Se dezvoltă în cinci vârste larvare [3].

**Fig. 1. Particularitățile morfologice ale manifestării atacului buhei fructificațiilor la tomate și a VPN H.armigera, examinat la microscopul cu contrast de fază.**



Cercetările ultrastructurale și molecular biologice ne-au permis identificarea și determinarea particularităților biologice a mai multor suşe a VPN *H.armigera* (fig. 2).

**Fig. 2. Polimorfismul manifestat la poliedrele VPN H.armigera.**



Determinarea potențialului de reproducere pe diverse tipuri de celule *in vitro* și pe larvele diferitor specii de insecte a constituit un fundament consistent că VPN *H.armigera* se reproduce cu scopul acumulării biomasei baculovirale în baza larvelor insectelor noctuide din genul *Helicoverpa*, sau reprezentanților altor genuri și specii (*Mamestra brassicae*) din aceiași familie (fig. 3).

**Fig. 3. Particularitățile ultrastructurale ale VPN H.armigera examinate la microscopul electronic cu transmisie.**

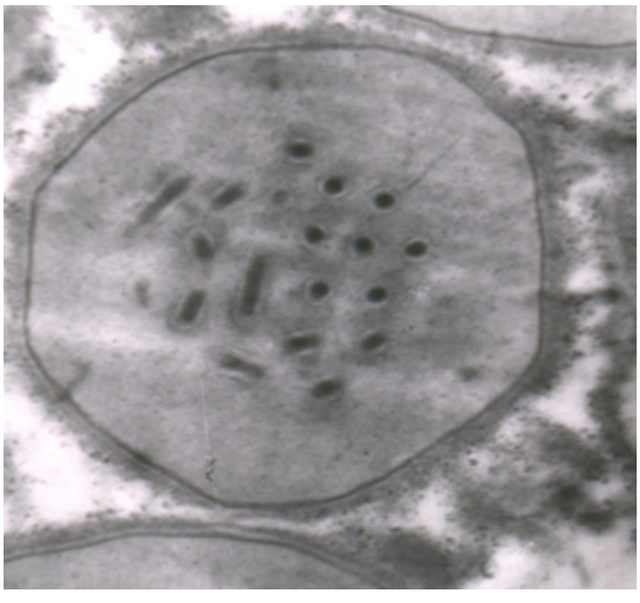
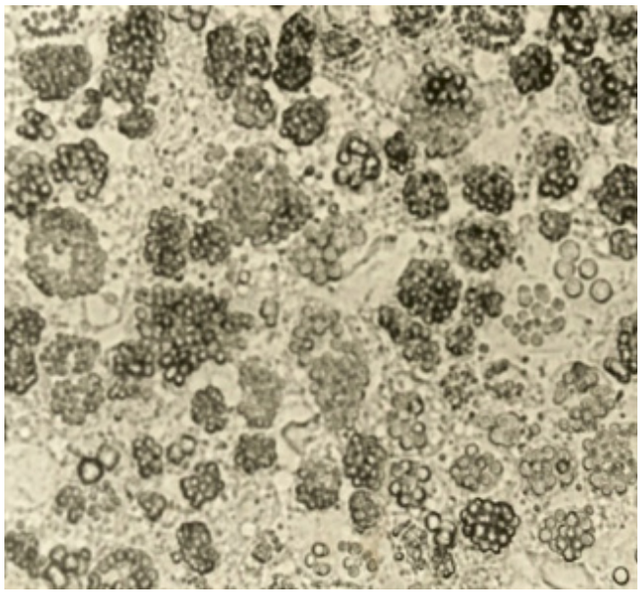
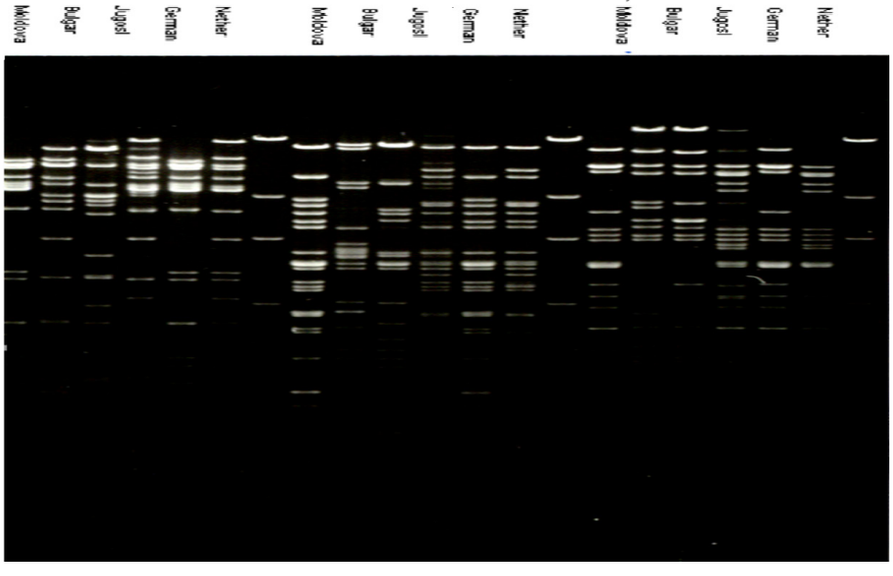


**Fig. 4. Reproducerea poliedrelor VPN H.armigera în celulele hemolimfei pentru acumularea biomasei baculovirale.**



E de menționat că demonstrarea capacităților baculovirusurilor de a infecta insectele din mai multe specii și genuri a fost apreciată înalt de comunitatea științifică. În așa mod au fost stabiliți și indicatorii optimali de determinare a calității biomasei baculovirale și au fost identificate cele mai eficiente și tehnologice forme preparative, apreciind înalt formulația de pulbere (fig. 5).

**Fig. 5. Analiza restricțională a mai multor sușe de baculovirusuri.**




Analiza eficacității biologice a VPN H.armigera în condiții de laborator, vase vegetaționale și micrtoparcele au stat la baza testării preparatului Virin-HS-P sub formă de pastă pentru omologarea de stat. Schema experimentală a lotului de tomate este efectuată randomizat cu cinci variante în patru repetiţii:

Martor netratat, etalon biologic Virin-HS-2 - 0,3 kg/ha, etalon chimic Actara 25WG - 0,06kg/ha, Virin-HS-P - 0,1 kg/ha, Virin-HS-P - 0,15 kg/ha (foto 6). Pe fundalul dezvoltării puternice a buhei fructificațiilor a fost efectuat primul tratament cu preparatul biologic Virin-HS-P cu norma de consum de 0,1-0,15kg/ha, Virin-HS-2 - 0,3kg/ha şi etalonul chimic Actara – 0,06 kg/ha.

**Fig. 6. Atacul H.armigera cu vârste diferite asupra fructelor de tomate.**



După confirmarea cauzei și identificarea agentului patogen în larvele moarte ale insectei gazdă a fost determinată eficacitatea biologică a agentului biologic (tabelul 1).

**Tabelul 1. Eficacitatea biologică a preparatului viral Virin-HS-P în controlul dezvoltării buhei fructificaţiilor la tomate, soiul „RioGrand”.**

| Nr. | Varianta | Norma consum kg/ha | Număr de fructe examinate | Tomate atacate până la prelucrare | Tomate atacate după prelucrare | Eficacitatea biologică |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | ziua 9 | ziua 9, % |
| 1. | Martor | - | 100 | 42 | 55 | - |
| 2. | St.Virin-HS-2 | 0,3 | 100 | 37 | 6 | 87,6 |
| 3. | St.Actara 25WG | 0.06 | 100 | 38 | 3 | 93,9 |
| 4. | Virin-HS-P | 0.1 | 100 | 41 | 7 | 86,9 |
| 5. | Virin-HS-P | 0.15 | 100 | 38 | 5 | 89,9 |
| DEM 0,05 | | | | | 1,0 | |

Analizând tabelul 1, observăm că reducerea atacului la tomate în comparaţie cu martorul la în varianta chimică Actara 25WG la a 9 zi a constituit 93,9%, iar gradul de atac în varianta biologică Virin-HS-P cu norma 0,15 kg/ha a constituit 89.9 %. Bazându-ne pe rezultatele obţinute, e necesar de menționat că în condiţiile climatice favorabile pentru dezvoltarea Buhei fructificațiilor *(Helicoverpa armigera)*, dăunătorul a influenţat negativ la dezvoltarea culturii, cauzând pierderi considerabile plantei gazdă. Preparatul baculoviral Virin-HS-P, fiind aplicat pentru combaterea vârstelor mici (1-3) a fiecărei generații a dăunătorului, a controlat activ densitatea populației *H.armigera,* dar nu acţionează negativ dezvoltarea culturii şi a formării fructelor la tomate. Testarea preparatului Virin-HS-P cu norma de consum 0,15 kg/ha în controlul dezvoltării buhei fructificaţiilor, generaţia II, la tomate, soiul „*Rio Grand*”, a demonstrat acțiunea biologică înaltă cu eficacitatea biologică de 85,2%, ceea ce nu se deosebește esențial față de etalonul chimic Actara, care a înregistrat eficacitatea biologică de 92,6 %, ceea ce demonstrează posibilitatea controlului densității populațiilor insectelor dăunătoare la speciile de dăunători cu un impact deosebit asupra culturilor agricole.

**Realizări și perspective de fortificare a managementului genetic al insectelor dăunătoare**

Realizarea programelor managementului genetic al insectelor dăunătoare este determinat în mare măsură inițial de posibilitățile înmulțirii artificiale a speciilor țintă în cantități suficiente pentru a fi lansate în populațiile naturale și atingerea efectului suprimării densității numerice a acestora. Dacă inițial înmulțirea în masă a insectelor constituia circa 75% din costul programei de combatere genetică a dăunătorilor, apoi actual sunt elaborate tehnologii noi de creștere care asigură scăderea sinecostului la un nivel avantajos practic. Actual, creșterea în masă a insectelor în multe țări este reglementată la nivel industrial pentru așa specii ca musca cărnii, molia bumbacului, viermele merelor, mușt ile fructifere, buhele frctificațiilor, verzei și a semănăturilor [22].

În cercetările noastre am aplicat linii a buhei verzei (*Mamestra brassicae* L.) adaptate la procesul de înmulțire artificială în condiții de laborator (15-20 generații) cu parametri stabili de reproducere, asigurând controlul calității materialului biologic utilizat urmărește factorii ce pot spori calitatea insectelor crescute în laborator. Sunt esențiale și astfel de operațiuni ce țin de colectarea materialului biologic, separarea pe genuri în masculi și femele, sterilizarea și lansarea în natură doar a masculilor, care la lepidoptere sunt homozigoți. Indivizii supuși iradierii sau aplicării hemosterilanților, sunt mai puțin capabili în concurența sexuală cu indivizii naturali. Aceasta necesită sporirea numerică a volumului indivizilor sterili lansați față de cei naturali. În multe cazuri sterilizarea sexuală nu avea bază genetică, obținând diminuarea numerică doar prin afectarea procesului de împerechere ca rezultat al acțiunii razelor ionizante și hemosterilanților în doze mari, ce modificau structura sexuală a indivizilor prelucrați, fără schimbări a genotipului.

În cazul sterilității parțiale moștenite la speciile de Lepidoptera o mare parte a mortalității descendenților $F_1$ are loc la stadiile postembrionare de dezvoltare și cu deplasarea coraportului sexual în favoarea masculilor. Astfel, Proverbs M. (1982) [23] experimental prin lansarea masculilor viermelui merelor partial sterili în două livezi de măr, a atins efectul fructelor atăcate de 10 ori mai mic față de varianta aplicării a trei tratamente chimice cu insecticide.

În rezultatul scriningului dozelor substerilizatoare a razelor-gamma cu effect optimal 5 krad și hemosterilantului Tiotăf 4% asupra fenomenului moștenirii sterilității parțiale la buha verzei a fost evaluate eficiența acestora în condiții de laborator (Tabelul 2).

**Tabelul 2. Efectul dozelor substerilizatoare a razelor-gamma și tiotăf asupra masculilor buhei verzei (P), exprimat prin viabilitatea descendenților ($F_1$).**

| Variante, doza | Analizate | | Media ouă la $1_{♀}$, unit. | Ouă sterile la $1_{♀}$, %. | Femele copulate, % | Ouă nefecundate, % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ponte, unit. | Ouă, unit. | | | | |
| ♀N +♂T, raze-gamma, 5 krad | 56 | 720 | 618,4± 79,3 | 69,3±2,05 | 92 | 4,6 |
| ♀N +♂T, tiotăf, 4% | 63 | 456 | 524,6± 43,4 | 81,4±2,60 | 89 | 5,3 |
| ♀N +♂N, martor | 22 | 620 | 704,0 ±94,5 | 4,6±1,41 | 96 | 2,4 |

*Legenda: ♀N netratată; ♂T tratat; ♂N netratat*

Rezultatele atestă, că media ouălor sterile după acțiunea razelor-gamma 5 krad asupra masculilor constituie 69,3% și în cazul contactului masculilor cu tiotăf 4% -81,4%, pe când în varianta martor doar 4,6%. Capacitatea de copulare a perechilor și a mediei sumare de ouă nu a deviat esențial față de martor.

Evaluarea experimentală a sterilizării masculilor populației natural a buhei verzei a fost efectuată pe parcursul a mai multor ani în diferite condiții de vegetație, atestând rezultate positive privind posibilitatea practică de diminuare a densității populației a acestui dăunător periculos, dar mai puțin eficientă în raport cu etalonul chimic.

În cadrul experiențelor noastre, pe fonul populației cu densitatea scăzută, media de ouă la 100 plante a constituit 268 în varianta experimentală și 396 la martor. Numărul de ouă nedezvoltate a constituit 31,7% și la martor 1,7%. Numărul de plante atacate a variat esențial de la 24% în varianta aplicării tiotăf - 4%,

până la 86% în varianta martor. În generația a doua a buhei verzei, la o densitate mai avansată a populației buhei verzei, unde la 100 plante erau până la 1270 ouă, procentul de sterilitate a ouălor a atins 45,7 și plante atacate 16% (tabelul 3).

**Tabelul 3. Efectul diminuării densității populației natural a buhei verzei ca rezultat a sterilității parțiale induse masculilor prin contactul lor cu tiotăf 4% în capcanele cu feromon sexual.**

| Variantele exprienței | Suprafața, ha. | Nr. Ouă la 100 plante | | Nr. omizi la 100 plante | | % plante atacate pe variante |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | total | sterile,%. | Până la tratament | După tratament | |
| **I generație a buhei verzei la varza timpurie** | | | | | | |
| Capcane fer. tiotef, 4% | 1,0 | 268 | 31,7±0,91 | 86 | 21 | 24 |
| Etalon Bi-58 Nou 1kg/ha | 1.0 | 178 | 4,5±0,12 | 163 | 11 | 16 |
| Martor | 0,2 | 396 | 1,4 ±0,08 | 287 | 208 | 85 |
| **Generația II a buhei verzei la varza tardivă** | | | | | | |
| Capcane fer. tiotăf, 4% | 1,0 | 1275 | 45,7±2,4 | 118 | 96 | 16 |
| Etalon Bi-58 Nou 1kg/ha | 3,0 | 1083 | 5,2±0,8 | 941 | 54 | 7 |
| Martor | 0.2 | 1642 | 3,2±0,18 | 1312 | 149 | 79 |

Rezultatele prezente în tabel atestă, că eficiența procedeului de sterilizare a populației naturale a buhei verzei, evaluată în baza evidenței ouălor sterile, relativ nu este înaltă, variind de la 28% la 54%. Aceasta este semnificativ mai mică față de cea preconizată conform rezultatelor de laborator (60-80%).

În același timp mortalitatea larvelor de vârste inferioare, ca rezultat a modificărilor ereditare, de asemeni și a acțiunii altor factori biotici și abiotici, a dus la diminuarea densității larvelor mature la nivelul densității acestora din etalonul chimic. Astfel paralel cu efectul obținut de la capcanele sterilizatoare în generația dată, rezultă efectul întârziat al modificărilor genetice moștenite și transmise generațiilor ulterioare. Ținând cont de faptul, că masculii se nasc sexual maturi, iar femelele necesită timp pentru alimentarea suplimentară, necesară finisării procesului de oogeneză, de acea este important ca masculii populației maximal să fie în contact cu capcana cu chemiosterilant.

**Editarea genomului în ajutorul controlului densității populațiilor de insecte dăunătoare**

Managementul genetic al insectelor dăunătoare nu este singura metodă bazată pe genetică dezvoltată pentru a controla populațiile de insecte [24, 25]. Progresele recente în modificarea genetică s-au concentrat asupra tehnicilor de editare a genelor și a genomului. Metodele moleculare, inclusiv abordările CRISPR („clustered regular interspaced short palindromic repeats”) au fost dezvoltate cu scopul de a modifica cu precizie genele [5, 14]. Aceste tehnici au potențialul de a conduce construcții genetice printr-o populație, încorporând mecanisme de activizare genetică care conferă o moștenire mai mare decât cea mendeliană. Aceste abordări de editare genetică au fost dezvoltate la țânțari fie pentru a suprima populațiile vectoriale, prin afectarea fertilității feminine [24] sau pentru a modifica o populație, prin răspândirea unei trăsături care afectează capacitatea de a adăposti agenți patogeni [25]. Abordările de editare genetică ar putea fi, de asemenea, utilizate pentru a suprima dăunătorii culturilor agricole.

Strategia de antrenare a genelor este orientată la suprimarea populațiilor prin introducerea unei gene, care provoacă letalitate sau reducerea descendenților în fiecare generație, sau pentru modificarea populației pe calea răspândirii unei variante genetice ce elimină o trăsătură dăunătoare, dar susține populația speciei țintă [26]. Astfel se asigură efecte letale prin țintirea unei gene esențiale folosind sistemul CRISPR, iar salvarea speciei este realizată prin furnizarea unei versiuni a genei esențiale rezistent. În mod similar a fost demonstrat că fertilitatea femelelor heterozigote purtătoare a mutației *tra* au un rol semnificativ în suprimarea muștei mediteraneene a fructelor (*Ceratitis capitata*), la care indivizii convertiți (cariotipul XX) sunt fertili și contribuie la eficiența biologică înaltă (Yan Y., *et al.* 2023). Rezultate similare au fost obținute la

gândacul roșu de făină (*Tribolium castaneum*), la molia de diamant (*Plutella xylostella*). Prin urmare, aplicarea sistemului CRISPR pentru managementul genetic al insectelor dăunătoare ar putea persista mai mult decât alte strategii de autolimitare a densității populațiilor [24].

Dezvoltarea abordărilor genetice pentru controlul insectelor până la aplicațiile de teren reprezintă un efort interdisciplinar. Analizele teoretice fac parte dintr-o imagine mult mai mare, un complex de elemente care, înteracționând între ele, pot asigura manifestări sinergice, prin realizarea schimbărilor reale. Activitățile de laborator prin aplicarea unei game extinse de factori, tehnici și metode reprezintă fundamentul creării tulpinilor adecvate. Succesul managementului genetic al insectelor dăunătoare depinde în mare măsură de comportamentul insectelor, deoarece masculii eliberați trebuie să poată ajunge la o proporție semnificativă de femele din populația țintă și să fie în mod rezonabil competitivi pentru parteneri atunci când îi găsesc. Succesul mai este condiționat de gradul de supraviețuire a insectelor transgenice pe mediile de nutriție care conțin antidot, nivelul letalității insectelor țintă și competitivitatea masculilor eliberați [27]. Ulterior liniile candidate sunt selectate și testate, evaluând toate aceste măsuri cruciale de performanță prin competiția experimentală și încercările de la eprubeta sau cușca de laborator până la eliberare în spațiu deschis. Realizările tehnologice științifice mai așteaptă controlul în urma implementării, reglementările sociale și etice privind aplicarea largă  a modalității de reglare a densității populațiilor de insecte dăunătoare [28].

Una din așteptările mari ale omenirii este legată de rolul culturilor modificate genetic în soluționarea problemelor cauzate de schimbările climatice. Posibilitățile metodologiilor de modificare a genomului privind sporirea rezistenței culturilor la secetă și sporirea capacității lor de captare a carbonului inspiră speranțe de diminuare a impactului schimbărilor climatice. Pornind de la lipsa masivului informațional privind perspectivele manifestării genelor modificate în decursul mai multor generații, comunitatea științifică mondială rămâne îngrijorată de riscul apariției unor mutații imprevizibile cu impact deosebit de grav.

Astfel, savanții din Comunitatea Europeană au emis o declarație comună în care critică deciziile Comisiei Europene  de a nu recunoaște plantele obținute pe calea noilor tehnici genomice ca organisme modificate genetic și avertizează asupra necesității evaluării factorilor de risc. Experții se opun acestei inițiative legislative, care ar permite în viitor eliberarea în mediu a plantelor obținute din noua inginerie genetică fără o evaluare prealabilă a riscurilor [29].

Politica și reglementările privind controlul genetic al insectelor s-au dezvoltat și extins în ultimii ani și continuă să fie în atenția organelor executive internaționale și naționale. Analizele de bază a riscurilor sănătății omului, speciilor nețintă și situației de mediu mai continuă studiul acțiunii diseminării deliberate a insectelor modificate genetic care necesită evaluarea pentru a se asigura că biodiversitatea și sănătatea umană nu sunt afectate negativ. În mod simulativ, beneficiile suprimării dăunătorilor agricoli, reducerii daunelor și îmbunătățirii randamentului plantelor sunt analizate din punct de vedere economic [30]. Elaborarea unor reglementări orientate la analiza riscurilor în contextul beneficiilor potențiale ale managementului genetic al insectelor dăunătoare necesită o analiză suplimentară cu privire la punerea în aplicare a tuturor tipurilor de control pentru a determina corect cum și cine beneficiază și cine plătește pentru aceste bunuri publice.

**Concluzii**

Reducerea vulnerabilităţii ecosistemelor naturale şi a celor antropizate şi sporirea adaptabilităţii acestora, necesită elaborarea sistemelor ecologic inofensive de protecţie a plantelor.

Biotehnologiile agricole și managementul genetic al insectelor dăunătoare pătrunde tot mai profund ca o gamă de procedee și tehnici de combatere a dăunătorilor prin eliberarea insectelor sterile crescute în masă, care apoi concurează pentru parteneri cu reprezentanții populațiilor naturale. Tehnologiile contemporane bazate pe mecanismele genetice folosesc insecte care sunt homozigote pentru o construcție genetică letală dominantă, mai degrabă decât să fie sterilizate prin iradiere. Tulpinile modificate genetic ale speciilor dăunătoare agricole, au fost dezvoltate cu letalitate care operează numai asupra femelelor. Culturile transgenice care exprimă toxine insecticide deja sunt utilizate pe scară largă. Eliberarea în masă a masculilor sensibili la

toxine (purtători de gene letale feminine), precum și suprimarea populațiilor reprezintă o strategie eficientă de gestionare a rezistenței.

Deși bazele folosirii elementelor genetice în manipularea raporturilor de sex pentru managementul insectelor dăunătoare sunt cunoscute de mai mulți ani, totuși acumularea noilor idei și rezultate semnificative în combaterea insectelor dăunătoare și protecția culturilor agricole, se înregistrează în cercetările din ultimele decenii.

Eficiența biologică, ecologică și economică a metodei genetice de combatere a insectelor dăunătoare este determinată de selectarea speciei și particularitățile ei, inclusiv trăsăturile de producție și performanța pe teren, posibilitatea aplicării modificărilor genetice și fenotipice asociate cu adaptarea de laborator, manifestarea genelor la creșterea în masă a insectelor modificate, eficiența împerecherii și randamentul proceselor de sterilizare.

Experiența aplicării managementului genetic al insectelor dăunătoare constituie o bază considerabilă de reducere a îngrijorării privind introgresarea fondurilor genetice de laborator și manifestarea rezultatelor dezirabil al programelor de lansare, (pentru) de exemplu, putem dori să introducem în mod deliberat în populațiile de dăunători sălbatici. Aceasta deschide posibilități de extindere a gamei de specii și varietăți pentru aplicarea și sporirea eficacității programelor de eliberare în mediul înconjurător cu scopul sterilizării.

Utilizarea ingineriei genetice moleculare și a transformării insectelor în mai multe specii a depășit multe probleme anterior insolubile folosind metode tradiționale. Aplicarea metodelor biologicei moleculare, inclusiv cele de editare a genomului, îndeosebi tehnologia CRISPR a revoluționat posibilitățile de modificare precisă și eficientă ale genelor sau ale genomului, care sporesc considerabil eficacitatea sterilizării insectelor dăunătoare.

Realizările semnificative înregistrate în agricultura ecologică și regenerativă, biotehnologiile agricole, editarea genelor, promit să revoluționeze sănătatea publică, agricultura, controlul organismelor dăunătoare, ameliorarea culturilor, elaborarea tehnologiilor pentru diverse procedee tehnologice de obținere a produselor și materialelor.

Agravarea stării fitosanitare a culturilor agricole și aprofundarea fenomenelor și manifestărilor crizei ecologice legate de aplicarea pesticidelor, precum și inițiativele de reducere a riscurilor iminente pe fundalul înregistrării și aplicării realizărilor biotehnologice moderne, îndeosebi a celor bazate pe metodologiile molecular biologice, reprezintă un masiv enorm de realizări și probleme, care necesită a fi discutate în vederea transferului de la combaterea organismelor dăunătoare spre aplicarea mecanismelor naturale și a mijloacelor ecologic inofensive de reglare a densității populațiilor de agenți fitosanitari.

**Referințe:**

1. IPPC Secretariat, 2021. *Scientific review of the impact of climate change on plant pests – A global challenge to prevent and mitigate plant pest risks in agriculture, forestry and ecosystems,* 34 p. Rome. https://doi.org/10.4060/cb4769en.
2. *Shaping the agriculture of the future*. *FIBL Activity report 2019-2020*, 2021, 39 p.
3. Voloșciuc L. *Agricultura ecologică: aspecte teoretice și valențe practice*. Chisinau. MEC, Combinatul poligrafic central, 2021, 288 p. ISBN 978-9975-62-451-0.
4. Rizzo D. M., Lichtveld M., Mazet J. A. K., Togami E. and Miller S. A. *Plant health and its effects on food safety and security in a One Health framework: four case studies.* Rizzo et al. *One Health Outlook,* 2021, 3:6, p. 1-9. https://doi.org/10.1186/s42522-021-00038-7
5. Doudna J. A., Charpentier E. *Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. Science*, 2014, 346: 1258096.
6. Kyrou K., Hammond A., Galizi R., Kranjc N., Burt A., Beaghton A., Nolan T., Crisanti A. *A CRISPR–Cas9 gene drive targeting doublesex causes complete population suppression in caged Anopheles gambiae mosquitoes. Nat. Biotechnol.* 2018, 36, p. 1062-1068.
7. Alphey, L. & Alphey, N. *Five things to know about genetically modified (GM) insects for vector control. PLoS Pathogens*, 2014, 10. e1003909.

8. Elton C. S. *The ecology of invasions by animal and plants.* London: Methuen and Co Ltd., 1958,196 p.
9. Викторов А. Г. *Генетические методы борьбы с вредными насекомыми. История и современное состояние*. *Российский журнал биологических инвазий*, 2021, 14 (1), с. 51-63.
10. Dyck V. A, Hendrichs J., Robinson A. (eds.): *Sterile insect technique: principles and practice in area-wide integrated pest management* (2nd ed.), CRC Press. 2021. 787 p.
11. Tonnang H. E., Sokame B. M., Abdel-Rahman E. M., Dubois T. *Measuring and modelling crop yield losses due to invasive insect pests under climate change. Current Opinion in Insect Science,* 2022, 50. 100873.
12. Анисимов А. И. *Обоснование генетических методов борьбы с вредными видами насекомых из отрядов Diptera и Lepidoptera.* Автореферат дисс. доктора биол. наук. Санкт-Петербург, 1997, 50 с.
13. Доспехов Б. *Методика полевого опыта // М.,* Агропромиздат, 1989, 313 с.
14. Alphey N. and Bonsall M. *Genetics-based methods for agricultural insect pest management. Agricultural and Forest Entomology,* 2018, 20, p. 131-140.
15. Симчук А. П. *Эколого-генетический подход к защите растений в сельском хозяйстве. Экосистемы, их оптимизация и охрана,* 2013, 8, с. 66–70.
*16.* Махров А. А., Карабанов Д. П., Кодухова Ю. В. *Генетические методы борьбы с чужеродными видами. Российский журнал биологических инвазий,* 2014, № 2, с. 110-126.
17. Voineac, V., Şleahtici, Vl., Musleh, M., Voineac, I. *Autosterilizarea asculilor dăunătorilor piersicului Grapholitha molesta Busck şi Anarsia liniatella Zeller.* În: *Biotehnologii avansate – realizări şi perspective, tezele simpoz. şt. intern.,* 21-22 oct. 2019. Ed. a 5-a. Chișinău, 2019, p. 134.
18. Батко М., Нямцу А. *Наследуемая стерильность – как механизм генетического регулирования численности вредителей.* Simpozionul „Agricultura Modernă – Realizări şi Perspective" consacrat aniversării de 80 de ani de la înfiinţarea Universităţii Agrare de Stat din Moldova. Chișinău, 27 septembrie 2013, с. 187-192.
19. Батко М. Г. Войняк, В. И., Брадовский В. А., Нямцу А. М. *Частичная стерильность – как фактор генетического контроля численности капустной совки. Информационный Бюллетень ВПРС МООБ „Фитосанитарная безопасность и контроль сельскохозяйственной продукции",* Бояны, 2013, № 44, с. 30-36.
20. Ковалев Б. Г., Джумакулов Т., Недопекина С. Ф. Абдувахобов А. А. *Половой феромон озимой совки Scotia segetum. // Докл. АН СССР,* 1985, 284, № 6, с. 1373-1375.
21. Willer Helga. *The adventure of collecting data on organic agriculture worldwide. The World of Organic Agriculture.* BIOFACH Congress. Nuremberg, 2019, 32 p.
22. Knipling E. F. *Prezent status and future trends of the SIT approach to the control of arthropod pest. Sterile insect technique and radiation in insect control.* IAEA. Vienna, 1982. p. 3-23.
23. Proverbs M. D. *Sterile insect technique in codling moth control. Steril insect technique and radiation in insect control.* IAEA. Vienna, 1982. p. 85-89.
24. Burt A. *Site-specific selfish genes as tools for the control and genetic engineering of natural populations. Proc. Biol. Sci.,* 2003, 270, p. 921–928.
25. Voloşciuc L. T*he role and place of GMOs in solving phytosanitary problems. Academos,* 1/2020, p. 33-38.
26. Cannon P. M., Kiem H. P. *The genome-editing decade. Molecular Therapy,* 2021, 29, p. 3093-3094.
27. Hoffman W. *Ecosystems, Food Crops, and Bioscience: A Symbiosis for the Anthropocene. Asian Biotechnology and Development Review* Vol. 18, No. 1, 2016, p. 39-68.
28. Zhao Y., Schetelig M. F., Handler A. M. *Genetic breakdown of a Tet-off conditional lethality system for insect population control. Nature Communications,* 2020, 11, 3095.
29. Yan Y., Aumann R. A., Häcker I., Schetelig M. F. *CRISPR-based genetic control strategies for insect pests. Journal of Integrative Agriculture*, 2023, 22(3), p. 651-668.
30. Sarkies P. E*volution beyond DNA: epigenetic drivers for evolutionary change? BMC Biology.* 2023, 21:272. https://doi.org/10.1186/s12915-023-01770-4.

***Notă:*** *Cercetările au fost realizate în cadrul Subprogramului 011103 „Elaborarea mijloacelor ecologic inofensive de reducere a impactului organismelor dăunătoare ale culturilor agricole pe fundalul schimbărilor climatice, finanțat de Ministerul Educației și Cercetării.*

**Date despre autori:**
***Leonid VOLOȘCIUC,*** doctor habilitat în științe biologice, Șef de laborator, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, Universitatea de Stat din Moldova.
**ORDCID:** 0000-0002-7475-4310
**E-mail:** leonid.volosciuc@usm.md
l.volosciuc@gmail.com

***Mihail BATCO,*** doctor în științe biologice, Șef de laborator, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, Universitatea de Stat din Moldova.
**ORCID:**0000-0002-3711-4429
**E-mail:** batcomihail@gmail.com

*Prezentat la 13.02.2023*