

Untersuchungen zur Populationsgenetik der Minderempfindlichkeit des Apfelwicklers gegenüber *Cydia pomonella* Granulovirus (CpGV)

¹ S. Asser, ^{2,3} N. A. Gund, ¹ K. E. Eberle, ¹ A. Matt-Schmid, ⁴ A. Reineke, ² D. G. Heckel, ³ C. P. W. Zebitz, ¹ J. A. Jehle

¹ Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum – Rheinland, Abteilung Phytomedizin, Biotechnologischer Pflanzenschutz, 67435 Neustadt;

² Max Planck Institut für chemische Ökologie, Abteilung Entomologie, 07745 Jena;

³ Universität Hohenheim, Institut für Phytomedizin, Abteilung Entomologie, 70599 Stuttgart;

⁴ Forschungsanstalt Geisenheim, Institut für Biologie, Abteilung Phytomedizin, 65366 Geisenheim



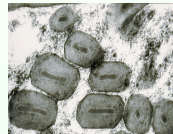
Apfelanlage (Foto: DLR Rheinland)



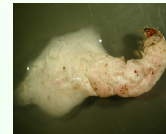
Mit Apfelwickler befallener Apfel (Foto: Schulze, DLR Rheinland)



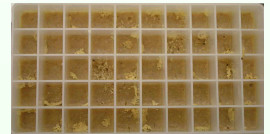
Apfelwicklerlarve (Foto: DLR Rheinland)



Elektronenmikroskopische Aufnahme des CpGV (Foto: A. Huger, BBA)



Apfelwicklerlarve durch CpGV abgetötet (Foto: DLR Rheinland)



Laborbioassay zur CpGV-Resistenztestung (Foto: Asser, DLR Rheinland)

Einleitung:

Seit 2003 sind in Deutschland und Frankreich mehrere Apfelwickler-Populationen beobachtet worden, die eine bis zu 1.000-fach reduzierte Empfindlichkeit gegenüber dem Granulovirus CpGV-M (mexikanisches Isolat) aufweisen. Die Kontrolle des Apfelwicklers durch dieses Virus ist daher in den betroffenen Betrieben erheblich erschwert (FRITSCH et al. 2005, SAUPHANOR et al. 2006).

Zielsetzung:

Ziel des Projektes ist es, mittels Kreuzungsexperimenten zwischen einem empfindlichen (CpS) und einem resistenten (CpR) Laborstamm Informationen zum Erbgang der CpGV-Resistenz zu erhalten. Einzelpaarkreuzungen bilden die Grundlage für genetische Kartierungen, anhand derer beteiligte Genloci gefunden werden sollen. Diese geben einerseits Aufschluss über mögliche Resistenzmechanismen und erlauben andererseits die Entwicklung molekularer Marker.

Einzelpaarkreuzungen

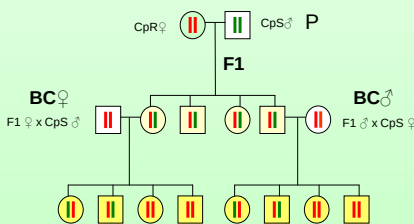


Abb. 1: Kreuzungsschema der Einzelpaarkreuzungen. P: Parentalgeneration, F1: Nachkommen aus der Kreuzung zwischen den beiden Elternstämmen CpR und CpS, BC: weiblich- bzw. männlich-informative Rückkreuzung.

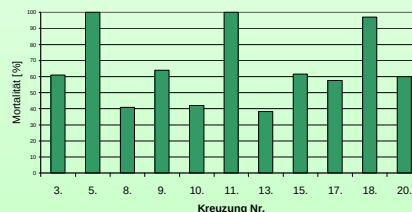


Abb. 2: Mortalitäten der F1-Generation verschiedener Einzelpaarkreuzungen (3-20). Zwischen CpR und CpS wurden Einzelpaarkreuzungen vorgenommen und die Nachkommen anhand einer diskriminierenden CpGV Konzentration auf ihre CpGV-Empfindlichkeit im 7-Tage-Bioassay getestet.

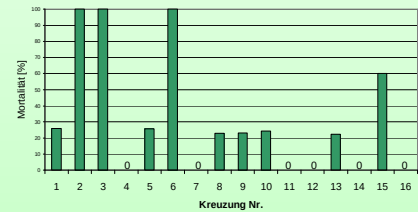


Abb. 3: Mortalitäten der F1-Generation verschiedener Einzelpaarkreuzungen (1-16). Um die Homogenität des Stammes CpR zu prüfen, wurden Einzelpaarkreuzungen innerhalb von CpR vorgenommen und die Nachkommen anhand einer diskriminierenden CpGV-Konzentration auf ihre Empfindlichkeit im 7-Tage-Bioassay getestet.

Nachdem Massenkreuzungen gezeigt haben, dass die CpGV-Resistenz **polygen**, **nicht additiv**, **autosomal** und **unvollständig dominant** vererbt wird (EBERLE und JEHL, 2006), wurden Einzelpaarkreuzungen nach dem oben stehenden Schema vorgenommen.

Die Mortalitäten variierten zwischen 38,3% und 100%

→ Hinweis darauf, dass der resistente Stamm (CpR) **genetisch nicht homogen** ist.

Die Mortalitäten variierten zwischen 0% und 100%.

→ Der resistente Stamm CpR ist nicht homogen. F1 Familien mit 0% Mortalität wurden weiter vermehrt, um einen homogen resistenten Stamm aufzubauen.

Genetische Untersuchungen:

Zur Identifizierung möglicher genetischer Mechanismen, die an der Ausbildung der CpGV-Resistenz beteiligt sind, wird eine Kopplungsanalyse mit Hilfe von **AFLP**- (amplified fragment length polymorphism) Markern durchgeführt. Sind diese Loci identifiziert, werden sie isoliert und sequenziert. Hierdurch können Hinweise auf beteiligte Resistenzmechanismen gewonnen werden.

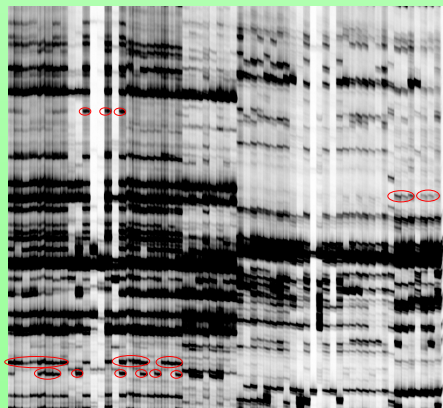


Abb. 5: Ausschnitt aus einem AFLP-Gel. Zwei verschiedene Primerkombinationen (Mse-CAC + Eco-ATG (links) und Mse-CTG + Eco-AAG (rechts) wurden aufgetragen. Beispiele für polymorphe Banden sind gekennzeichnet.

Populationsgenetische Untersuchungen mit Hilfe von **Mikrosatelliten** werden Aufschluss über die genetische Struktur unterschiedlicher Apfelwickler-Populationen sowie Hinweise auf eine Ausbreitung minder-empfindlicher Tiere geben.

Eine **cDNA-AFLP**-Analyse soll weiterhin Aufschluss über die Unterschiede der Expressionsstärke bestimmter Gene bei empfindlichen und resistenten Tieren geben. Eventuell bestehende Sequenz-homologien können Hinweise auf die funktionelle Bedeutung der Gene geben.

Danksagung

Die Arbeit wird finanziell unterstützt von der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung.

Weitere Projektpartner sind: Institut für biologischen Pflanzenschutz der BBA in Darmstadt und die Fördergemeinschaft ökologischer Obstbau.

Literatur:

- Eberle K.E., Jehle J.A. (2006): Field resistance of codling moth against *Cydia pomonella* Granulovirus (CpGV) is autosomal and incompletely inherited. J. Invertebrate Pathol. 93, 201-206.
- Fritsch E., Undorf-Spahn K., Kienle J., Zebitz C.P.W., Huber J. (2005): Apfelwickler-Granulovirus: Erste Hinweise auf Unterschiede in der Empfindlichkeit lokaler Apfelwicklerpopulationen. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes 57, 29-34.
- Sauphanor B., Berling M., Toubon J.-F., Reyes M., Delnatte J., Allempoz P., (2006): Carpopapse des pommiers. Cas de résistance au virus de la granulose en vergers biologique. Phytoma – La Défense des Végétaux 590, 24-27.