

# Mikrobiologiske bekæmpelsesmidler i planteproduktionen - muligheder og risici

---

Niels Bohse Henriksen  
Svend Binnerup

Miljø- og Energiministeriet  
Danmarks Miljøundersøgelser  
1997

TEMA-rapport fra DMU, 14/1997

Mikrobiologiske bekæmpelsesmidler i planteproduktionen - muligheder og risici

Forfattere: Niels Bohse Henriksen og Svend Binnerup

Danmarks Miljøundersøgelser, Afdeling for Havmiljø og Mikrobiologi

URL: <http://www.dmu.dk>

Udgiver: Miljø- og Energiministeriet, Danmarks Miljøundersøgelser

Udgivelsestidspunkt: December 1997

Layout, illustrationer og produktion: Grafisk Værksted, DMU, Roskilde

Tryk: Scanprint as, Århus, ISO 9002 kvalitetsgodkendt, Svanemærkegodkendt, ISO 14001 Miljøcertificeret og EMAS Miljøregistreret

Trykt på Cyclus Print, 100% genbrugspapir med vegetabiliske miljøvenlige trykfarver uden opløsningsmidler. Omslag lakeret med vegetabilisk lak

Denne publikation er Svanemærket



Sidetæl: 28

Oplag: 1.500

Gengivelse tilladt med tydelig kildeangivelse

ISSN: 0909-8704

ISBN: 87-7772-356-2

Pris kr. 40,- Sæt á 10 stk kr. 200, abonnement, 5 numre kr. 225,-  
(Alle priser er incl. 25% moms, excl. forsendelse)

Købes i boghandelen eller hos:

*Danmarks Miljøundersøgelser*

*Frederiksborgvej 399*

*Postboks 358*

*4000 Roskilde*

*Tlf. 4630 1200*

*Fax 4630 1114*

*Miljøbutikken*

*Information og bøger*

*Læderstræde 1*

*1201 København K*

*Tlf. 3392 7692 (Information)*

*Tlf. 3337 9292 (Bøger)*

# Indhold

Indledning .....	5
Bakterier, svampe og virus .....	6
Bekæmpelse af skadedyr .....	8
Bekæmpelse af svampesygdomme .....	10
Gensplejsede mikroorganismer i bekæmpelsesmidlerne .....	12
Miljømæssige risici .....	14
Hvad siger loven? .....	22
Fremtiden .....	24
Sammendrag .....	25
Litteratur .....	26
Danmarks Miljøundersøgelser .....	27
Tidligere Temarapporter .....	28



Angreb af kålsommerfugle-larver  
(*Pieris brassicae*) på kål.  
(Foto: Den Kgl. Veterinær- og  
Landbohøjskole (KVL)/Jørgen  
Eilenberg).

# Indledning

Der er et alment ønske om at nedsætte belastningen af miljøet i det moderne landbrug. Dette gælder ikke mindst brugen af de kemiske bekæmpelsesmidler, som har en række uønskede effekter på naturen og desuden kan spores i madvarer og i drikkevandet. Derfor udvikles der alternative bekæmpelsesmetoder.

Anvendelse af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler er et eksempel på en sådan alternativ metode. Mikrobiologiske bekæmpelsesmidler indeholder bakterier, svampe eller virus i stedet for kemiske giftstoffer. Midlerne anvendes allerede i dag, og de vil blive mere og mere udbredt i fremtiden. Nye produkter vil komme på markedet, og de vil komme til at indgå i den almindelige drift af landbrug og gartnerier.

De første mikrobiologiske bekæmpelsesmidler kom på markedet omkring 1960, og fra midten af 1980'erne blev de første produkter anvendt i Danmark. I dag anvendes 12 mikrobiologiske bekæmpelsesmidler almindeligt i gartnerier. De fleste bruges til

sygdoms- eller skadedyrsbekæmpelse i drivhuse. Brugen af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler udgør dog stadig mindre end 1 procent af det samlede forbrug af bekæmpelsesmidler. Det skyldes bl.a., at der ikke er udviklet egnede mikrobiologiske bekæmpelsesmidler til bekæmpelse af ukrudt, svampesygdomme og skadedyr på almindelige afgrøder som f.eks. byg, hvede, raps og roer.

Der foregår i dag en betydelig forskning som sigter mod udvikling af mikrobiologiske midler til bekæmpelse af skadedyr og plantesygdomme. Her kan nævnes bekæmpelse af forskellige svampesygdomme som gråskimmel, æbleskurv, meldug og rodbrand. Der forskes også i udvikling af nye midler til bekæmpelse af skadedyr, som f.eks. bladlus, fluer og trips.

Denne temarapport beskriver, hvilke muligheder vi har for at bruge forskellige mikroorganismer som bekæmpelsesmidler, og hvilke miljømæssige risici der kan være forbundet med denne anvendelse.



# Bakterier, svampe og virus

I landbruget er afgrøderne ofte udsat for insekt- eller sygdomsangreb. Et sygdomsangreb skyldes ofte mikroorganismer, der inficerer plantens rod, stængel eller blade og derefter nedbryder plantevævet. De sygdomsfrembringende mikroorganismer er bakterier, svampe eller vira. I naturen findes der også mikroorganismer, som kan angribe insekter eller andre mikroorganismer.

I de mikrobiologiske bekæmpelsesmidler bruges netop bakterier, svampe eller virus som kan angribe og bekæmpe de insekter eller mikroorganismer, der forvolder skade på afgrøderne.

Selvom mikrobiologiske bekæmpelsesmidler er et lovende alternativ til den

kemiske bekæmpelse, findes der stadig kun få produkter på markedet. Dette skyldes, at fremstilling af nye mikrobiologisk bekæmpelsesmidler kræver et omfattende udviklingsarbejde. Først skal de mikroorganismer, som kan være egnede til bekæmpelse, findes og afprøves på de konkrete afgrøder. Dernæst skal mikroorganismen kunne dyrkes i store mængder og forarbejdes, så den kan sælges som et bekæmpelsesmiddel, der kan anvendes på marken eller i gartneriet. Denne udvikling er omkostningstung og har måske været bremset af de kemiske bekæmpelsesmidlers hidtidige succes på markedet. Udviklingsarbejdet er baseret på et grundlæggende kendskab til mikroorganismernes biologi, et område hvor der stadig er et stort behov for forskning.

Den lille kålflue (*Delia radicum*) inficeret af svampen *Verticillium lecanii*. Svampen begynder først at vokse ved de høje temperaturer og den høje luftfugtighed som findes i væksthuse. Under væksten trænger svampens hyfer ind i selve insektet hvor de nedbryder insektvævet således, at det til sidst dør. Under svampens vækst i insektet udskilles flere forskellige giftstoffer, som kun er virksomme over for insekter.

(Foto: KVL/Leif Stausholm & Jørgen Eilenberg)



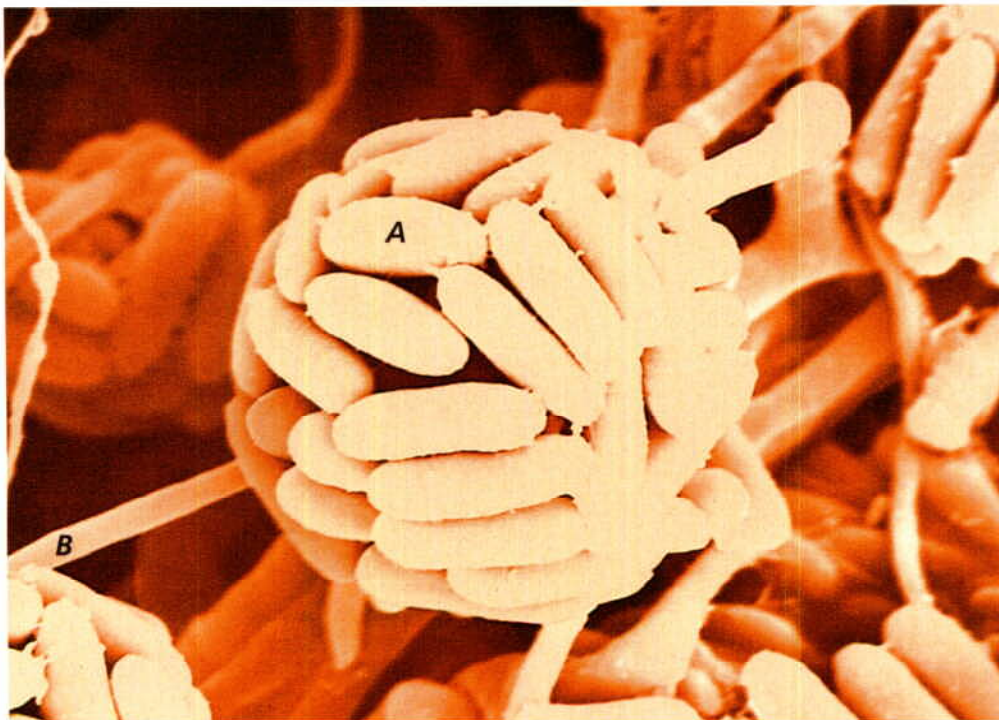
Produkt	Mikroorganisme	Målgruppe	Anvendelse
Agrovir	Ageruglens kapselvirus (V)	Knoporme	Grøntsager på friland
Bactimos WP	<i>Bacillus thuringiensis</i> (B)	Sørgemyg og stankelbenslarver	Planter i væksthuse
Vectobac	<i>Bacillus thuringiensis</i> (B)	Sørgemyg og stankelsbenslarver	Planter i væksthuse
Biobit WP	<i>Bacillus thuringiensis</i> (B)	Sommerfuglelarver	Kål
Dipel	<i>Bacillus thuringiensis</i> (B)	Sommerfuglelarver	Kål
Novodor	<i>Bacillus thuringiensis</i> (B)	Billelarver	Kartofler
Vertalec	<i>Verticillium lecanii</i> (S)	Bladlus	Planter i væksthuse
Mycotal	<i>Verticillium lecanii</i> (S)	Mellus, trips og spindemider	Planter i væksthuse
Supresivit	<i>Trichoderma harzianum</i> (S)	Svampesygdomme	Planter i væksthuse
Binab T	<i>Trichoderma harzianum</i> , <i>T. polysporum</i> (S)	Svampesygdomme	Planter i væksthuse
Trichodex	<i>Trichoderma harzianum</i> (S)	Gråskimmel	Planter i væksthuse
Mycostop	<i>Streptomyces griseoviridis</i> (B)	Svampesygdomme	Planter i væksthuse

Oversigt over mikrobiologiske bekæmpelsesmidler der anvendes i Danmark.

V= virus  
B= bakterie  
S= svamp

Anvendelsesmulighederne for de mikrobiologiske bekæmpelsesmidler afhænger af de mikroorganismer, der indgår i produktet. For eksempel kan "Agrovir", som indeholder en virus, kun bruges til bekæmpelse af en enkelt skadevolder, nemlig sommerfuglen Agerugle. Derimod kan produkterne "Bactimos" eller "Vectobac", der in-

deholder bakterien *Bacillus thuringiensis*, bruges til bekæmpelse af flere forskellige men dog beslægtede insekter. Bekæmpelsesmidler, som bruges til bekæmpelse af plantesygdomme, har et bredere anvendelsesområde, da et enkelt produkt ofte kan forhindre sygdomsangreb fra mange forskellige mikroorganismer.



Sporer, A, af svampen *Verticillium lecanii* og hyfer, B, gengivet ved scanning elektron mikroskopi. Den enkelte spore, A, er ca. 0,005 mm lang. (Foto: KVL/José Bresciani & Jørgen Eilenberg).



# Bekæmpelse af skadedyr

Bekæmpelse med *Bacillus thuringiensis*. En sommerfuglelarve æder af et kålblad hvorpå der findes *Bacillus thuringiensis*, A. I larvens tarm, hvor pH er høj, opløses toksinkrystallen. Et enzym spalter nu toksinet i to dele, hvoraf den ene del udgør det toksin som dræber larven, B. Det sker ved at toksinet binder til tarmvæggen og ødelægger den, C. Herefter ophører larven med at æde. Hvis larven ikke dør af sult vil den før eller senere dø af bakteriens vækst i kroppen. Bakteriesporerne vil nemlig spire i larven og brede sig til hele dens krop, D. Der går til fire dage fra at toksinet er blevet ædt til larven dør.

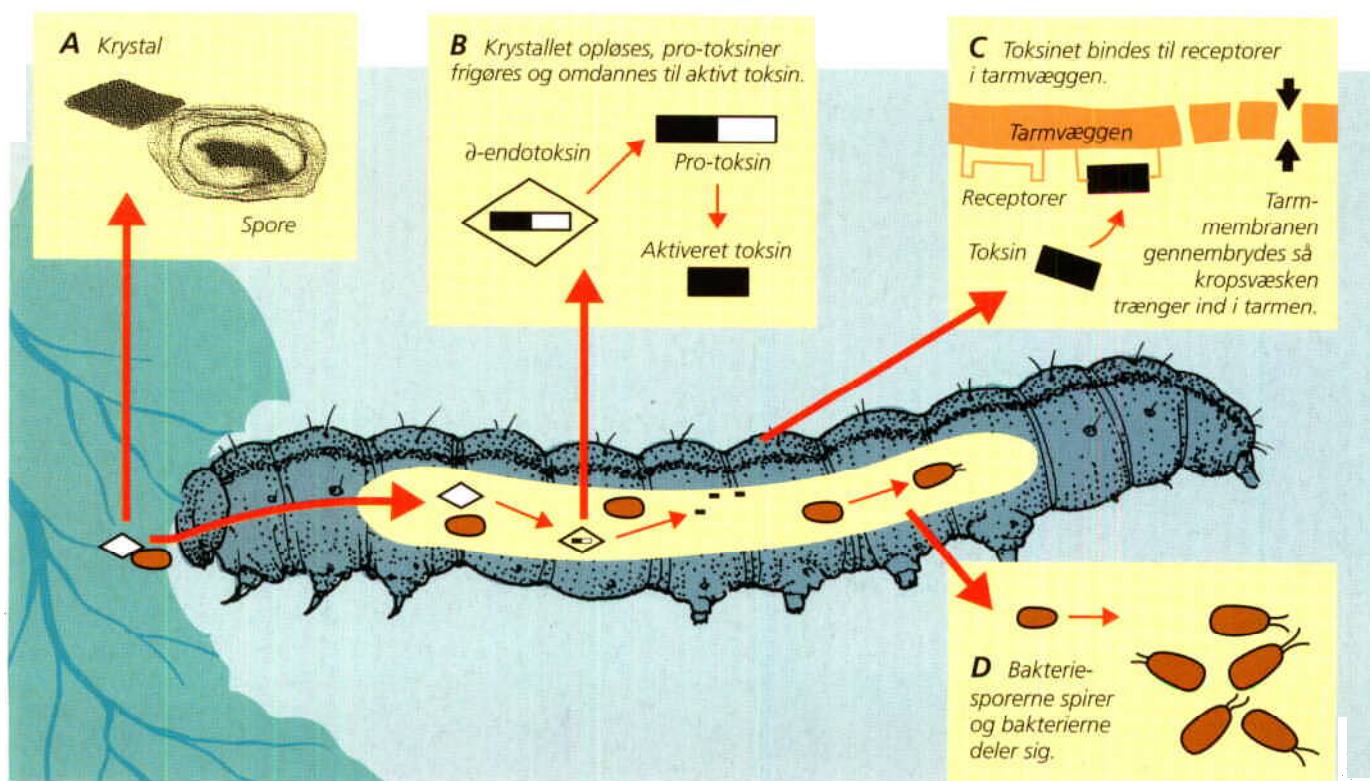
I Danmark er der otte forskellige mikrobiologiske bekæmpelsesmidler, som bruges til bekæmpelse af skadedyr. De anvendes mest i gartnerier.

Fem af produkterne indeholder bakterien *Bacillus thuringiensis* (= Bt), der danner giftstoffet  $\delta$ -endotoksin. De forskellige varianter af Bt, som bruges i bekæmpelsesmidlerne, danner  $\delta$ -endotoksiner, som er virksomme over for sommerfugle-, mygge- eller bille-larver.

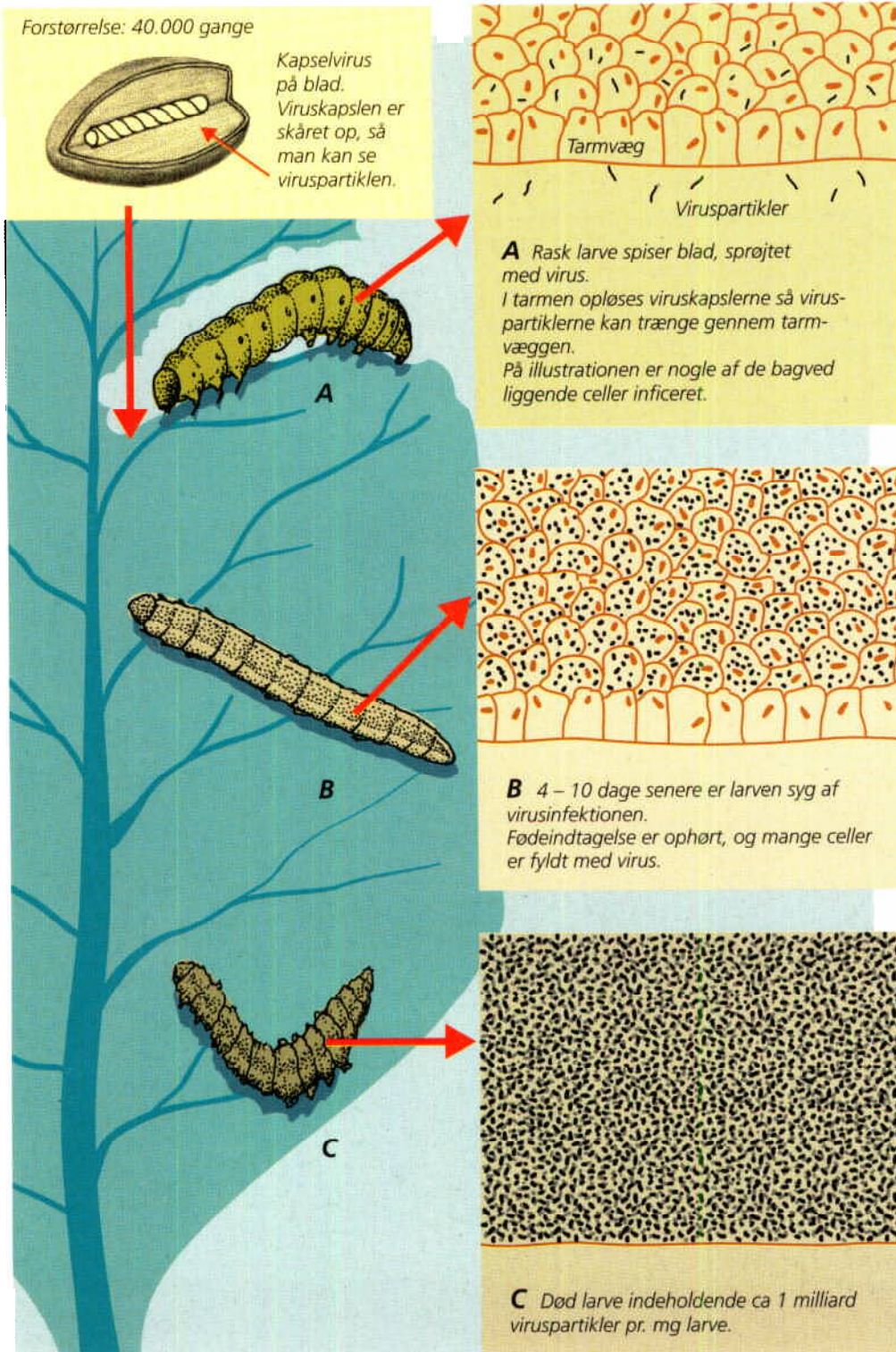
I Danmark anvendes Bt mest til bekæmpelse af sommerfuglelarver på kålplanter og sørgemyg i drivhuse. Udover Bt-produkterne findes der yderligere tre mikro-

biologiske insekt bekæmpelsesmidler på markedet. Det ene indeholder en virus som inficerer larverne fra sommerfuglen Agerugle. Den forvolder hovedsageligt skade på kartofler, gulerødder, rødbeder og porrer.

De to andre bekæmpelsesmidler indeholder begge svampen *Verticillium lecanii* som inficerer bladlus, mellus og trips som ofte er et stort problem på drivhusafgrøder, som agurk og forskellige pottedplanter. *Verticillium lecanii* udskiller enzymet chitinase, som nedbryder insektets hudskelet og gør det muligt for svampen at trænge ind i insektet. Svampen danner her flere forskellige stoffer som er giftige over for insekter og insektet dør derfor i løbet af kort tid.







Bekæmpelse med Ageruglens kapselvirus. Virus inficerer larven via tarmkanalen. Det basiske miljø i tarmkanalen opløser kapslen som omslutter viruset. Herefter trænger viruset igennem tarmvæggen og inficerer larvens celler, specielt det såkaldte "fedtlegeme", som svarer til vores lever. Efter få dage dør larven på grund af en kraftig opformering af virus. En enkelt larve kan tilsidst indeholde adskillige milliarder virus.



# Bekæmpelse af svampesygdomme

I Danmark anvendes der kun fire forskellige mikrobiologiske bekæmpelsesmidler til bekæmpelse af svampesygdomme. Produkterne anvendes i gartnerier, hvor de bruges mod sygdomsangreb på planternes rødder og til beskyttelse af forskellige frugter og grøntsager mod angreb af f.eks. gråskimmel.

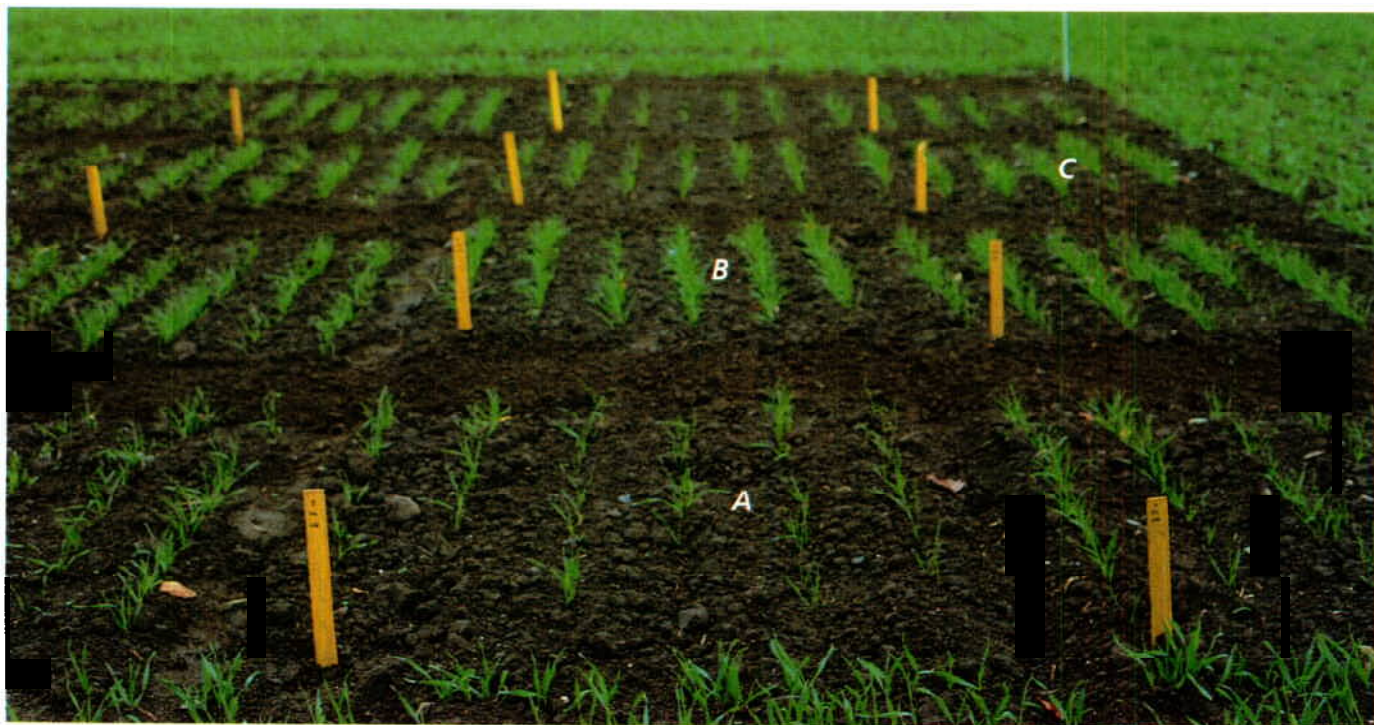
et mikrobiologisk bekæmpelsesmiddel bliver bakterier eller svampe derimod lagt omkring frøet. Når frøet spirer, vokser mikroorganismen med og dækker roden. Mikroorganismen kan nu forhindre de skadelige svampe i at angribe planten. Dette sker, ved at mikroorganismen udskiller stoffer, som nedbryder eller udkonkurrerer de skadelige svampe på planten. Mikroorganismen kan også fremkalde en forsvarsreaktion i selve planten, som gør den modstandsdygtig over for sygdomsangreb.

*Forsøg med vinterhvede angrebet af rodsygdommen spiringsfusariose, som forårsages af svampen *Fusarium culmorum*. Forsøgsparcel A var uden behandling, og B behandlet med den sygdomshæmmende svamp *Gliocladium roseum*. Parcel C blev behandlet med det kemiske bekæmpelsesmiddel Sibutol LS280.*

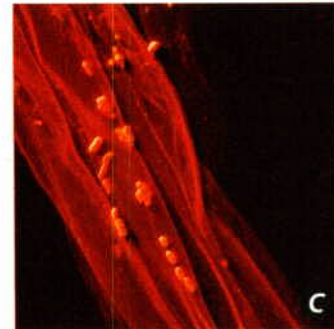
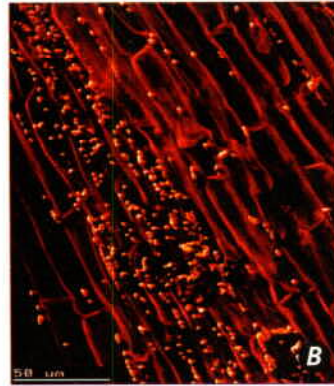
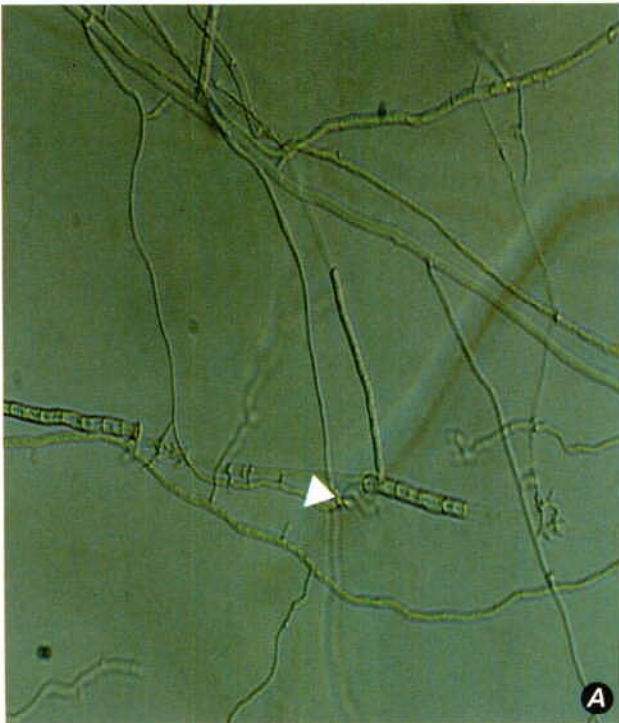
*(Foto: KVL/Inge M. B. Knudsen).*

Specielt inden for midler til bekæmpelse af svampe, som angriber de helt unge planter, forventes der snart en række nye produkter. Disse midler bekæmper sygdomme, som angriber planternes rødder og stængler allerede ved frøets spiring.

Normalt bejdses såsæden med et kemisk bekæmpelsesmiddel for at forhindre sådanne sygdomsangreb. Ved anvendelse af

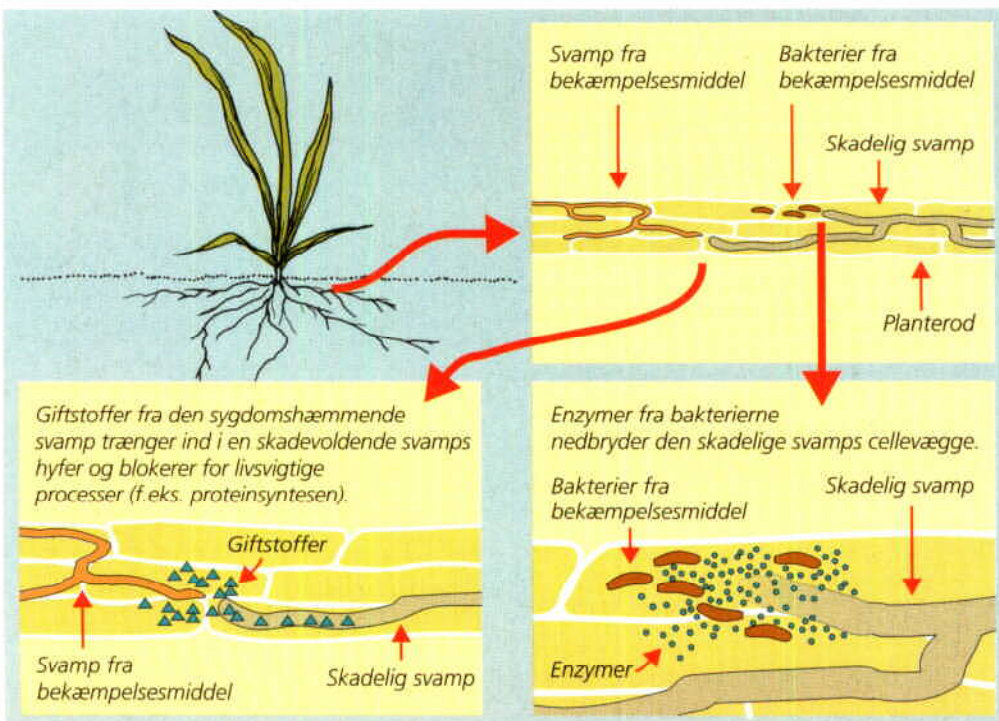






A. Den sygdomshæmmende svamp *Gliocladium roseum* (tynde hyfer) og *Fusarium culmorum* (kraftige hyfer), der forårsager rotsygdommen spiringsfusariose hos hvede. Hvor svampehyferne er i direkte kontakt (f. eks. ved pilen) opløses cellevæggen hos *F. culmorum* på grund af giftstoffet gliotoksin og enzymer som dannes af *Gliocladium roseum*.  
(Foto: KVL/Inge M. B. Knudsen).

B og C. Bakterier med sygdomshæmmende egenskaber ses på overfladen af bygrødder, B. Bakterierne ses oftest i overgangene mellem rodcellerne, C, hvor de kan beskytte plantevævet mod angreb fra skadelige svampe og bakterier.  
(Foto: KVL/Michael Hansen).



Eksempler på virkningen af de mikrobiologiske bekæmpelsesmidler over for svampe som angriber planterødder. Mikroorganismene i bekæmpelsesmidlet producerer giftstoffer som standser livsvigtige processer i de skadelige svampe. Derudover dannes der ofte enzymer som kan nedbryde svampens cellevægge. Ofte skyldes effekten af et mikrobiologisk bekæmpelsesmiddel en kombination af disse to virkemåder.

# Gensplejsede mikroorganismer i bekæmpelsesmidlerne

Forskerne kan udvikle mikrobiologiske bekæmpelsesmidler med nye eller forbedrede egenskaber ved at bruge gensplejsning. Det sker ved at overføre et eller flere gener fra andre organismer til de bakterier, svampe eller vira, som ønskes anvendt i et bekæmpelsesmiddel. Metoden bruges til at gøre mikroorganismen i produktet mere effektiv.

Inden for bekæmpelse af skadedyr er gensplejsning især blevet brugt til udvikling af nye produkter, som indeholder bakterien *Bacillus thuringiensis*. Her har man i nogle *Bt*-produkter indsat  $\delta$ -endotoksin gener, som gør bakterien i stand til at producere et mere effektivt  $\delta$ -endotoksin. I andre produkter er der blevet indsat flere forskellige  $\delta$ -endotoksin gener i bakterien. Da bakterien nu kan danne flere forskellige  $\delta$ -endotoksiner, kan bekæmpelsesmidlet anvendes over for mange forskellige slags insekter. Derudover vil produktionen af forskellige  $\delta$ -endotoksiner også kunne forsinke en resistensudvikling hos skadedyrene over for bekæmpelsesmidlet.

$\delta$ -endotoksin gener er også blevet indsat i helt andre bakterier som f.eks. *Pseudomonas fluorescens* og *Clavibacter xyli*, der ikke naturligt danner den type toksiner. *Pseudomonas fluorescens* er blevet valgt, fordi den overlever godt i jord og derfor kan bruges til at bekæmpe skadelige insekter, som hovedsagligt findes i jorden. *Clavibacter xyli* kan derimod leve inden i planter. Derved medvirker planten selv til at fordele bakterien og dermed  $\delta$ -endotoksinet til de plantede, som angribes af skadedyret.

Der er også blevet anvendt gensplejsning i forsøg på at udvikle mere virksomme produkter til bekæmpelse af plantesygdomme. F.eks. har man i *Pseudomonas fluorescens* bakterier indsat gener for at effektivisere bekæmpelsen. Generne koder enten for bestemte giftstoffer eller enzymer, som kan nedbryde cellevæggen hos de skadelige svampe.

I Danmark anvendes der endnu ikke gensplejsede mikroorganismer i bekæmpelsesmidler, hvorimod der i USA er fem forskellige produkter på markedet.

## Resistensudvikling forårsaget af *Bacillus thuringiensis*

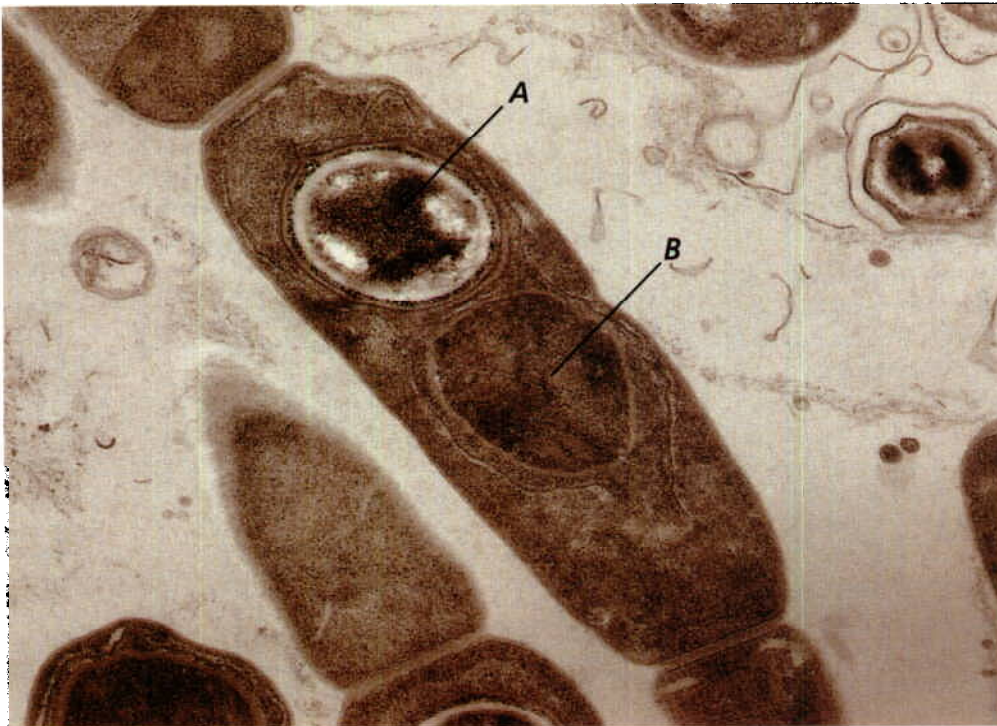
Ved ofte og ensidig brug af et bekæmpelsesmiddel er der risiko for at skadedyret udvikler resistens mod bekæmpelsesmidlet.

Resistensudviklingen har i mange år været et stort problem for anvendelsen af de kemiske bekæmpelsesmidler. Det er for nyligt konstateret, at resistensudvikling også kan forekom-

me i forbindelse med anvendelse af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler.

Fra de lande, hvor bakterien *Bacillus thuringiensis* har været hyppigt anvendt til bekæmpelse af insektangreb er der flere eksempler på udvikling af resistens overfor de  $\delta$ -endotoksiner, som er aktive i det mikrobiologiske bekæmpelsesmiddel.





Billede af *Bacillus thuringiensis* forstørret ca. 15.000 gange ved hjælp af transmissionselektronmikroskopi.

A: Spore.

B:  $\delta$ -endotoksin krystal.

(Foto: KVL/José Bresciani & Per Damgaard).



Stankelbenslarve, som lever i jorden, hvor den kan bekæmpes med jordbakterien *Pseudomonas fluorescens*, som har fået indsat et  $\delta$ -endotoksingen fra *Bacillus thuringiensis* ved gensplejsning.

(Foto: KVL/Holger Philipsen).



# Miljømæssige risici

Mikrobiologiske bekæmpelsesmidler anvendes ligesom de kemiske bekæmpelsesmidler med det formål at bekæmpe skadelige insekter og plantesygdomme. De miljømæssige risici ved anvendelse af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler afhænger af, om organismer, der ikke er grund til at bekæmpe, påvirkes.

Anvendelse af et mikrobiologisk bekæmpelsesmiddel kan resultere i en utilsigtet effekt på miljøet ved at mikroorganismen:

- Udkonkurrerer andre mikroorganismer.
- Producerer giftstoffer eller enzymer, der dræber eller hæmmer andre organismer end skadevolderne.

- Fremkalder sygdom hos dyr eller planter, som ikke er skadevoldere.
- Påvirker dyr ved at ændre deres fødegrundlag
- Påvirker omsætningen af organisk materiale og næringssalte i jorden.

Hvis der indgår en gensplejset mikroorganisme i det mikrobiologiske bekæmpelsesmiddel, skal man i en vurdering af risici også tage højde for, om de indsatte gener giver mikroorganismen en utilsigtet konkurrencemæssig fordel i miljøet, og om generne kan overføres til andre mikroorganismer.

*Forsøgsmark med kålplanter sprøjtet med *Bacillus thuringiensis*.  
(Foto: DMU/Bjarne Munk Hansen).*





A



B



C

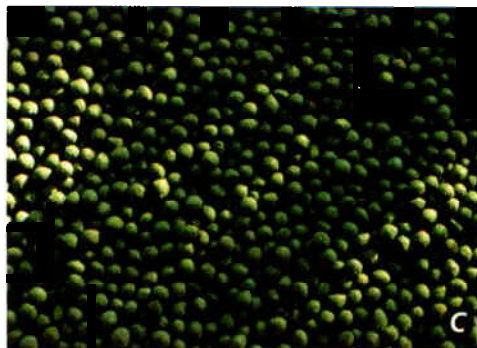
Anlæg i blomstergartneri anvendt til spredning af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler: Supresivit og Bactimos. Den første behandling sker umiddelbart efter såning af frøene, A og B, og gentages efter fremspiring af kimplanterne, C. For at sikre en optimal behandling anvendes de mikrobiologiske bekæmpelsesmidler sammen med andre biologiske bekæmpelsesmidler som består af parasitiske rundorme. Brugen af mikrobiologiske frem for kemiske bekæmpelsesmidler gør det muligt for personalet at håndtere planterne kort tid efter behandlingen er ophørt. (Foto: DMU/Svend Binnerup).



### Effekter på andre organismer i miljøet

Man har i dag kun lidt kendskab til, i hvilket omfang de mikrobiologiske bekæmpelsesmidler påvirker organismer, der ikke er et mål for bekæmpelsen. Der kan f.eks. være risiko for, at et mikrobiologisk bekæmpelsesmiddel vil hæmme de naturligt forekommende sygdomshæmmende mikroorganismer eller stimulere forekomsten af andre skadevoldere. Endvidere vil der være

en risiko for at de mikrobiologiske bekæmpelsesmidler kan påvirke dyrene i økosystemet, enten direkte ved at skade dem eller indirekte ved at forårsage ændringer i deres fødegrundlag. Endelig er der risiko for, at mikroorganismer, som indgår i bekæmpelsesmidler, selv optræder som skadevoldere på andre planter end de afgrøder hvorpå de anvendes. Der findes ikke, som for de kemiske bekæmpelsesmidlers vedkommende, en række gennemprøvede metoder til at undersøge de mikrobiologiske



Bejdsning af sukkerroefrø, A, med mikrobiologiske bekæmpelsesmidler. Først dækkes frøene med en pilleringsmasse bestående af træmel eller sphagnum, B. Denne iblandes bakterieceller eller svampemateriale enten som sporer eller som aktive celler.

Pilleringsmassen kan også tilsættes næringsstoffer som både fremmer væksten af mikroorganismene i bekæmpelsesmidlet og kimplanten, D. Tilsidst dækkes pilleringsmassen med et materiale som bl.a. gør frøet glat, C. Dette yderste lag kan eventuelt tilsættes kemiske midler som supplement til det mikrobiologiske bekæmpelsesmiddel.

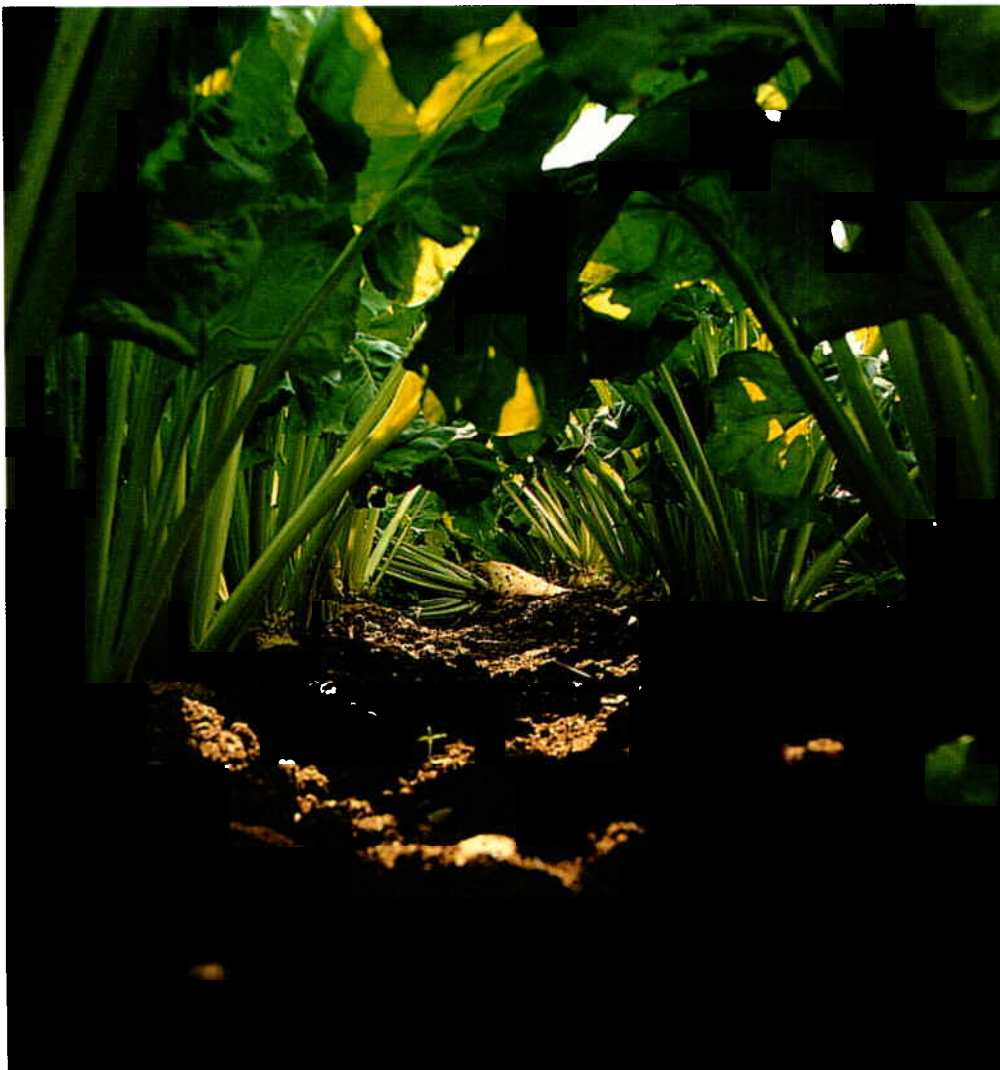
(Foto: Danisco Seed).



bekæmpelsesmidlers effekter i miljøet. Hvilken effekt man må forvente på andre organismer end målgruppen vil afhænge af, hvor specifikt bekæmpelsesmidlet virker. De mikrobiologiske midler til bekæmpelse af insektangreb har f.eks. kun en effekt over for insekter, som er nært beslægtede med skadedyret, mens midlerne til bekæmpelse af svampeangreb er bredt virkende. De kan derfor også have en effekt på andre svampe og bakterier end de, der var målet for bekæmpelsen.

Forskellen ligger i virkemåden. Insektbekæmpelsen sker ved hjælp af mikroorganismer som kun kan inficere relativt få insekter, eller som danner giftstoffer, der kun har virkning over for et begrænset antal insekter.

Svampebekæmpelsen sker derimod ved hjælp af mikroorganismer, som danner giftstoffer eller enzymer, som kan have en effekt over for mange forskellige organismer i miljøet. På trods af dette viser flere forsøg



*Sukkerroe planter på forsøgsmark.  
(Foto: Danisco Seed).*

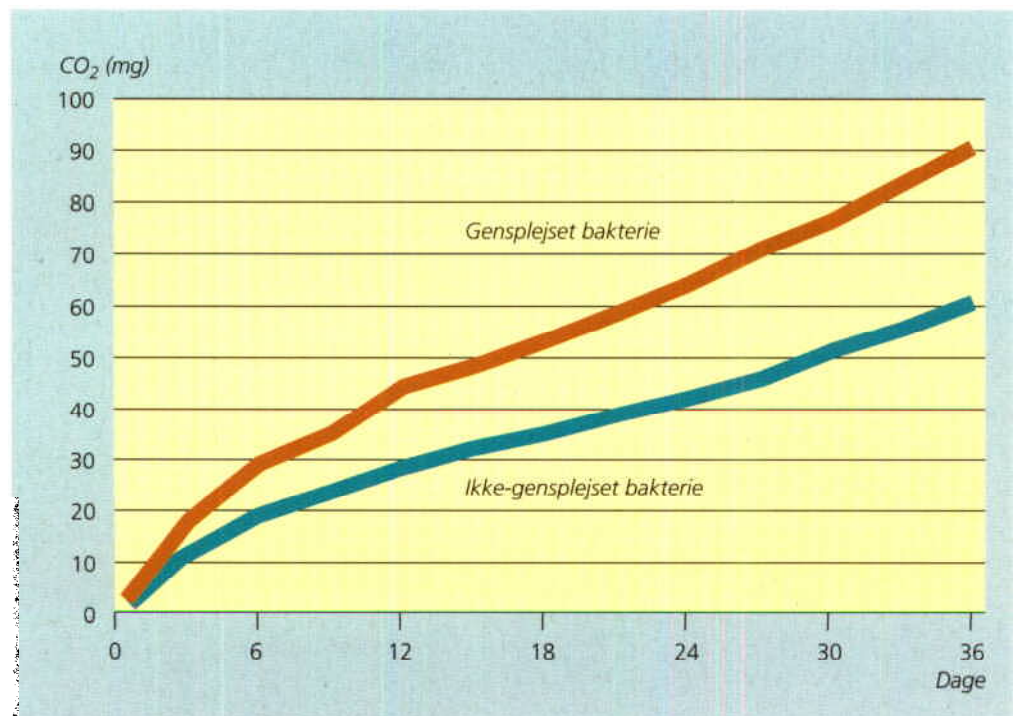
bl.a. med jordbakterien *Pseudomonas fluorescens*, at en effekt på andre mikroorganismer er kortvarig - typisk mindre end 10-15 dage. Den største effekt blev målt som et fald i antallet af de *Pseudomonas fluorescens* bakterier, som fandtes naturligt i jorden, formentlig fordi disse udkonkurreres af bakterierne fra bekæmpelsesmidlet. Derudover blev der i løbet af de 15 dage set en nedgang i mikroorganismernes artsrigdom.

Selvom effekten på andre mikroorganismer synes at være kortvarig, vil den dog være afhængig af både jordens struktur, indholdet af næringsstoffer og vejret. Disse forhold vil både påvirke spredningen og overlevelsen af mikroorganismene fra bekæmpelsesmidlet og indvirke på evnen hos mikroorganismene i miljøet til at modstå effekterne fra det mikrobiologiske bekæmpelsesmiddel.

### Forsøg med gensplejsning

Bakterien *Streptomyces lividans* er blevet gensplejset så den er bedre til at nedbryde træstoffet lignin. Figuren viser, at den gensplejsede mikroorganisme forøger nedbrydningen af det organiske materiale i forhold til den ikke gensplejsede mikroorganisme.

Forsøgene er blevet gennemført i en laboratorie-model, hvor der til en naturlig jord blev tilsat findelt træ. Den forøgede aktivitet skyldes, at den gensplejsede bakterie nedbryder ligninen i det tilsatte træ, og på den måde frigør cellulose i træet, som så bliver nedbrudt af de naturlige mikroorganismer i jorden.



Tilstedeværelse af en ekstra egenskab i den gensplejsede bakterie kan påvirke nedbrydning af organisk materiale, udtrykt som ophobet dannelse af kuldioxid som funktion af tiden (se tekstboks ovenfor).

## Effekter på økosystemniveau

Langt de fleste af de mikroorganismer, man kender, er udbredt over hele jorden og kan findes i mange forskellige økosystemer. Derfor er mange af de mikroorganismer, der indgår eller kommer til at indgå i mikrobiologiske bekæmpelsesmidler, også almindeligt udbredt i Danmark. Risikoen for at der tilføres miljøet mikroorganismer med egenskaber, som ikke allerede er tilstede, er derfor lille.

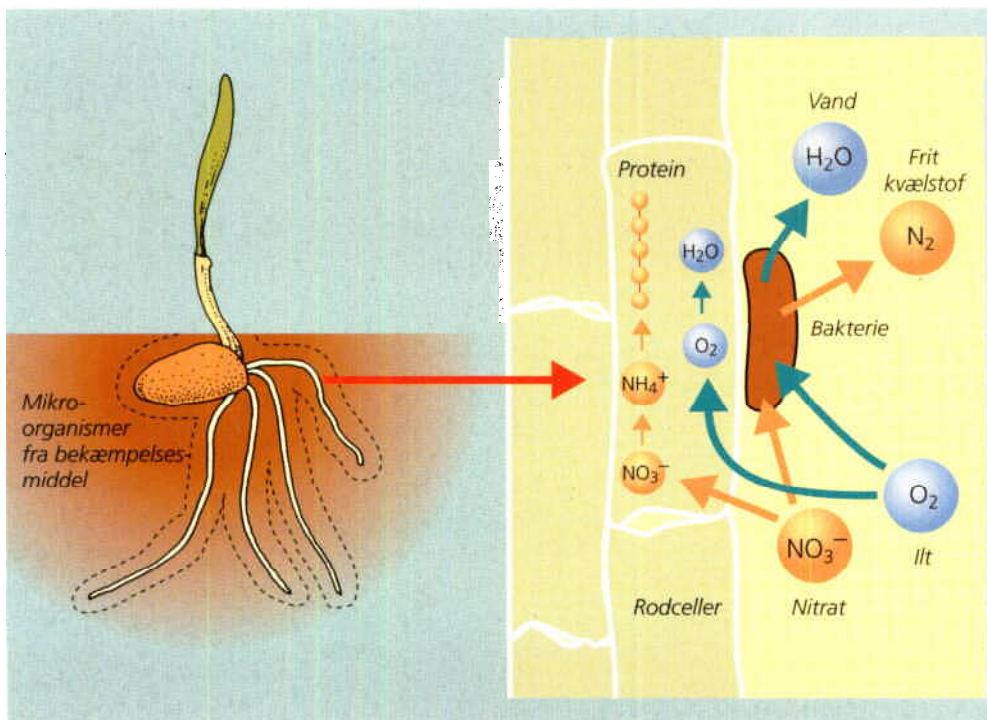
Ved anvendelse af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler tilføres miljøet lokalt en stor mængde mikroorganismer sammenlignet med det antal aktive mikroorganismer, som normalt findes i jorden.

Selvom mikroorganismen fra et bekæmpelsesmiddel allerede findes i naturen, kan en koncentreret forekomst godt påvirke vilkårene for de naturligt forekommende mikroorganismer. Således kan

nedbrydningen af planterester eller andet organisk materiale blive påvirket. Dette forhold kan også have en effekt på mængden og omsætningen af de næringssalte, som udnyttes af planterne.

Nogle mikroorganismer, der indgår i mikrobiologiske bekæmpelsesmidler, kan også selv deltage i nedbrydningsprocesserne. Derfor kan deres tilstedeværelse forøge omsætningen af planterester eller næringssalte lokalt i jorden.

Der findes kun ganske få undersøgelser, der belyser disse sammenhænge for mikrobiologiske bekæmpelsesmidler, men erfaring med andre typer af mikroorganismer viser, at sådanne effekter oftest vil være kortvarige.



Et stort antal mikroorganismer fra det mikrobiologiske bekæmpelsesmiddel omkring frøet og planterødderne kan betyde et stort iltforbrug og dermed iltmangel. Under disse betingelser bruger nogle bakterier gædningsstoffet nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) i stedet for ilt og omdanner derved nitrat til frit kvælstof ( $\text{N}_2$ ), som ikke kan udnyttes af planten.



### Overlevelse af mikroorganismer fra bekæmpelsesmidler i miljøet

Et vigtigt risikoaspekt ved anvendelse af de mikrobiologiske bekæmpelsesmidler er overlevelsesmulighederne for de mikroorganismer, som derved spredes i miljøet. Overlevelsen afhænger både af mikroorganismernes egenskaber og af de forhold, de anvendes under.

Normalt overlever udsatte mikroorganismer dårligt i naturen. Få uger efter anvendelsen vil antallet typisk være mindre end 0,1% af den mængde af organismer, der blev spredt i miljøet, og ofte er der så få, at de ikke længere kan påvises. Dette skyldes bl.a., at mikroorganismene ædes af encellede dyr, som flagellater og amøber, eller dør på grund af sult eller andre former for stress forårsaget af f.eks. udtørring

eller solens UV-stråler. Overlevelsesmulighederne kan dog variere over meget korte afstande i jorden. Langs planterødder, hvor der findes rigeligt med næring, vil mikroorganismene f.eks. kunne overleve væsentligt bedre end i den øvrige jord.

Nogle mikroorganismer kan gå ind i en dvaletilstand, som sætter dem i stand til at overleve i mange år, hvis de sultes eller stresses.

I mange mikrobiologiske bekæmpelsesmidler er mikroorganismene fra starten bragt i en dvaletilstand netop for at forlænge holdbarheden af produktet. Det er usikkert om mikroorganismer i en dvaletilstand kan genvinde deres aktivitet længe efter, at de er blevet anvendt som et bekæmpelsesmiddel.

*Bacillus thuringiensis (Bt) overlevelse i en kålmark. Ved dag 0 blev marken sprøjtet med Bt og overlevelsen blev fulgt på kålbladene og i jorden. Det ses, at antallet på kålbladene i løbet af 10 døgn er faldet ca. 10.000 gange. I jorden er reduktionen kun 10 gange i løbet af et år, fordi de er i en dvaletilstand (sporer).*





**A** DNA isoleret fra miljøet bindes på et filter.

**B** DNA (stærkt forstørret) opvarmes, så DNA-strengen åbnes.

**C** DNA-probe med farvestof tilsættes.

**D** DNA-proben sætter sig overfor komplementære baser og afslører forekomsten af DNA som er karakteristisk for organismen i det mikrobiologiske bekæmpelsesmiddel.

Mikroorganismer fra mikrobiologiske bekæmpelsesmidler kan spores i miljøet ved hjælp af metoder som enten afslører genetiske egenskaber eller forekomsten af bestemte cellevægsbestanddele, som er karakteristiske for mikroorganismen.

Ud fra kendskab til DNA-koden for mikroorganismen kan der laves kunstige DNA stykker (DNA-prober) som passer til steder på DNA-strengen som er unikke for mikroorganismen i bekæmpelsesmidlet.

DNA-proben er mærket således, at det kan ses, D, hvis den binder til DNA, som forinden er isoleret fra organismer i miljøet, A. Da DNA-proben kun binder til DNA fra organismen i bekæmpelsesmidlet ses kun et signal hvis denne er tilstede i prøven.

**A** Bakterier fra en prøve overført til filter bades med en opløsning med antistof som genkender mikroorganismen i det anvendte bekæmpelsesmiddel.

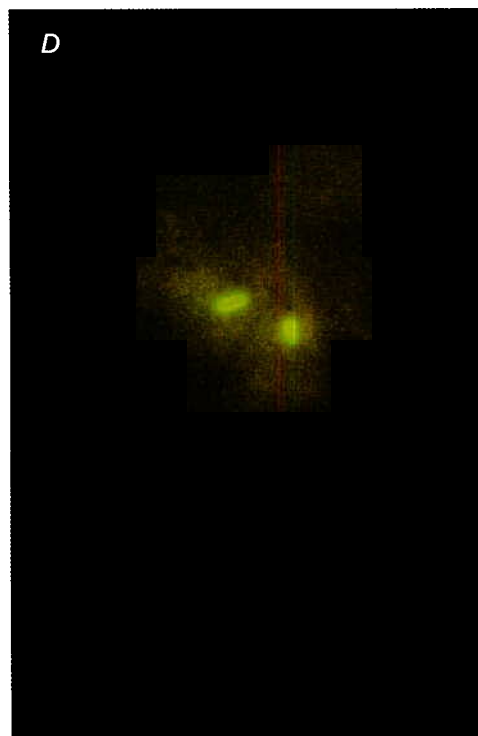
**B** Antistoffet er mærket med et fluorescerende farvestof.

Antistof

Fluorescerende farvestof

Bakterier

**C** Antistoffet binder kun til bakterier fra bekæmpelsesmidlet som herefter kan ses f.eks. ved mikroskopi.



Ved hjælp af antistoffer kan man genkende en bestemt mikroorganisme ud fra cellevæggenes opbygning.

Antistoffet oprenses fra serum efter at være blevet dannet i f.eks. en kanin der har fået indsprøjet mikroorganismen i blodbanen. Antistoffet binder til proteiner eller sukermolekyler som sidder i cellevæggen og som er karakteristiske for mikroorganismen. Antistoffet kan mærkes med et fluorescerende farvestof. Derved kan de bakterier som antistoffet genkender ses ved hjælp af mikroskopi, D.

(Foto: Forstørrelse ca 1000 gange. DMU/Anne Winding).

# Hvad siger loven ?

Mikrobiologiske bekæmpelsesmidler er omfattet af lov om kemiske stoffer og produkter (Lov nr. 1067 af 23. december 1992 om ændring af lov om kemiske stoffer og produkter). De nærmere regler er fastsat i Miljøministeriets bekendtgørelse nr. 584 af 9. juli 1993 om bekæmpelsesmidler. Den danske lovgivning tager udgangspunkt i et EU direktiv om markedsføring af bekæmpelsesmidler (direktiv 91/414 EØF).

Et bekæmpelsesmiddel kan kun blive godkendt, hvis det opfylder følgende betingelser:

- Er tilstrækkeligt effektivt
- Ikke har uacceptable virkninger på planter eller på miljøet
- Ikke har skadelig virkning på dyr
- Ikke påvirker menneskers sundhed
- Ikke påvirker grundvandet

Godkendelse af et nyt produkt sker både centralt i EU og hos de danske miljømyndigheder. Det første trin i godkendelsen af et bekæmpelsesmiddel er en optagelse af den anvendte mikroorganisme på en EU-

positivliste. I forbindelse med en ansøgning om optagelse på positivlisten kræves der en række konkrete oplysninger om mikroorganismen, som f.eks. dens identitet, biologiske egenskaber, sygdomsfremkaldende egenskaber samt overlevelse og effekter i miljøet. Disse krav er nærmere beskrevet i bekendtgørelsen om plantebeskyttelsesmidler og i Miljøstyrelsens vejledning nr. 8 1993 om mikrobiologiske plantebeskyttelsesmidler.

Med udgangspunkt i oplysningerne foretager Miljøstyrelsen en risikovurdering, der skal sikre, at mikroorganismen lever op til lovens krav. Herefter kan den indstilles til optagelse på positivlisten.

Miljømyndighederne i de øvrige EU-medlemslande gennemgår samtidig den indsendte dokumentation. Når en mikroorganisme er optaget på positivlisten, kan de enkelte lande i EU så vurdere, om de vil godkende produkter, der indeholder den pågældende mikroorganisme.

Der er endnu ikke optaget nogen mikroorganismer på EU's positivliste, og der er heller ikke indkommet ansøgninger herom. På EU-niveau er der dog fire ansøgninger under behandling i Danmark. De mikrobiologiske bekæmpelsesmidler, som findes på markedet i dag, er omfattet af en undtagelse fra loven. Denne undtagelse tillader brug af midler, der blev anvendt før lovens ikrafttræden under betingelse af at der er blevet indsendt en ansøgning om national godkendelse.

Gensplejsede midler er omfattet af loven om miljø og genteknologi (Lov nr. 356 af 6. juni 1991). Denne lov skal sikre, at anvendelse af



Produkter med mikrobiologiske bekæmpelsesmidler, der bliver anvendt i danske gartnerier.  
Foto: DMU/Svend Binnerup

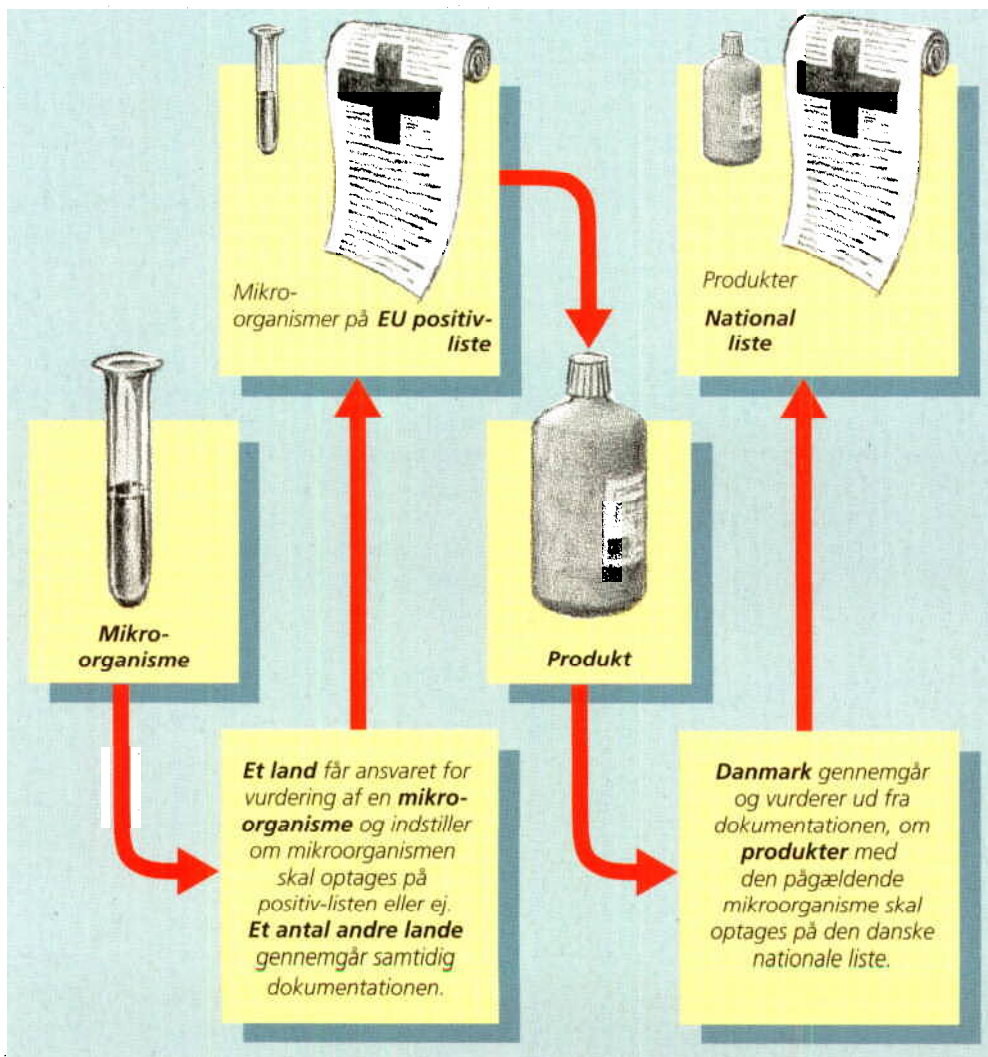


genteknologi kan ske på et samfundsmæssigt forsvarligt grundlag, som respekterer menneskers livsvilkår og sikrer et uforstyrret dyre- og planteliv.

Lovens afsnit om udsætning af gensplejsede organismer er en gennemførelse af et EU-direktiv om udsætning af genetisk modificerede organismer til miljøet (90/220/EØF). Denne lovgivning indebærer en fælles EU godkendelsesordning. Den betyder, at godkendelse af et produkt til markedsføring i et EU-land automatisk medfører, at produk-

tet også kan markedsføres i de øvrige EU-lande. Derfor involverer godkendelsesproceduren alle EU-medlemslandene.

Der er endnu ikke godkendt nogen gensplejsede mikrobiologiske bekæmpelsesmidler i EU. Det ser heller ikke ud til, at sådanne produkter vil blive markedsført inden for den nærmeste fremtid.



Godkendelsesprocedure i EU og i Danmark for nye mikrobiologiske bekæmpelsesmidler.

Anvendelse af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler har hidtil været begrænset til nogle få afgrøder. Det skyldes, at effektiviteten ved anvendelse af de mikrobiologiske bekæmpelsesmidler har været varierende, bl.a. fordi vejret kan påvirke mikroorganismernes aktivitet og dermed deres effektivitet. Desuden er det enkelte mikrobiologiske bekæmpelsesmiddels specificitet ofte stor, hvilket betyder, at anvendelsesmulighederne typisk er begrænset til ganske få afgrøder og skadevoldere.

Den stigende interesse for brug af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler hænger sammen med tiltagende problemer med de kemiske bekæmpelsesmidler i form af uønskede virkninger på miljø og sundhed. Derfor vil vi fremover se nye mikrobiologiske

bekæmpelsesmidler på markedet. De vil især finde anvendelse i grønsags- og blomstergartnerier, hvor de allerede bruges med succes.

I landbruget, hvor det største forbrug af kemiske bekæmpelsesmidler forekommer, bruges der endnu ikke mikrobiologiske bekæmpelsesmidler. Selvom der snart vil være udviklet midler til bejdsning af såsæden, vil det dog ikke medføre en mærkbar reduktion i brugen af de kemiske bekæmpelsesmidler. Dette skyldes bl.a. at den største andel af de kemiske bekæmpelsesmidler bruges i ukrudtsbekæmpelsen, hvortil der endnu ikke er fundet svampe eller bakterier som kan bruges til en mikrobiologisk bekæmpelse.

Den nuværende viden om såvel de sundheds- og miljømæssige risici ved brug af de mikrobiologiske bekæmpelsesmidler er stadig begrænset. Derfor forskes der idag med henblik på at kunne vurdere omfanget af de uønskede effekter, som kan være knyttet til anvendelsen af de mikrobiologiske bekæmpelsesmidler, så en fornuftig anvendelse af disse midler kan sikres i fremover.



*I laboratoriet kan arter og sammensætning af bakterier og svampe fra plantemateriale opgøres efter dyrkning på forskellige næringssubstrater.  
(Fotos: Klaus Holsting).*



# Sammendrag

Mikrobiologisk bekæmpelse af skadevoldere vil fremover blive et vigtigt alternativ til den kemiske bekæmpelse. I Danmark findes der i dag 12 forskellige mikrobiologiske bekæmpelsesmidler. De fleste bruges til bekæmpelse af skadedyr eller sygdomme i drivhuse. I de kommende år ventes det, at nye produkter vil komme på markedet, og at de vil komme til at indgå i den almindelige drift af landbrug og gartnerier. Brugen af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler udgør dog i dag stadig mindre end 1 procent af det samlede forbrug af bekæmpelsesmidler.

De mikrobiologiske bekæmpelsesmidler indeholder bakterier, svampe eller virus. Midlerne er virksomme til bekæmpelse af skadevoldere, fordi mikroorganismene hæmmer eller dræber skadevolderne. Virkemåden for bekæmpelsesmidlerne er helt afhængig af den enkelte mikroorganismes egenskaber.

Der foregår i dag en betydelig forskning, der sigter mod udvikling af nye mikrobiologiske midler til bekæmpelse af skadedyr og plantesygdomme i gartnerier, frugtavl og landbrug. I denne forskning bruges bl.a.

gensplejsning for at udvikle mere effektive mikrobiologiske bekæmpelsesmidler.

Man kender kun lidt til de miljømæssige risici ved anvendelse af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler. Teoretisk kan anvendelse af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler have en utilsigtet effekt på miljøet, fordi mikroorganismene i bekæmpelsesmidlet kan:

- Udkonkurrere andre mikroorganismer.
- Producere giftstoffer eller enzymer, der dræber eller hæmmer andre organismer end skadevolderne.
- Have egenskaber, der fremkalder sygdom hos dyr eller planter, som ikke er skadevoldere.
- Påvirke dyr ved at ændre deres fødegrundlag.
- Påvirke omsætningen af organisk materiale og næringssalte i jorden.

Det er vigtigt at få belyst de miljømæssige risici ved anvendelse af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler. Derfor er en fortsat forskningsindsats, der belyser effekterne i miljøet, helt nødvendig for at sikre en miljømæssig fornuftig anvendelse af midlerne i fremtiden.

---

Biologisk og mikrobiologisk bekæmpelse af skadevoldere (1997). Strukturdirektoratet, Ministeriet for Fødevarer, Landbrug og Fiskeri.

*Folker-Hansen, P., Pedersen, J.C., Kroer, N., Hendriksen, N.B. & Hansen, B.M. (1993). Miljø-mæssig vurdering af mikrobiologiske plantebeskyttelsesmidler. Miljøprojekt nr. 224, Miljøstyrelsen.*

*Hansen, B.M., Damgaard, P.H., Eilenberg, J. & Pedersen, J.C. (1996). Bacillus thuringiensis. Ecology and environmental effects of its use for microbial pest control. Miljøprojekt nr. 316, Miljøstyrelsen.*

*Knudsen, I.M.B. (1995). Biologisk bejdsning - mod udsædsbårne sygdomme. Landbo-nyt 4, 22-24.*

*Larsen, E.W. (1996). Planteværn i landbruget. Forlaget Næsgaard.*

*Metting, F.B.Jr. (1993). Soil Microbial Ecology. Applications in Agricultural and Environmental Management. Marcel Dekker, Inc.*

*Nybroe, O., Rasmussen, O.F. & Christoffersen, K. (1992). Nye metoder til påvisning af bakterier i vandmiljøet. Vand og Miljø 4, 121-124.*

*Nybroe, O. & Sørensen, J. (1992). Bakteriesamfundet på planternes rødder. Naturens verden, 252-256.*

*Sørensen, J., Jakobsen, I. & Nybroe, O. (1994). Om samspillet mellem bakterier, mikrosvampe og planterødder. Naturens verden, 364-370.*

*Tanada, Y. & Kaya, H.K. (1993). Insect Pathology. Academic Press.*



## Danmarks Miljøundersøgelser

Danmarks Miljøundersøgelser - DMU - er en forskningsinstitution i Miljø- og Energiministeriet. DMU's opgaver omfatter forskning, overvågning og faglig rådgivning inden for natur og miljø.

Henvendelser kan rettes til:

URL: <http://www.dmu.dk>

Danmarks Miljøundersøgelser

Postboks 358

Frederiksborgvej 399

4000 Roskilde

Tlf. 4630 1200

Fax 4630 1114

*Direktion og Sekretariat*

*Forsknings- og Udviklingssektion*

*Afd. for Systemanalyse*

*Afd. for Atmosfærisk Miljø*

*Afd. for Miljökemi*

*Afd. for Havmiljø og Mikrobiologi*

Danmarks Miljøundersøgelser

Postboks 314

Vejlsøvej 25

8600 Silkeborg

Tlf. 8920 1400

Fax 8920 1414

*Afd. for Terrestrisk Økologi*

*Afd. for Sø- og Fjordøkologi*

*Afd. for Vandløbsøkologi*

Danmarks Miljøundersøgelser

Grenåvej 12, Kalø

8410 Rønne

Tlf. 8920 1700

Fax 8920 1514

*Afd. for Landskabsøkologi*

*Afd. for Kystzoneøkologi*

Danmarks Miljøundersøgelser

Tagensvej 135,4.

2200 København

Tlf. 3582 1415

Fax 3582 1420

*Afd. for Arktisk Miljø*

### *Publikationer:*

*DMU udgiver temarapporter, faglige rapporter, arbejdsrapporter, tekniske anvisninger, årsberetninger samt et kvartalsvis nyhedsbrev, DMU Nyt.*

*Et katalog over DMU's aktuelle forsknings- og udviklingsprojekter er tilgængeligt via World Wide Web.*

*I årsberetningen findes en oversigt over årets publikationer.*

*Årsberetning og DMU Nyt fås gratis ved henvendelse på telefon 46 30 12 00.*

## Tidligere TEMA-rapporter fra DMU:

- |            |  |             |   |
|------------|--|-------------|---|
| Nr. 1/1994 | Kvælstoftilførsel til Limfjorden<br><i>Brian Kronvang m.fl.</i><br>16 sider, kr. 50,-                        | Nr. 8/1996  | Anskudning af vildt<br><i>Henning Noer m.fl.</i><br>52 sider, kr. 80,-                                    |
| Nr. 2/1994 | Luftforurening i danske byer<br><i>Kåre Kemp og Finn Palmgren Jensen, 41 sider, kr. 100,-</i>                | Nr. 9/1996  | Kvælstofbelastning af havmiljøet<br><i>Henrik Paaby og Flemming Møhlenberg, 40 sider, kr. 60,-</i>        |
| Nr. 3/1995 | Ozon som luftforurening<br><i>Jes Fenger, 48 sider, kr. 80,-</i>   | Nr. 10/1996 | Havets usynlige liv<br><i>Åke Hagström m.fl.</i><br>33 sider, kr. 50,-                                    |
| Nr. 4/1996 | Tungmetaller i danske jorder<br><i>John Jensen m.fl.</i><br>40 sider, kr. 100,-                              | Nr. 11/1997 | En atmosfære med voksende problemer...<br><i>Jes Fenger,</i><br>64 sider, kr. 90,-                        |
| Nr. 5/1996 | Forureningsbekæmpelse med mikroorganismer<br><i>Ulrich Karlson m.fl.</i><br>32 sider, kr. 30,-               | Nr. 12/1997 | Reservatnetværk for vandfugle<br><i>Preben Clausen m.fl.</i><br>52 sider, kr. 80,-                        |
| Nr. 6/1996 | Status og jagttider for danske vildtarter<br><i>Jesper Madsen m.fl.</i><br>112 sider, kr. 110,-              | Nr. 13/1997 | Næringsstoffer - arealanvendelse og naturgenopretning<br><i>Brian Kronvang m.fl.</i><br>40 sider, kr. 60. |
| Nr. 7/1996 | Naturens tålegrænser for luftforurening<br><i>Morten Strandberg og Lisbeth Mortensen, 40 sider, kr. 60,-</i> |             |   |

*De enkelte hæfter i serien "TEMA-rapport fra DMU" beskriver resultaterne af DMU's forskning inden for et afgrænset område. Rapporterne er skrevet på letforståeligt dansk og henvender sig til alle, der er interesseret i miljø og natur. Serien er udformet så den kan bruges i undervisningen i folkeskolens ældste klasser og i gymnasiet.*