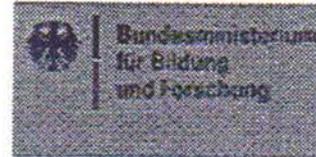


„Sicherheitsforschung und Monitoring“

Rahmenprogramm Biotechnologie – Chancen
nutzen und gestalten



Tagungsprogramm

BMBF Status Seminar 2003 –
Sicherheitsforschung und Monitoring
31. März / 1. April 2003
Hannover

Abstract zum BMBF-Projekt 0312631 G/3

Untersuchungen zur frühzeitigen Entdeckung einer Resistenzentwicklung des Maiszünslers gegen *B.t.*-Toxine und zur Aufklärung der Resistenzmechanismen, W. Burgermeister¹, B. Hommel², R. Kaiser-Alexnat, B. Keller, R. G. Kleespies, G.-A. Langenbruch, T. Meise und W. Wagner

BBA für Land- und Forstwirtschaft, Institut für biologischen Pflanzenschutz, Darmstadt, Institut für integrierten Pflanzenschutz, Kleinmachnow²), Institut für Pflanzenvirologie, Mikrobiologie und biologische Sicherheit, Braunschweig und Berlin¹)

Der Einsatz von *B.t.*-Mais richtet sich in Deutschland ausschließlich gegen den Maiszünsler (*Ostrinia nubilalis*). Er ist in Europa heimisch, wurde aber u.a. in die USA verschleppt. Der Maiszünsler hat in Deutschland eine Generation, befällt etwa 30 % der Maisanbaufläche und wird jährlich auf 40 000 ha durch Insektizide, auf 10 000 ha mit *Trichogramma*-Schlupfwespen und auf großen Flächen durch wendende Bodenbearbeitung bekämpft.

Insekten können gegenüber *B.t.*-Toxinen resistent werden. Transgene *B.t.*-Pflanzen führen vermutlich schneller zu einer Resistenz als *B.t.*-Spritzungen. In den USA sind beim Anbau von *B.t.*-Mais benachbarte Nicht-*B.t.*-Mais-Flächen vorgeschrieben.

Resistenzallele sollten auf *B.t.*-Maisflächen aufgrund des vorhandenen Selektionsdrucks angereichert sein. Deshalb ist es sinnvoll, sich bei der Suche nach resistenten Zünlern auf *B.t.*-Mais zu konzentrieren. Da aber bis zu 2 % der Pflanzen kein Toxin exprimieren, überleben in *B.t.*-Maisfeldern auch Raupen, die nicht resistent sind. Da nur die widerstandsfähigen Altlarven gesammelt werden können, müssen die Tiere gezüchtet und dann auf Resistenz geprüft werden. Wenn eine rezessive Vererbung der Resistenz vorausgesetzt wird, sollten in der F₂-Generation reinerbig resistente Tiere erkennbar sein.

Im Spätsommer des Jahres 2001 wurden in 320 000 *B.t.*-Maispflanzen 144 Maiszünsler-raupen gefunden. Nach Überwinterung und Haltung als Inzuchtlinien konnten in der F₂-Generation die Nachkommen von 40 Tieren der Eltern-Generation getestet werden. Es zeigte aber keine dieser Isolinien eine Resistenz.

Im Jahre 2002 wurden in 760 000 *B.t.*-Maispflanzen 805 Raupen gefunden. Sie sollen nach Möglichkeit in diesem Jahr auf gleiche Weise getestet werden.

Darüber hinaus wurde damit begonnen, Raupen auf Verhaltensresistenz zu prüfen, und eine Resistenzprovozierung durch Selektionszucht im Labor wird weiterverfolgt. Die Grundlagen für eine Klärung möglicher Resistenz-Ursachen werden durch Untersuchungen zum Protease-Potential im Mitteldarm und zur Toxinanlagerung an die Darmwand von Maiszünslerraupen verschiedener Herkünfte vorbereitet. So konnte die Aktivität von Chymotrypsin, Trypsin, Elastase und Aminopeptidase nachgewiesen werden.

Investigations on the early detection of a resistance of the European corn borer to *B.t.*-toxins and on the explanation of the resistance mechanisms

W. Burgermeister¹, B. Hommel², R. Kaiser-Alexnat, B. Keller, R. G. Kleespies, G.-A. Langenbruch, T. Meise und W. Wagner

Federal Biological Research Center for Agriculture and Forestry, Institute for Biological Control, Darmstadt, Institute for Integrated Plant Protection, Kleinmachnow²), Institute for Plant Virology, Microbiology and Biological Safety, Braunschweig and Berlin¹)

The European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) is the only target organism of *B.t.*-corn in Germany. It is endemic in Europe, but was spread to the U.S.A. In Germany the European corn borer has one generation per year. It is known to occur on about 30 % of corn and it is controlled on 40,000 ha by insecticides, on 10,000 ha by *Trichogramma* - parasitoids and on large areas by ploughing.

It is well known that insects may become resistant to *B.t.*-toxins. Transgenic *B.t.*-cultures will probably cause resistance in a shorter time than spraying of *B.t.*-preparations. Therefore, in the U.S.A. the cultivation of *B.t.*-corn is combined with cultivation of non-transgenic corn on neighbouring fields as a refuge.

It is expected that resistance alleles are enriched in *B.t.*-corn fields because of the selection pressure in these areas. So it is useful to search for resistant larvae mainly in *B.t.*-corn. But as up to 2 % of the plants of a *B.t.*-corn field may not express the toxin, non-resistant larvae can survive in *B.t.*-corn, too. As only older larvae can be found in the field, which usually show low susceptibility, these have to be reared and young larvae of the next generations tested. When a recessive resistance allele is expected, the F₂ should generate some larvae that are homozygous for the rare resistance allele.

In late summer of 2001, altogether 144 larvae were found in 320,000 plants of *B.t.*-corn. After hibernation, rearing as single pairs and inbreeding the progeny of 40 larvae of the parental generation could be tested in the F₂ to the planned extend. But none of these lines showed a *B.t.*-resistance.

In 2002, 805 larvae were found in 760,000 *B.t.*-corn plants. These will be tested this year in the same manner.

Additionally, some larvae were checked for resistance caused by an unusual behaviour. Moreover, a rearing of larvae under selection pressure by sublethal toxin dosage is continued to provoke resistance.

The basis for understanding the possible reasons for *B.t.*-resistance is prepared by testing the potential of gut proteases and the binding of *B.t.*-toxin to the brush border membrane vesicles of larvae of different German origins. So far, the activity of chymotrypsin, trypsin, elastase and aminopeptidase could be demonstrated.