Nu skal der brygges insektferomoner til bæredygtig afgrødebeskyttelse

Kærlighed mellem insekter kan bruges til at bekæmpe dem.

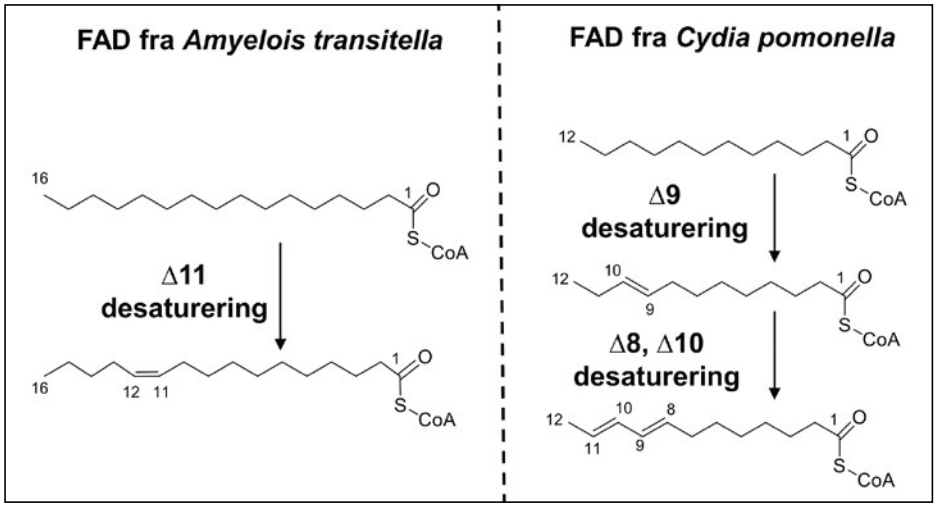
Af Karolis Petkevicius, industriel ph.d.-studerende, the Novo Nordisk Foundation Center for Biosustainability, DTU, BioPhero ApS

Skader på afgrøder forårsaget af skadedyr er et stort problem i landbruget. I øjeblikket er de mest populære løsninger baseret på brugen af kemiske insekticider eller genetisk modificerede planter, som er modstandsdygtige over for skadedyr. I de senere år er opmærksomheden dog øget omkring disse strategiers ulemper. Skadedyr udvikler resistens over for insekticider og genetisk modificerede afgrøder, hvilket gør metoderne mindre effektive over tid. Derudover mangler insekticider specificitet, hvilket betyder, at de kan have toksiske virkninger på mennesker og gavnlige insekter såsom bier.

Da konventionelle strategier forårsager en række problemer, er der brug for alternativer. Feromoner, som naturligt produceres af forskellige insektarter, repræsenterer et sundheds- og miljøvenligt alternativ. Feromoner er attraktive, fordi de er biologisk nedbrydelige, artsspecifikke forbindelser, som hverken skader gavnlige arter eller mennesker. Feromoner gør det muligt at dyrke afgrøder på en mere uskadelig og bæredygtig måde.

Mere end 60 års kemisk detektivarbejde ligger bag feromoner

Feromoner spiller en fundamental rolle i insektkommunikation. Disse metabolitter frigives af hunner for at tiltrække beslægtede hanner til reproduktion. Hannerne kan fornemme signalet og finde frem til hunnen for at parre sig. Det smukke ved dette kommunikationssystem ligger i dets specificitet. Evolutionen har gjort insekter i stand til at udsende og skelne artsspecifikke signaler. Denne "præcisionskemi" muliggør kommunikation mellem modsatte køn af samme insektart og sikrer selektivitet [1].



Figur 1. Skematisk repræsentation af enzymatiske reaktioner katalyseret af to forskellige FAD'er.

Reproduktionssystemer baseret på feromonsignaler har fungeret som inspiration for avancerede skadedyrsbekæmpelsesstrategier. En af de mest effektive løsninger kaldes parringsforstyrrelse - en proces, hvor insekternes sexferomoner frigives i marken for at forvirre hannerne og forhindre dem i at finde hunner. Som følge heraf lægges der ingen æg, der udvikler sig til larver, som er hovedbidragsydere til afgrødeskader.

Det første kemisk karakteriserede insekt-sexferomon kommer fra silkeorm *Bombyx mori* og kaldes bombykol ((10E,12Z)-Hexadeca-10,12-dien-1-ol). Siden opdagelsen af bombykol i 1959 er der blevet udført feromonkirtelanalyse af mange møl af økonomisk betydning i landbruget. Eksempler omfatter hærlarve (*Spodoptera frugiperda*), bomuldsorm (*Helicoverpa armigera*) og kålmøl (*Plutella xylostella*). Udredningen involverer udskæring af feromonkirtlen fra spidsen af bagkroppen efterfulgt af ekstraktion af metabolitter med organiske opløsningsmidler. Ekstrakterne analyseres ved gaskromatografi-massespektrometri for at bestemme strukturen af feromonerne.

Analyse af feromonkirtler fra forskellige insekter har identificeret visse fælles strukturelle træk ved disse metabolitter. De fleste møl-sexferomoner er alifatiske alkoholer, aldehyder eller acetater med kæder på 10-18 kulstofatomer og en til tre dobbeltbindinger [1]. Ved at kombinere forskellige kædelængder, funktionelle grupper samt antal og position af dobbeltbindinger skabes der mulighed for en bred vifte af feromonstrukturer.

Bioteknologi revolutionerer produktionen af feromoner

Kortlægningen af feromonstrukturer har givet indsigt i, hvordan disse



Figur 2. Bioreaktor hos BioPhero til gærfermentering.

forbindelser biosyntetiseres i insekter, og kontinuerlige fremskridt inden for DNA-sekventeringsteknologi har gjort det muligt at identificere gen-kandidater og enzymer, som er ansvarlige for feromonproduktion.

Indtil videre er der størst viden om fedt-acyl-CoA-desaturaser (FAD'er) og fedt-acyl-CoA-reduktaser (FAR'er). Begge typer enzymer virker på fedtsyrer esterificeret med coenzym A (substrater). FAD'er introducerer en dobbeltbinding i kulbrintekæden, mens FAR'er omdanner fedt-acyl-CoA'ere til tilsvarende alkoholer [2]. Bortset fra desaturation og reduktion foreslås andre reaktioner såsom fedtsyrekædeforkortning, alkoholoxidering og acetylering at være involveret i feromonbiosyntese, men enzymerne, der udfører disse opgaver, kræver stadig mere udforskning.

Afhængigt af kildeorganismen er FAD'er og FAR'er kendt for at have forskellige substratspecificiteter. For eksempel virker en FAD kaldet Atrd11 fra navleappelsinorm (*Amyelois transitella*) udelukkende på palmitoyl-CoA (C16 fedtsyre) og introducerer en dobbeltbinding i position 11, mens en anden FAD fra æblevikler (*Cydia pomonella*) virker på lauroyl-CoA (C12 fedtsyre) og introducerer to dobbeltbindinger ved position 8 og 10 [3,4] (figur 1). På samme måde kan FAR'er have forskellige præferencer over for fedtsyrer af forskellig længde. Denne selektivitet gør det muligt for insekter at biosyntetisere deres feromoner med et meget højt niveau af præcision.

Gær kan bruges til at brygge feromoner

Den hurtige udvikling inden for syntetisk biologi har gjort det muligt at udnytte mikroorganismer til biobaseret produktion af relevante produkter. For eksempel kan genetiske elementer fra insekter indsættes i gær for derved at kunne producere insektferomoner (figur 2). Denne bioteknologiske tilgang benyttes af den danske virksomhed BioPhero, som har til formål at levere miljøvenlige løsninger til skadedyrsbekæmpelse. Virksomheden kan nærmest siges at brygge feromoner i stedet for øl, på samme måde som Novo Nordisk producerer insulin.

Sammenlignet med traditionel kemisk syntese har bioteknologisk gærbaseret produktion flere vigtige fordele. For det første bruges billige, genanvendte råvarer såsom sukkerarter eller glycerol i stedet for dyre, fossil-afledte kemikalier. For det andet involverer den bioteknologiske produktion typisk en enkelttrins biokonvertering med levende celler som eneste katalysator. I nogle tilfælde viderebehandles fermenteringsprodukterne yderligere via et eller to kemiske trin. I modsætning hertil involverer kemisk syntese af insektferomoner typisk flere trin, som er afhængige af kemiske katalysatorer. Da bioteknologisk produktion desuden anvender biosyntetiske insektenzymer, er det muligt at opnå en produktprofil, der svarer til den, der naturligt produceres i feromonkirtler fra specifikke insekter.

For at opnå et højt udbytte ved bioproduktion af insektferomoner skal ikke kun korrekte genetiske elementer fra insekter benyttes. Den naturlige gærmetabolisme skal også justeres. Et højt udbytte kan opnås ved at eliminere metaboliske processer, som nedbryder målprodukter, eller ved at øge metabolitstrømmen mod forbindelser, der tjener som substrater for feromonproducerende enzymer. Kombination af aktive og meget selektive insektenzymer sammen med korrekt afstemt gærmetabolisme kan give en effektiv, bæredygtig og omkostningseffektiv biofremstillingsproces [3].



Figur 3. BioPheros feromoner kan bekæmpe nogle af de værste skadedyr i nogle af verdens vigtigste afgrøder såsom majs og ris.

Perspektiver for gærfermentering i fremtiden

Øget resistens over for genetisk modificerede afgrøder og insekticider med yderligere negativ indvirkning på miljøet er stærkt motiverende for at udvikle alternative tilgange til skadedyrsbekæmpelse. Gær kan som beskrevet udgøre platformen for bæredygtig og kommercielt anvendelig produktion af insektferomoner. En sådan platform er i princippet uendelig skalerbar i forhold til produktion af nye typer af feromoner.

Indtil videre er gærfermentering blevet brugt til at fremstille feromoner til skadedyrsbekæmpelse i markafgrøder såsom ris, bomuld og majs [3,5] (figur 3). Det er en stor bedrift, idet insektferomoner fremstillet ved kemisk syntese er for bekostelige at bruge i stordriftsafhængige markafgrøder. Men der er også behov for at etablere bioteknologisk produktion af feromoner til beskyttelse af højværdiafgrøder såsom vin og forskellige frugter for at efterkomme forbrugernes ønske om en reduktion af pesticidrester i frugt og grønt.

I fremtiden vil den beskrevne biobaserede teknologi drage stor fordel af grundforskning, der sigter mod at afsløre andre egnede gen-kandidater fra insekter, og forsøg på at strømline den naturlige gærmetabolisme.

Dette arbejde har modtaget støtte fra Innovationsfonden [8053-00179B] samt fra EU's støtteprogram for forskning og innovation - Horizon 2020 [760798, 886662].

E-mail:
Karolis Petkevicius: karolis@biophero.com

Referencer

1. Ando T., Inomata S., Yamamoto M.: Lepidopteran sex pheromones. In The Chemistry of Pheromones and Other Semiochemicals I. Edited by Schulz S. Berlin, Heidelberg: Springer; 2004: 51-96.
2. Tupec M., Buček A., Valterová I., Pichová I.: Biotechnological potential of insect fatty acid-modifying enzymes. Zeitschrift für Naturforschung - Sect C J Biosci 2017, 72:387-403.
3. Holkenbrink C., Ding B.J., Wang H.L., Borodina I., et al.: Production of moth sex pheromones for pest control by yeast fermentation. Metabolic Engineering 2020 Nov;62:312-321.
4. Lassance J.M., Ding B.J., Löfstedt C. Evolution of the codling moth pheromone via an ancient gene duplication. BMC Biology 2021, 19, 83
5. Petkevicius K., Koutsoumpeli E., Betsi P.C., Borodina I., et al.: Biotechnological production of the European corn borer sex pheromone in the yeast Yarrowia lipolytica. Biotechnology Journal. 2021 Jun;16(6):e2100004