

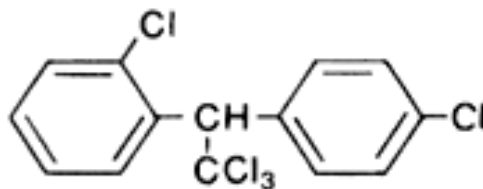
## 6.3 Biopeszticidok

### Mik azok a peszticidok?

A peszt szó valamiféle járványt, halált, károsítást jelent ( $\rightarrow$  pestis). A peszticidok azok a szerek, amelyek a kórokozókat, kártevőket elpusztítják, távol tartják. Itt szűkebb értelemben a rovarkártévők eliminálásáról lesz szó. A biopeszticid szóösszetétel biológiai úton előállított rovarirtó szert jelent.

Rovarkárok ellen különböző módokon lehet védekezni. A középkorban is tudták, hogy ha a konyhakertbe rovarriasztó növényeket ültetünk, akkor sokkal kevesebb rovar fogja károsítani a növényeket. (Ez nem tekinthető komoly, nagy méretekben alkalmazható rovarvédelemnek, bár a biokertészek újra alkalmazzák.)

Az iparszerű növényvédelem a nagyüzemi növénytermesztéssel együtt jelent meg a XX. században. Az igazán hatékony rovarirtás a XX. század közepén jelent meg a **DDT** (diklórdifenil-triklór-etán) felfedezésével.



1. ábra: A DDT képlete

Bebizonyosodott, hogy a **DDT** egy nagyon hatékony rovarirtó. Széleskörűen alkalmazták a második világháború alatt, és utána még úgy húsz évig, hatásának felismeréséért Nobel díjat is adtak. Azután sorra ismerték fel a káros hatásait, és lassan kivonták a forgalomból. A fő probléma az, hogy a bioszférában gyakorlatilag nem bomlik le, a felezési ideje száz év körül van. Az a DDT, amit 50-60 éve szórtak ki, az ma is itt van a bioszférában, nem bomlik le, nem távozik el, csak vándorol a természetben. Az anyagmegmaradás itt tökéletesen érvényesül. A DDT bekerül a táplálékláncba, és ezzel a magasabb rendű élőlények szervezetébe is. A DDT-vel permetezett növényeket elfogyasztják a növényevők, azokat a ragadozók, és azután továbbkerül a lebontó szervezetekbe is. Ma már kis mennyiségben ki lehet mutatni a DDT-t az eszkimó asszonyok anyatejében, és az antarktisi pingvinek májában egyaránt. (Kitekintés: a madarak szervezetében a DDT a tojások héjának elvékonyodását okozza. Az USA címerállata, a fehér fejű sas majdnem kipusztult amiatt, hogy a rovarirtó szerek a szervezetükbe jutásának köszönhetően a faj tojásainak héja elvékonyodott. Így túlságosan sok tojás tört össze a fészkekben és kevés fióka kelt ki.) A kémiai rovarirtásnak meg volt és ma is meg van a maga szerepe, de ezek a szerek durván károsítják a környezetet. Napjainkra

szerencsére elkezdtek ezeknek a szereknek a használatát korlátozni, mert kiderült, hogy mindegyiknek van valamilyen káros környezeti hatása.

Így merült fel az az igény, hogy környezetbarát alternatívákat keressenek a növényvédelemre. Keresni kezdték a biológiai védekezés módjait. Így jutottak el a biopeszticidokhoz. Ezek természetes, biológiai eredetű anyagok, nem kémiai szintézissel előállított vegyszerek. Biológiai terméket alkalmazunk más élőlények ellen - ez a megfogalmazás hasonló az antibiotikumok meghatározásához. De más a cél: nem mikrobákat akarunk elpusztítani, hanem magasabb rendű élőlényeket, rovarokat.

Tehát konkrétan a **biopeszticidok definíciója** a következő:

A biopeszticidok olyan kártevő-ellenes hatású, természetes eredetű anyagok, melyeket állatokból, növényekből, baktériumokból vonnak ki különböző módszerekkel.

Élőlényekből kinyert, természetes eredetű anyagok, pl.: növényi hormonok, kivonatok, feromonok.

#### **Előnyök:**

- **Természetüknél fogva kevésbé toxikusak**
- **Csak a célkártevőkre hatnak.** (Ez feltétel egy modern irtószernél)
- **Kisebbségi mennyiségben fejtik ki hatásukat.** Nem rovar testének egészére hat, hanem egyes célszervekre/receptorokra.
- **Gyorsan bomlanak**

**Hogyan csoportosíthatók?** A biopeszticidokat felhasználásuk szerint szokták csoportosítani:

**Izolált hatóanyag kijuttatása:** előállítanak egy szert, azt kipermetezik, kiszórják a mezőgazdasági kultúrára (talajra, vagy növényre) célzott módon. Majd ezek a növény felületén találkoznak a kártevővel, és azokat elpusztítják, vagy távol tartják.

**Növénybe épített védelem** (Plant-Incorporated-Protectants; PIPs): A növények génállományába bejuttatott idegen gén terméke megjelenik a növény minden sejtjében, és ez pusztítja el a rágó rovarokat.

Így kapcsolódik ez a témakör a növényi biotechnológiához, ezért kerül ebbe a fejezetbe

**Összefoglalva:** két lehetőség van szó, vagy biológiai úton termelik, vagy a másik lehetőség az az, hogy beépítik a növénybe.

1.) A legfontosabb és legismertebb biopeszticid termelő a *Bacillus thuringiensis* baktérium. A termék egy fehérje típusú anyag, ami nagyon-nagyon specifikusan hat az egyes rovarfajokra. A *Bacillus thuringiensis*-nek van kb. 50 válfaja, és ezek közül ki lehet választani egy olyant, ami csak egy adott (esetleg néhány) rovarfaj ellen hatékony. Létezik például a gyötrészűnyog ellen hatékony alfaj. Szűnyogirtáshoz ezt a változatot szaporítják a fermentorban, és ennek termékét szórják ki a terepre. Az anyag csak ezt a fajt pusztítja el, és

nem károsítja a legyeket, lepkéket. (Kitekintés: a szúnyoglárva túlságos pusztításának is megvan a maga ökológiai következménye. Ha sekély tavakban (mint a Balaton, Velencei tó) intenzíven irtották a szúnyoglárvaakat akkor a tavakban elszaporodtak a zöldalgák. Kémiai vizsgálatokkal megállapították, hogy a vízben nagyon sok lett a foszfát. Szinte annyi foszfát volt a vízben, mintha megm trágyázták volna a tavat, hogy a zöldalgák el tudjanak szaporodni. A magyarázat az, hogy a foszfornak egy jelentős részét a szúnyoglárva viszik ki a vízbe. A szúnyoglárva, miközben táplálkoznak a vízben, sok foszfort vesznek fel. Amikor átalakulnak és kirepülnek, ezt a foszfát mennyiséget kiviszik a vízbe a szárazföldre. Ha ez a foszfor mennyiség az irtás miatt a vízben marad, akkor az a zöldalgák növekedését segítik elő. A zöldalgák szaporodása rontja a víz minőségét, ld. Balaton, Keszthelyi öböl).


2.) **Baculovirusok:** a rovarokat megbetegítő vírusok. Ezek viszonylag jól szaporíthatók, a területre kipermetezhetők.

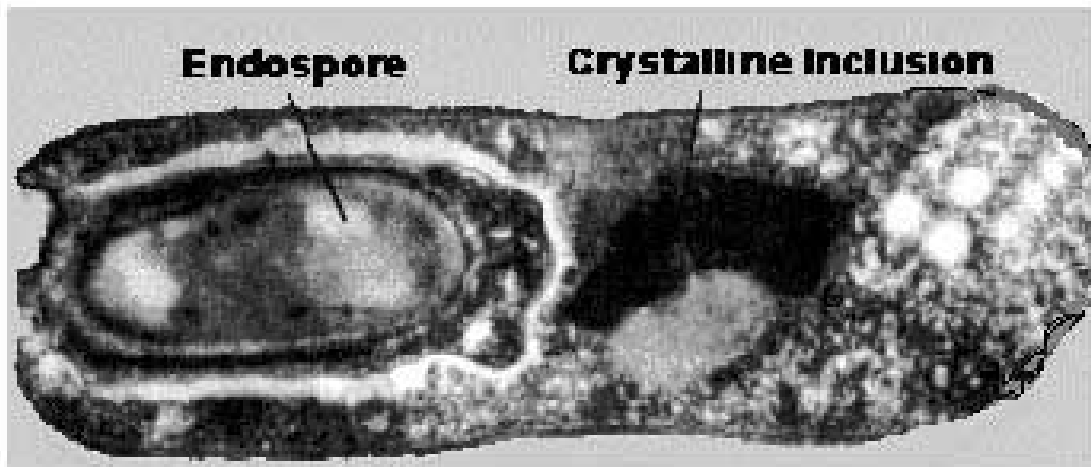
### A *Bacillus thuringiensis* története

Azonosítása a XX. század elején történt. Ernst Berliner német biológus azonosította és nevezte el hazájáról, Tübingiáról *Bacillus thuringiensis*-nek. A hatását hamar felismerték. 1928-ban kezdték el használni. Ipari készítményként 1930-ban került forgalomba először Európában, majd később 1958-ban Amerikában is.

1970-re alakult ki egy olyan törzsgyűjtemény, ahol sokféle altörzset definiáltak. (Tehát ebből a törzsgyűjteményből lehet válogatni és lehet kérni olyant, ami bizonyos rovarfajok ellen hatékony.)

### A törzs morfológiája:

<ul style="list-style-type: none"> <li>- Gram+, vastag sejt fala van</li> <li>- aerob, spóraképző, tehát endospórát tud képezni, ha olyanra változnak a körülmények</li> <li>- Kb. 1 µm átmérő, 2-5 µm hosszú pálcák</li> <li>- A spóra ellipszis alakú</li> <li>- 0,8x1,6-2 µm fehérjezárvány, a sejt belsejében keletkezik</li> </ul>	 <p style="text-align: center;">2. ábra: <i>Bacillus thuringiensis</i> (mikroszkópos felvétel)</p>
---	--



5. ábra: A *B. t.* sejt felépítése

A sejtben bal oldalt láthatjuk a tojás alakú endospórát. A sejt belsejében, középtájon pedig láthatunk egy fekete rombusz alakú kristályos fehérjezárványt. Ha izoláljuk a kristályokat, akkor is látható a jellegzetes rombusz alak. A sejt elöregedésével indul el a spóra- és kristályképzés. A kristály gyakorlatilag homogén, egyféle fehérjéből áll.



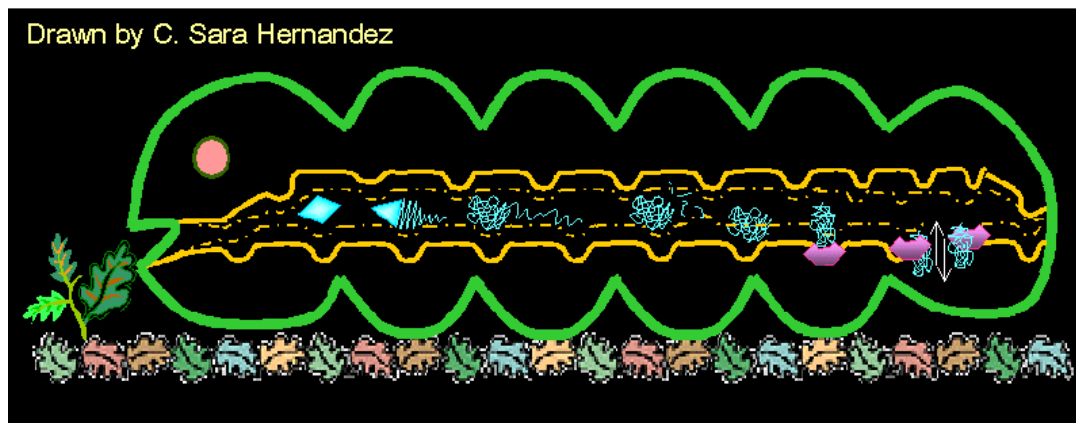
4. ábra: A rombusz alakú kristály szerkezet

#### **A *Bacillus thuringiensis* életciklusa:**

- Spóracsírázás (Ha a sejt nedves helyre kerül, akkor a spóra kicsírázik, helyre állítja a vegetatív sejtalakot, újra maga köré építi a sejtet.
- Ha a sejt tápanyaghoz jut, akkor elkezdi növekedni, szaporodni.
- Ha a körülmények rosszabbra fordulnak, akkor a sejt spórásodik, és kristályt képez.

#### **A *Bacillus thuringiensis* működése:**

A rovarok lárváit károsítja, olyan módon, hogy ha a kristály a hernyó bélcsatornájába kerül, akkor az a hernyó emésztőnedve hatására felbomlik és kiszabadulnak belőle a fehérjék. A folyamatot a bélcsatorna saját emésztőenzimeik indítják be. A kristály aktív fehérjévé alakul és ez lyukakat üt a bélcsatorna falán. Ezen keresztül a folyadékáramlás lép fel, ebbe a lárva belepusztul.



5. ábra: a -endotoxin hatásmechanizmusa

### A gyártás technológiája:

#### A *Bacillus thuringiensis* fermentációja

Fermentációs folyamat, ugyanúgy működik, mint egy klasszikus szekunder metabolit fermentáció (ld. penicillin). Azért szekunder metabolit fermentáció, mert a tenyészet előregedésével indul meg a termékképzés, a folyamat a végén jelenik meg a fehérje kristály.

H mérséklet optimum: 26-30 °C.

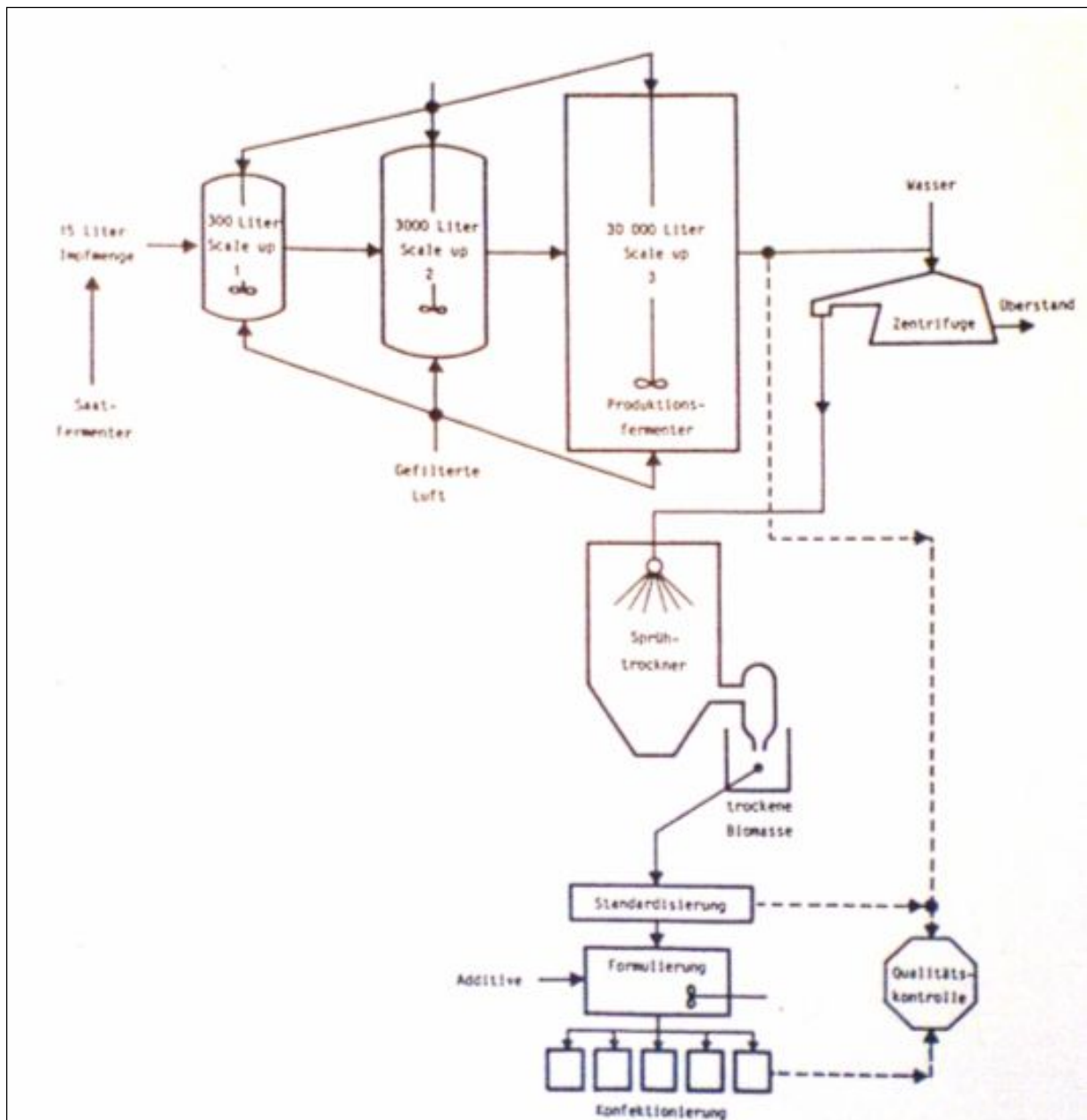
Tápanyagként jól hasznosítható cukrokat (glükóz, szaharóz, melasz) használnak. Nitrogénforrásként olcsó szervesetlen ammónium sók is megfelelnek, de szerves nitrogénforrást is hasznosít. Szervesetlen ionokról is megfelelő koncentrációban gondoskodni kell. (Mg, Cu, Fe, Co, Zn, K). Melasz használata esetén abban van annyi fémion, hogy ezeket nem kell külön bemérni.

A törzs oxigén igénye nagy, ezért a fermentációt intenzíven levegőztetni kell.

Közel semleges pH-n fermentálják. (Ez is a baktériumokra jellemző, az élesztők a savanyúbbat szeretik.)

A fermentációs műveleteknél a lépcsős szaporítást alkalmazzák. Általában tízszeresére növelik a szaporítási térfogatot. A technológiai folyamatábrán is jól követhető, hogy egy 300 literes oltófermentor után egy 3000 l-es oltófermentor következik, majd innen kerül a tenyészet a 30m<sup>3</sup>-es (= 30.000 literes) ipari termelő fermentorba.

Az oltófermentoroknál, természetesen nem viszik el a tenyésztést spórásodásig ill. termékképzésig, hanem csak a sejtszaporodási fázisig. Csak az utolsó fermentorban szaporítják olyan mértékig, hogy elfogyjanak a tápanyagok, és létrejön a spóra és a kristály. A végén egy olyan sejttömeget kapunk, ahol a sejtek belsejében ott vannak a kristályok.



6. ábra: A *Bacillus thuringiensis* fermentációja ipari léptékben

### A fermenté feldolgozása

Eldöntend kérdés, hogy ki kell-e preparálni a kristályokat a sejtekből, vagy a sejttanyaggal együtt is fel lehet használni permetezésre. Sokszor ez utóbbi megoldást választják.

A sejteket a kristályokkal együtt lecentrifugálják. A felülúszó folyadékra nincs szükség, a sejtszuszpenziót egy porlasztva szárító berendezésbe viszik. Ennek működési elve az, hogy a folyadékot felül apró cseppekre porlasztva viszik be. Mire a folyadékcsepp a forró levegőben ülepedve leér a készülék aljára, addigra elpárolog, a benne lévő szilárd anyag

száraz, porszerű formában érlelül. A levegőből a port ciklonokkal és szűrőkkel választják le.

A folyamatot bonyolultabbá teszi az az elírás, hogy ne maradhat csírázóképes spóra a termékben. A *B. thuringiensis* nem patogén, nem okoz betegséget csak a rovaroknak (az is inkább mérgezés, mint fertőző betegség), mégsem kerülhet ki élő baktérium/spóra a környezetbe.

Olyan eljárást kell találni, hogy a fehérje kristályok épen maradjanak, de élő baktériumok vagy csírázóképes spórák ne kerüljenek ki a környezetbe.

Megoldás lenne, ha már eleve olyan törzset fermentálnának, **ami nem lenne képes spórát képezni**. Ez nehéz feladat, mert a spóráképzés és a kristályképzés ugyanannak a szekunder metabolizmusnak a része. Nehéz úgy hozzányúlni egy bonyolult anyagcsere-folyamathoz úgy, hogy az egyik felét kioperáljuk, a másik fele pedig változatlan marad. Azonosítottak már egy-két spórát nem képező mutánst, de ezeket nem sikerült általánosan alkalmazni.

Másik lehetőség a **h labilis spórát termelő mutánsok** keresése. Nem akarjuk a spóráképzést megakadályozni, hanem a spóra tulajdonságait kívánjuk úgy megváltoztatni, hogy h érzékenyebb legyen. Ez ellentmond a biológiának, hiszen az endospóra egy túlélésképlet, amelynek éppen az a feladata, hogy rossz körülmények (szárazság, hideg, forróság) között is életképes maradjon.

A harmadik megoldás **spórák inaktiválása a fermentáléban**, ez nem genetikai, hanem technológiai változtatás. Olyan módszereket, kémiai kezeléseket igyekeztek kitalálni, hogy a spórák az oldatba tönkremenjenek, de a fehérje mellette megmaradjon. (Pl. spóratok enzimes bontása, csak a DNS-sel reagáló vegyszerek....)

A technológia utolsó lépése a hatóanyag formulázása késztermékké.

A leggyakoribb formák:

- Szuszpenziók (Pl. a szúnyoglárva az a vízben él, tehát az a cél, hogy a szer a növényen ne akadjon fel, hanem lepergjen a vízbe, és a vízben feloldódjon, és a szúnyoglárva a vízben elfogyassza.)
- Fermentlé közvetlenül
- Nedvesed porok
- Granulátumok
- Tabletták
- Brikettek

(Ez utóbbiakat nem közvetlenül szórják ki a növényre, hanem használat előtt feloldják.)



7. ábra: Egy kiszerelt késztermék

A Thuricide nevet a *Bacillus thuringiensis*-ből származtatták.

### A hatóanyag-tartalom meghatározása

A gyártáshoz mindig kapcsolódik a minőség ellenőrzés, de egy ilyen jellegű preparátumnál kérdéses, hogy hogyan lehet a minőséget, hatékonyságot ellenőrizni.

➤ **A spóraszám meghatározása** (pl. mikroszkóppal) Egyszerű, gyors, közelítő eljárás a fermentáció nyomon követésére. Feltételezzük, hogy együtt keletkezik a kristály és a spóra (sejtenként egy-egy), ezért nem a kristályokat számoljuk meg, hanem a spórákat, ez sokkal egyszerűbb.

➤ Megbízhatóbb a „**rovar-bioteszt**”. Ténylegesen a biológiai öltetést mérik. Petri csészékbe helyeznek nagy leveleket, pl. salátalevelet, ezt lefűjjük egy bizonyos mennyiségű *B.t.* szuszpenzióval és rátesznek a levélre x számú lárvát. Hagyják táplálkozni a lárvákat, majd megnézik adott idő után mennyi pusztult el közülük.

➤ **Immunbiológiai módszerek** Az immunfehérjék egy és csak egy fehérjével reagálnak. Ki lehet fejleszteni olyan immunfehérjét, ami a csakis a kristályfehérjét ismeri fel, és ezzel meghatározni a hatóanyagot. Bonyolult módszer.

**Rezisztencia:** A rovarirtó szereknél nagyon gyakori az, hogy a rovarok egy idő után rezisztensé válnak, adott szerek ellen.

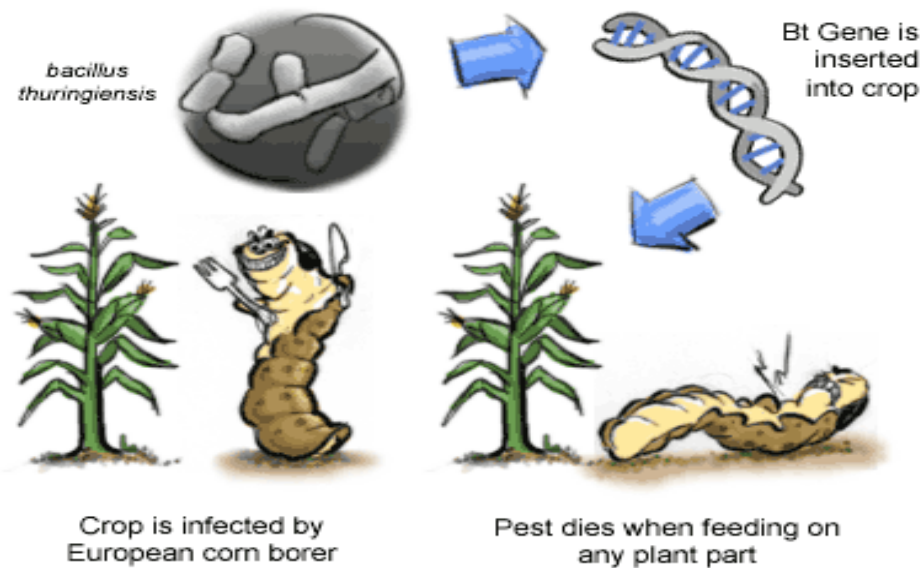
A biopeszticidok nagyon hamar elbomlanak, rövid ideig érintkeznek a rovarokkal, ezért nem alakul ki rezisztencia.

A rövid hatásidőt az is jelenti, a permetezésnél csak a lárvaállapotban lévő szúnyogokat pusztítja el, a petéket és a kifejlett szúnyogokat nem. A kiszórt szer csak néhány napig hatékony, azután a petéből kikelt lárvákra már nem hat.

A **környezeti hatás**ra is ugyanez a jellemző. Fehérje természetű anyag, és gyorsan, magától lebomlik. Nagyon szelektív, csak egy, vagy néhány fajra hat, ezért nem okoz környezeti károkat.



### A növénybe épített védelemr 1: (Plant-Incorporated-Protectants; PIPs):



8. ábra: A PIP m kódése

Ha a *Bacillus thuringiensis* megfelelő génjét sikerül bevinni kultúrnövényekbe (GMO), pl. kukoricába, akkor annak a kukoricának minden egyes sejtje termelni fogja valamilyen mennyiségben a *Bacillus thuringiensis* toxinját. Ha a kártevő rovar lárvája elkezd rágcsálni az így védett növény levelét, akkor az emészt rendszerébe bekerül a toxinfehérje, ami kilyukasztja a bélcsatornáját, és a lárva elpusztul. Így védetté tehető a növény egy adott rovarfaj ellen. (ld. az amerikai kukoricabogár példáját).

De az evolúció visszaüt: az USA kukorica termelő zónájában 2015-ben megjelent a „superbug”, egy olyan lárva, ami nem pusztult el PIP kukorica fogyasztásától.