

## Biopeszticidok – *Bt.* toxin

A rovarok között sok mezőgazdasági kártevő található, illetve több növénybetegséget is rovarok terjesztenek. A vegyszeres irtásuk egyre inkább háttérbe szorul, mivel kimutatták, hogy a rovarirtók és azok bomlástermékei felhalmozódnak a táplálékban illetve az ivóvízben. Éppen ezért kezdtek el alternatív megoldásokat keresni, amelyek közül az egyik reményteljes próbálkozás a biopeszticidok kutatása. Ezeket főleg a *Bacillus thuringiensis* nevű Gram pozitív talajlakó baktériummal termelik. Emellett még más *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Serratia*, *Photorhabdus* és *Xenorhabdus* fajok is termelnek biopeszticidokat.

### A *Bacillus thuringiensis*:

Története:

elnevezés: Ernst Berliner német biológus, 1911

Rovarak elleni védekezésre csak később használták (1928)

1938 elsőként Franciaországban került forgalomba

1958-ban az USA-ban

1970-ben már egész törzsgyűjtemény az USDA Agricultural Research Service-nél

### A faj leírása:

Gram +, aerob, spóraképző (parasporális test)

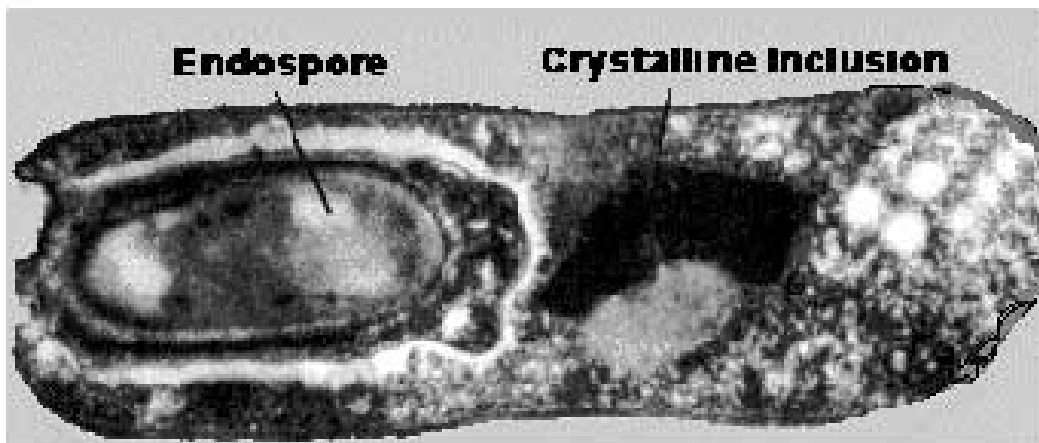
Morfológia: kb. 1 µm átmérőjű, 2-5 µm hosszú pálca

A spóra ellipszis alakú, 0,8x1,6-2 µm

Kristályos fehérje zárvány - (δ-endotoxin)

### Metabolizmusa:

Kemoheterotróf, aerob közegben a szénhidrátokat szerves savakká, majd CO<sub>2</sub>-dá alakítja. Komplex anyagcseréje van, a glükózból keletkező ecetsavat a primer metabolizmusban felhalmozza, később hasznosítja.



### Életciklusa:

- Spóra csírázás
- Növekedés, szaporodás
- Spórázás és kristályképződés

### Besorolása, osztályozása:

*B.t.* törzsek rendszerezését a mai napig zavar övezi.

A flagelláris (H) antigének alapján 34 féle szerotípust különböztetünk meg.

Gyakorlatiasabb besorolásra van szükség.

Toxigén-szerkezet alapján: A 27-féle azonosított toxinkristályt 4 osztályba sorolták:

Cry I, II, III, IV, később V

A *Bacillus thuringiensis* egyes alfajai olyan kristályos fehérjékből álló zárványtestet képeznek, amely bizonyos rovarfajokra nézve toxikus. Más-más törzs toxinjai hatásosak a pikkelyesszárnyú, a kétszárnyú és a fedelesszárnyú fajok ellen:

Lepidopterák ellen - Cry I, II, V

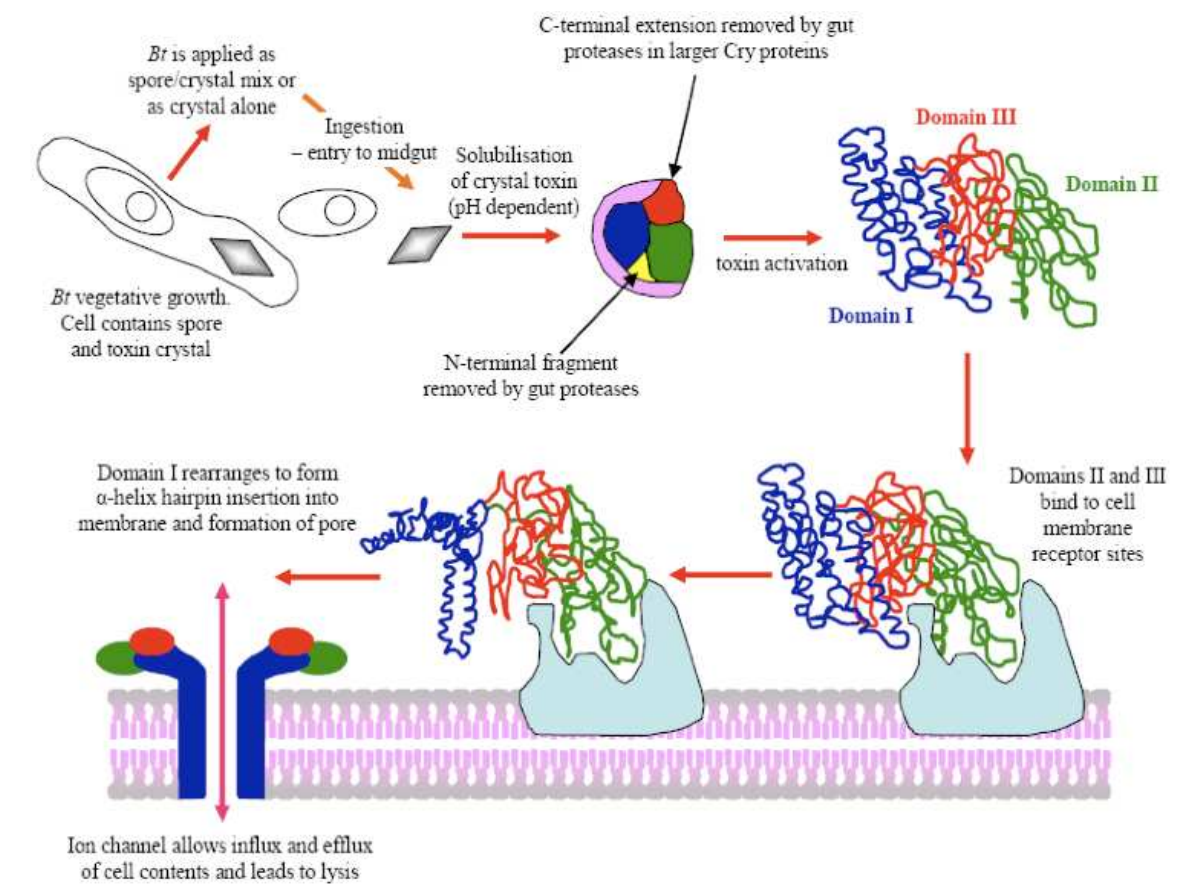
Dipterák ellen - Cry II, IV

Coleopterák ellen - Cry III, V

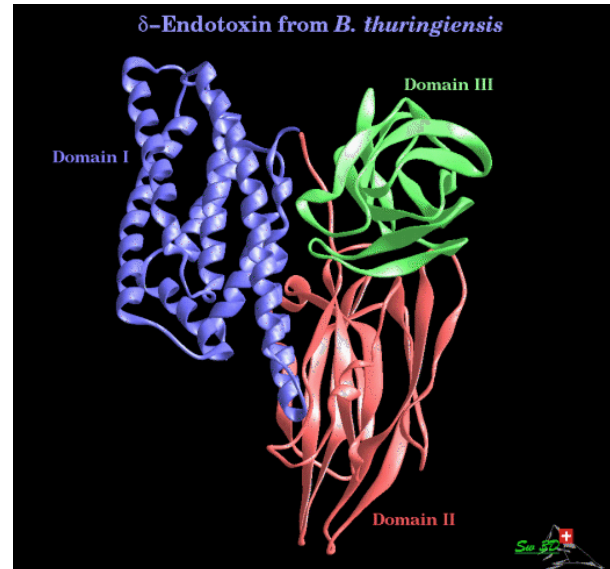
A biopeszticidok termelésre négy *Bacillus thuringiensis* alfajt izoláltak. A *Bacillus thuringiensis kurstaki* és a *Bacillus thuringiensis aizawai* a pikkelyes szárnyúak elleni védekezésre alkalmas toxinokat termel, a *Bacillus thuringiensis israelensis* a szúnyogok ellen, a *Bacillus thuringiensis morrisoni* (korábban *tenebrionis*) pedig a burgonyabogár ellen.

#### A $\delta$ -endotoxin hatásmechanizmusa:

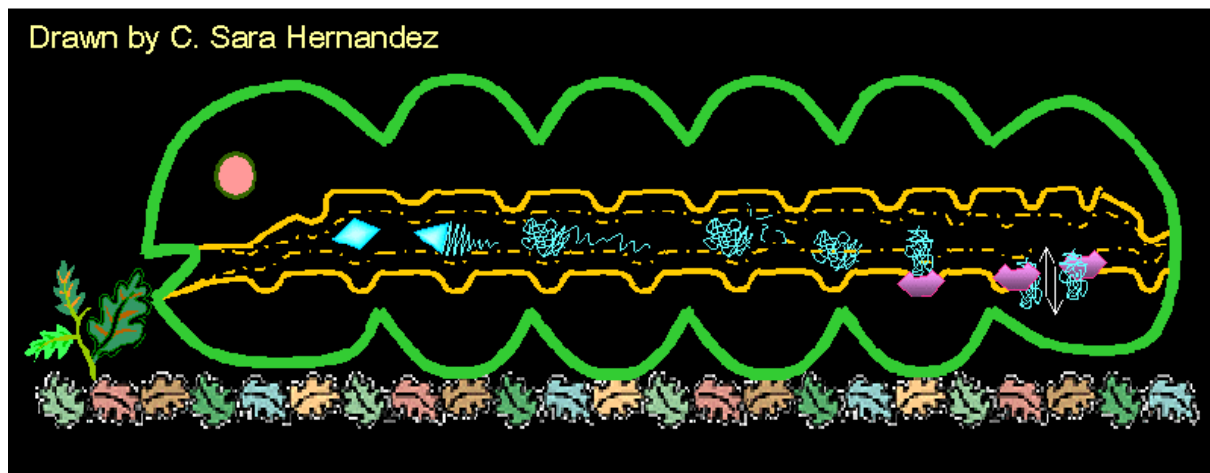
A bálcsatornában előbb feloldódik, majd a fehérje mindkét végén proteolízissel aktiválódik. Az aktív fehérje komplex hozzákötődik a bélhámsejtekhez, a sejtmembránon lyukakat hoz létre, ami a rovar elpusztulásához vezet.



Az endotoxin negyedleges szerkezete az előző ábrával azonos színezéssel:



A bemutatott folyamat a lárva bélcsatornájában lokalizálódik.



### ***Bacillus thuringiensis* toxinok előállítása fermentációs úton**

A biopeszticidek előállítási költségének a csökkentése fontos, hogy versenyképesek legyenek a kémiai növényvédőszerrel szemben. A toxinok szekunder metabolitok, a spórázás során képződnek. A fermentáció kezdeti szakaszában a tenyészet exponenciális növekedő szakaszban van, majd amikor bizonyos tápanyagkoncentrációk a kritikus érték alá esnek, beindul a spórázás. A spórázás befejeztével a sejtek lizálódnak, és kiszabadulnak a spórák és a toxinzárványok.



A *Bacillus thuringiensis* a glükózt a glikolízissel hasznosítja, míg az acetát ionokat a citromsav ciklusba viszi. Az exponenciális növekedési fázis alatt a sejtek az acetát ionokat felhalmozzák, majd ezt hasznosítják a spórázás kezdeti szakaszában. Érdekes adat, hogy az acetát hasznosítás már akkor elkezdődik, amikor még kis koncentrációban glükóz van jelen, szemben az *E.coli*-val, ami csak a glükóz teljes elfogyásakor kezdi az acetát ionokat hasznosítani. Többnyire glükóz szén-forrást használnak, de a nagy (>40 g/l) glükóz koncentráció gátolja a növekedést, ezért rátáplálásos technikát alkalmaznak. A C-forrás lehet még kemé-

nyító, glicerin, dextrin, vagy melasz

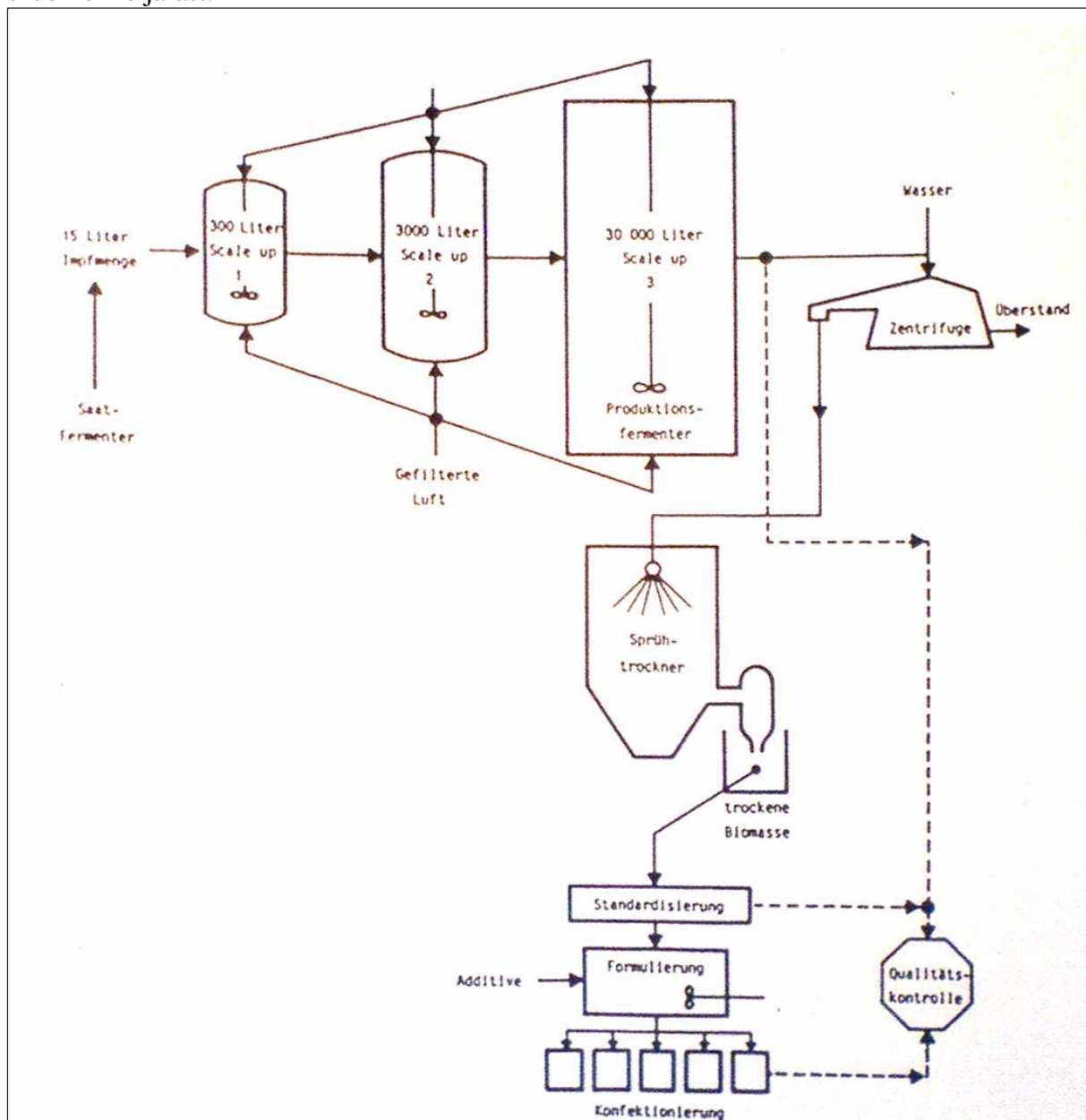
A nitrogénforrás-igényéről kimutatták, hogy szerves nitrogén-sók (pl.  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) nem elégségesek, szerves nitrogénforrásra is szükség van (húskivonat, pepton, szójasizt). Egyéb tápanyagok ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , élesztő extraktum) hiánya is okozhat limitációt. A  $\mu_T$  értéke 0,5 és 0,8 1/h között mozog. Az  $1,25 \cdot 10^{10}$  spóra/ml jó végermék-koncentráció. Nagy a levegőztetési igénye.

Az optimális pH: 6,5-7,5 között van. A tenyészet nem pH érzékeny, de azért pufferolni kell a tápközeget.

Fermentációs hőmérséklet: 26-30 °C

A szerves ionok közül a Mg, Cu, Fe, Co, Zn, K játszik szerepet.

Történtek kísérletek ún. semisolid tápközegen történő fermentációra, de előnyben részesítik a szubmerz eljárást.



A Nyugat-Európai országokban környezetvédelmi előírás, hogy a biopeszticidok ne tartalmazzanak csírázóképes spórákat.

Megoldások:

- Spóramentes mutánsok alkalmazása
- Spórák feloldása a fermentlében
- Hőlabilis spórát termelő mutánsok alkalmazása

A fermentlé feldolgozásának lépései:

- Centrifugálás, szeparálás (a sejtekben van a kristály)
- Adalékok hozzáadása
- Porlasztva szárítás
- Sterilizés

Célszerű olyan szer-formák kialakítása, amelyek alkalmazkodnak az adott rovar életteréhez (pl. a szúnyoglárva).

Formulázási szempontok:

- Könnyű kezelhetőség
- Stabilitás
- Alacsonyabb költségek

Többféle formában kerülnek kereskedelmi forgalomba:

- Szuszpenziók
- Nedvesedő porok
- Granulátumok
- Tabletták
- Brikettek
- Fermentlé közvetlenül

Minőség-ellenőrzés - analitikai módszerek

A hatóanyag tartalom meghatározása bonyolult feladat, lehet a

- csírázóképes spóraszámot meghatározni (arányos a kristályok mennyiségével)
- megbízhatóbb „rovar-biotesztek” kifejlesztése (Petri csészében lárvák + levél, pusztulást számolni)
- Immun-biológiai módszerek (antitest-antigén)

Rezisztencia kialakulásnak veszélye - rövid behatási idő és a gyors lebomlás miatt csekély

Környezetre gyakorolt hatás:

A *Bacillus thuringiensis* által termelt növényvédő szerek nagyon specifikusan egyes rovarokra hatnak, más élőlények, így az ember számára nem jelentenek veszélyt. Gyorsan lebomlanak.

Növénybe épített védelem (Plant-Incorporated-Protectants; PIPs):

1996 óta a kultúrnövények közül többnek a genomjába is beültették a *Bacillus thuringiensis* toxin génjét. Ezeket ma már árusítják és termesztik az USA-ban. (ilyen például a kukorica, a burgonya, a gyapot és a szója) Ezek a növények a szövetjeikben termelik a toxint, így az csak a növényt megtámadó rovarokat mérgezi meg. → ld. GMO növények fejezet.