



Bacillus thuringiensis

Biologischer und Integrierter Pflanzenschutz
Lehrveranstaltung im Julius Kühn-Institut

Dr. Renate Kaiser-Alexnat
Institut für Biologischen Pflanzenschutz, Darmstadt

Gliederung

Einführung über *Bacillus thuringiensis* **B.t.**

Entdeckung, Vorkommen, Biologie, Vermehrung, Toxine, Stämme, Taxonomie

B.t. im Pflanzenschutz **B.t.-Präparate**

Geschichte, Wirkungsmechanismus, Spezifität, Wirkungsspektrum, Handelsprodukte, Anwendung, Grundsätze, Stabilität, Produktion, Bedeutung

B.t. in der Grünen Gentechnik **B.t.-Pflanzen**

Gliederung

Einführung über *Bacillus thuringiensis* **B.t.**



Entdeckung, Vorkommen, Biologie, Vermehrung, Toxine, Stämme, Taxonomie

B.t. im Pflanzenschutz **B.t.-Präparate**

Geschichte, Wirkungsmechanismus, Spezifität, Wirkungsspektrum, Handelsprodukte, Anwendung, Grundsätze, Stabilität, Produktion, Bedeutung

B.t. in der Grünen Gentechnik **B.t.-Pflanzen**

Entdeckung

1901 Japanischer Wissenschaftler

Ishiwata

Isolierung aus Seidenraupe
Bezeichnung: *Bacillus sotto*

1911 Deutscher Wissenschaftler

Berliner

Isolierung aus Mehlmottenraupe
Bezeichnung: *Bacillus thuringiensis*

Vorkommen

- ☑ geographisch sehr weit verbreitet, ubiquitär
- ☑ Isolation aus Insekten, von Blattoberflächen und aus Bodenproben
- ☑ keine Korrelation zwischen Habitat und Toxizitätsspektrum

Biologie



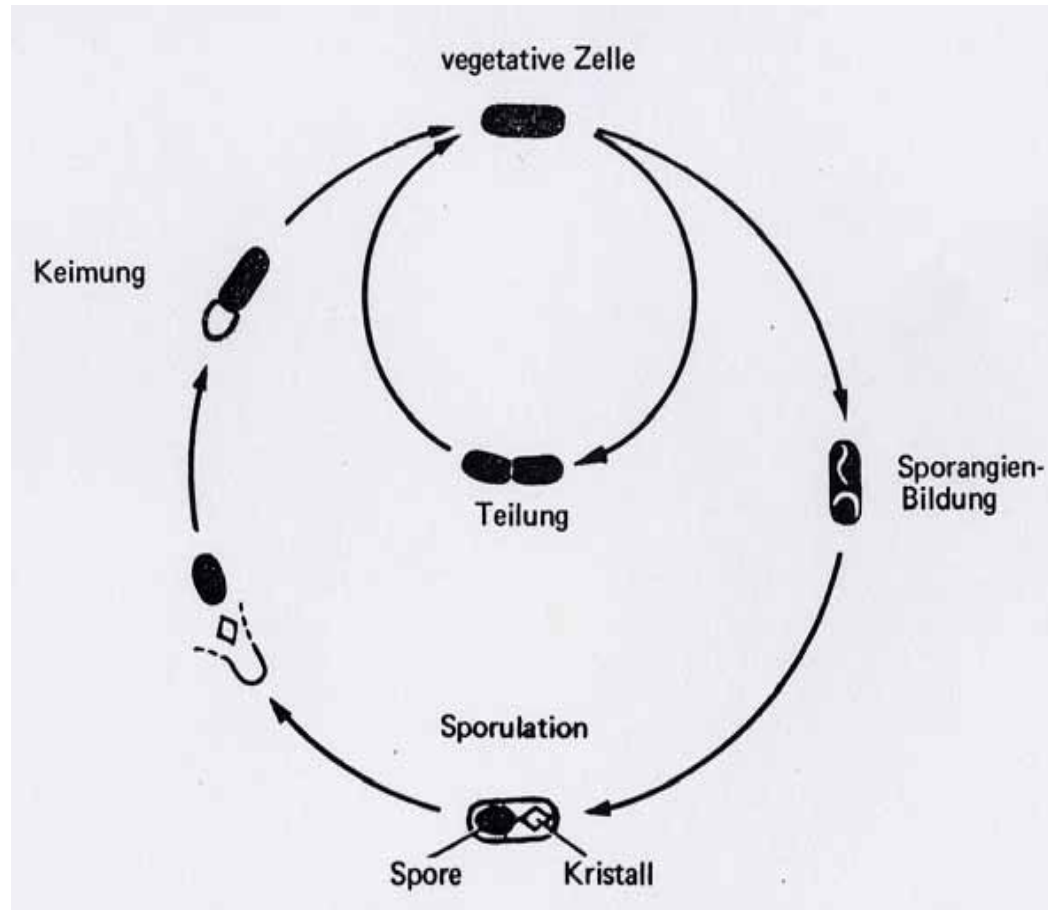
aerobes, gram-positives, sporenbildendes Bakterium

bildet bei Sporulation parasporale, kristalline Proteine

➔ δ -Endotoxine mit insektentoxischer Wirkung

Gene für Bildung von Toxinkristallen auf Plasmiden

Vermehrung

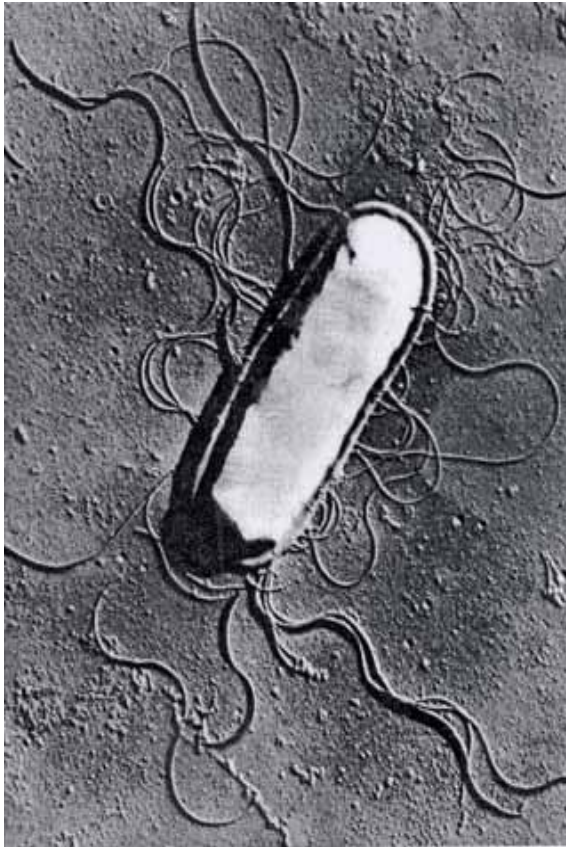


Vegetativer
Zyklus

Reproduktiver
Zyklus

Schema:
A. Krieg, BBA Darmstadt

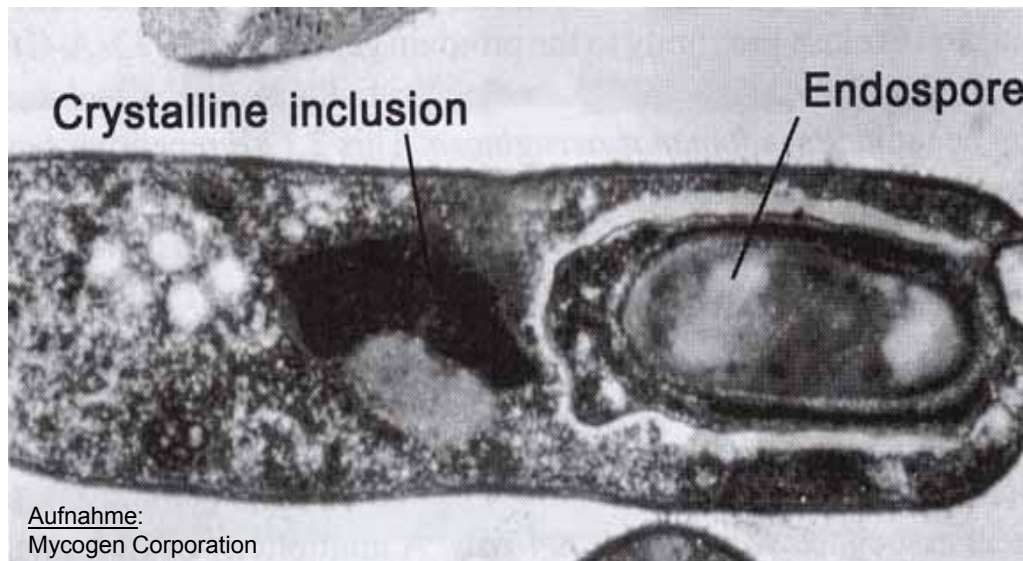
Vegetative Zelle



Aufnahme:
A. Krieg, BBA Darmstadt

Die vegetativen Zellen
sind stäbchenförmig
und meist begeißelt.

Sporulierende Zelle



Bei der Sporulation bilden sich neben der Endospore ein oder mehrere kristalline Proteine.

Aufgeplatzttes Sporangium



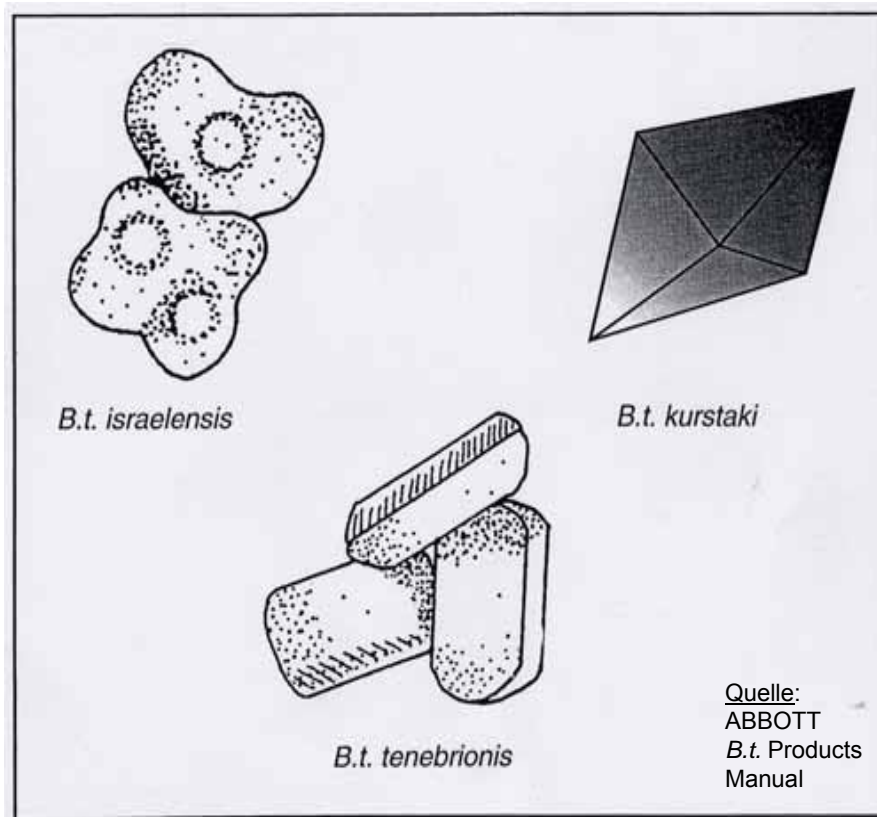
Aufnahme:
A. Krieg,
BBA
Darmstadt

K Kristall

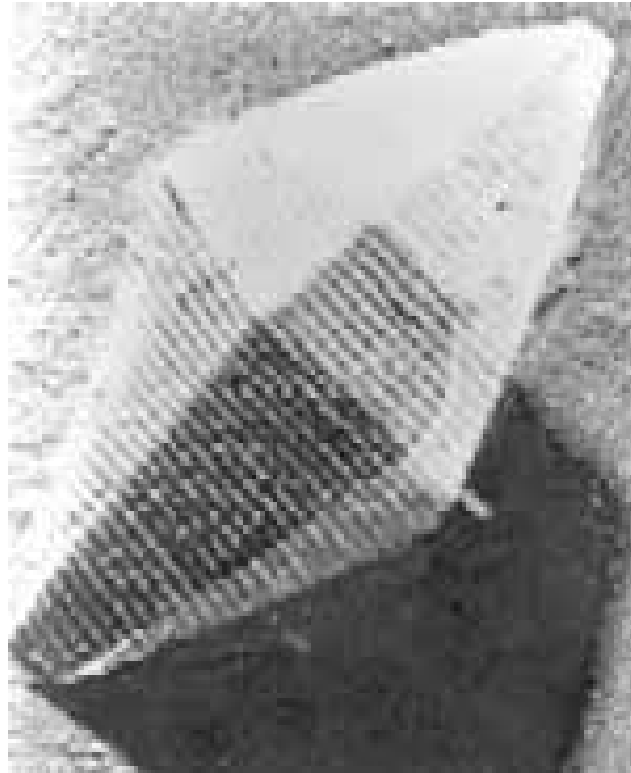
S Spore

M Sporen-
mutter-
zelle

Formen von Toxin-Kristallen

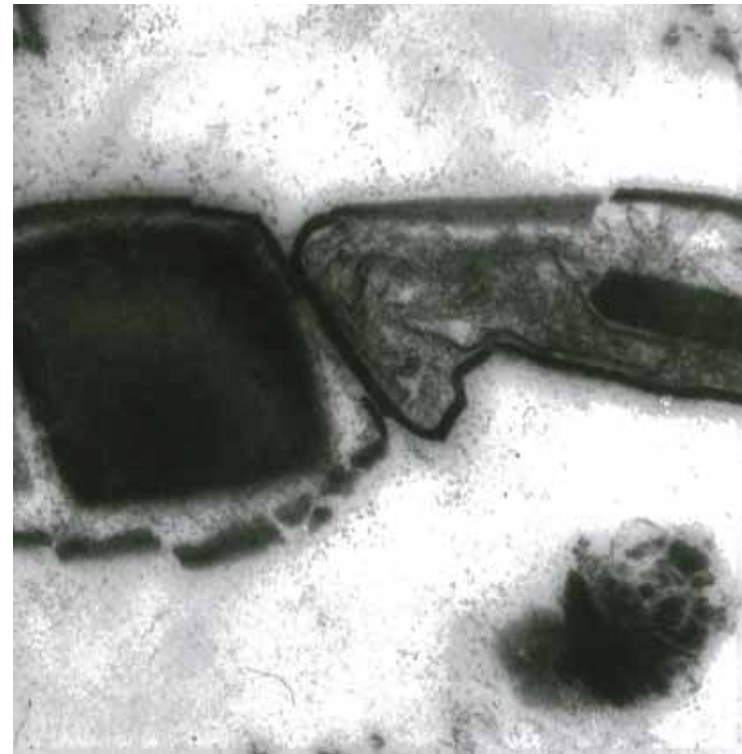
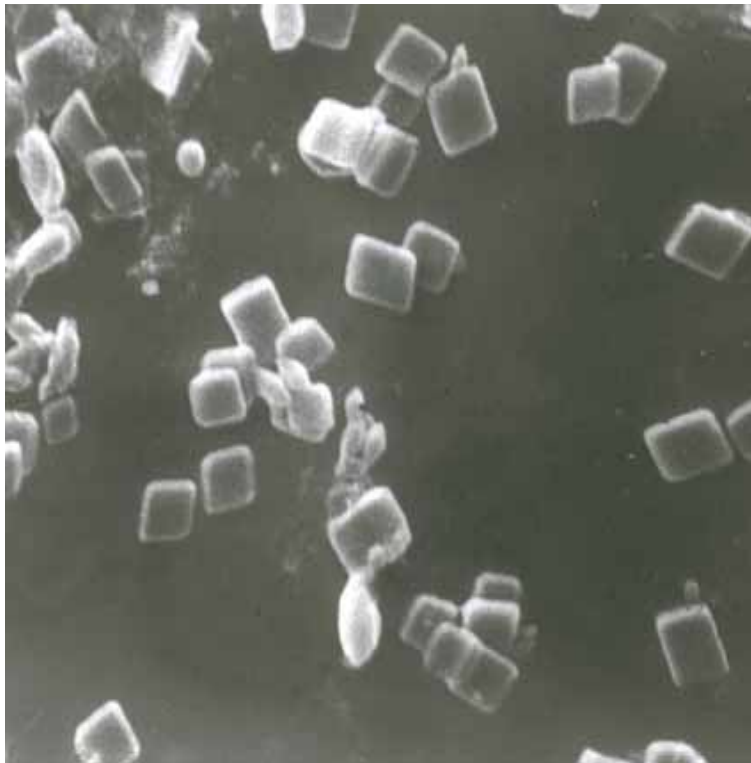


Bipyramidales Toxin-Kristall



Quelle:
<http://www.gffc.cfs.nrcan.gc.ca/bacillus>

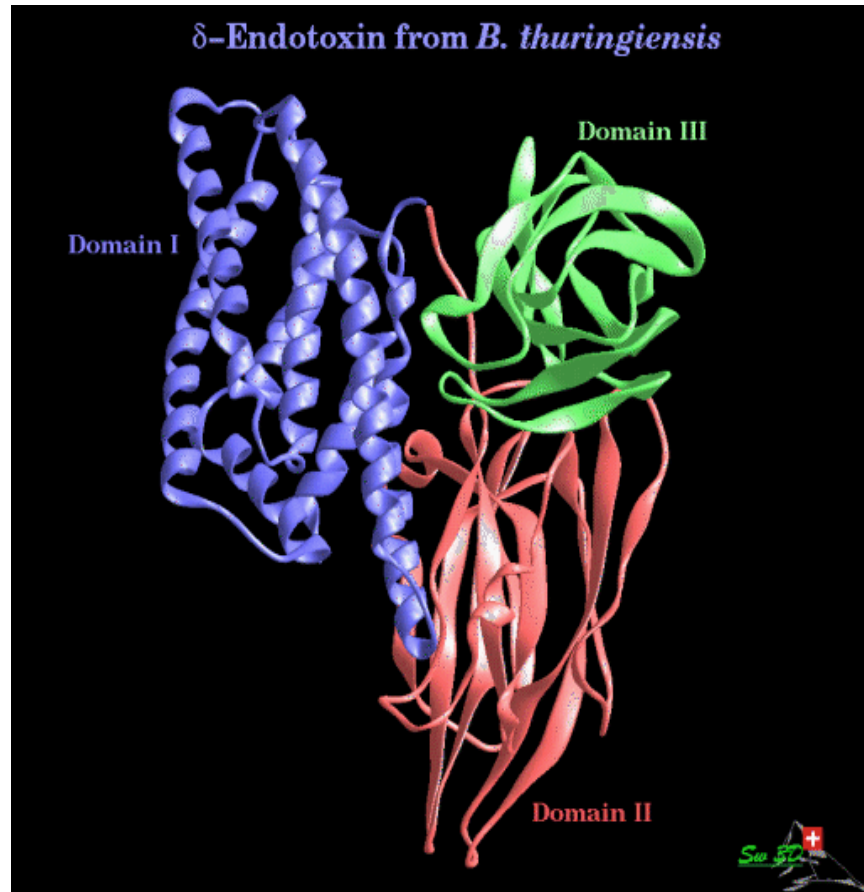
Plattenförmige Toxin-Kristalle



Bacillus thuringiensis v. *tenebrionis*

Aufnahmen:
A. Huger,
BBA Darmstadt

Aufbau des Endotoxins



Quelle: Swissprot, Li *et al.* (1991): Nature 353, 815-821

Toxine

- ☑ Bei der Sporulation bildet *B.t.* Kristallproteine, die **δ-Endotoxine**. Diese Toxine werden in Cry-Toxine (ca. 400 in 52 Klassen) und Cyt-Toxine (26 in 2 Klassen) eingeteilt.
- ☑ In der Wachstumsphase werden sog. **VIP** (vegetative insecticidal proteins; 54 Toxine in 3 Klassen) und **Exotoxine** gebildet und an die Umgebung der Zellen abgegeben.
- ☑ Während die Endotoxine überwiegend spezifisch gegen bestimmte Insektengruppen wirksam sind, haben die Exotoxine eine unspezifische Wirkung.

Stämme

- ✓ Weltweit wird die Anzahl der bekannten *B.t.*-Stämme (unterschiedliche Isolate) auf etwa 50.000 geschätzt.
- ✓ Von den vielen bekannten *B.t.*-Stämmen werden nur wenige kommerziell genutzt.
- ✓ Die Einteilung der *B.t.*-Stämme erfolgte zunächst nach biochemischen Eigenschaften und schließlich nach serologischen Unterschieden.
- ✓ Die *B.t.*-Stämme werden in 82 serologische Varietäten bzw. **Serovare** zusammengefasst.
- ✓ Zur serologischen Unterscheidung werden die Geißeln der vegetativen Zellen genutzt, die aus unterschiedlichen Proteinen aufgebaut sein können.

Taxonomie

Krieg 1986: nach Pathotypen

Pathotyp A: Lepidopteren-spezifisch

Pathotyp B: Dipteren-(Nematorceren-)spezifisch

Pathotyp C: Chrysomeliden-spezifisch

Höfte & Whitley 1989: nach Wirkung und Homologie
der δ -Endotoxin-Gene (Cry-Gene)

CryI: Lepidopteren-spezifisch

CryII: Lepidopteren- und Dipteren-spezifisch

CryIII: Coleopteren-spezifisch

CryIV: Dipteren-(Nematorceren-)spezifisch

CryV: Coleopteren- und Lepidopteren-
spezifisch

Crickmore *et al.* 1998: nach Sequenz-Homologie der
Proteine, ohne Bezug zur Wirtsspezifität

Gliederung

Einführung über *Bacillus thuringiensis* **B.t.**

Entdeckung, Vorkommen, Biologie, Vermehrung, Toxine, Stämme, Taxonomie

B.t. im Pflanzenschutz **B.t.-Präparate**



Geschichte, Wirkungsmechanismus, Spezifität, Wirkungsspektrum, Handelsprodukte, Anwendung, Grundsätze, Stabilität, Produktion, Bedeutung

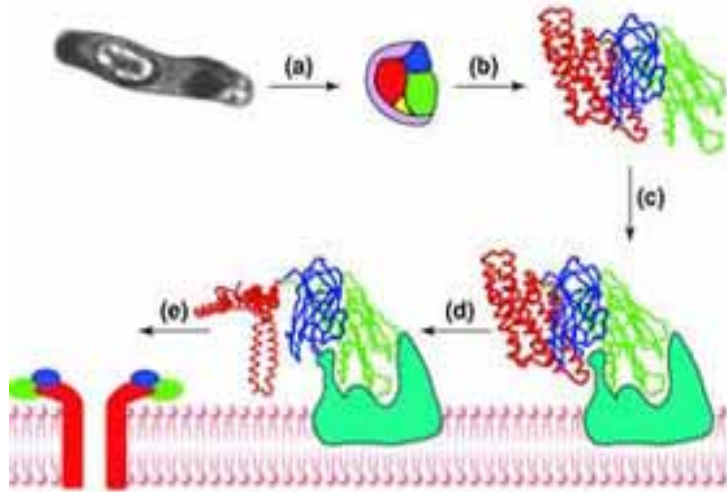
B.t. in der Grünen Gentechnik **B.t.-Pflanzen**

Geschichte



- 1938 **Sporeine** weltweit erstes kommerzielles *B.t.*-Präparat in Frankreich auf dem Markt
- 1960_{er} *B.t.*-Präparate erstmals großflächig eingesetzt
- 1964 **Biospor** erstes *B.t.*-Präparat zur Bekämpfung von Raupen in Deutschland amtlich anerkannt
- 1970 Entdeckung des besonders virulenten *B.t.*-Stammes HD-1 (*Bacillus thuringiensis* sv. *kurstaki*)
- 1976 Entdeckung von *Bacillus thuringiensis* sv. *israelensis* in der Negev-Wüste in Israel
- 1982 Isolierung von *Bacillus thuringiensis* v. *tenebrionis* aus *Tenebrio molitor* (Mehlkäfer) beim JKI Darmstadt

Wirkungsmechanismus



Quelle:
de Maagd *et al.* 2001 [Trends in Genetics 17 (4), 193-199]

- ✓ Aufnahme mit der Nahrung
- ✓ pH-abhängige Lösung
- ✓ proteolytischer Abbau
- ✓ Bindung an Rezeptoren der Darmwand
- ✓ Integration in die Membran
- ✓ Bildung von Poren
- ✓ Auflösung des Darmepithels
- ✓ Fraßstopp
- ✓ Tod des Insekts

Spezifität

- ☑ Nicht alle *B.t.*-Stämme sind toxisch gegenüber Insekten.
- ☑ Bei toxischen *B.t.*-Stämmen sind ca. 170 *B.t.*-Toxine bekannt.
- ☑ Die toxische Wirkung ist auf Lepidopteren-, Dipteren- oder Coleopteren-Larven beschränkt.
- ☑ Die spezifische Wirkung basiert auf *B.t.*-Toxin, pH-Wert und Proteasen des Darmsaft sowie Rezeptoren der Darmwand.

Wirkungsspektrum

Pathotyp A

B.t. sv. kurstaki (B.t.k.) gegen Larven bestimmter **Lepidopteren**, nicht gegen *Noctuidae* (Eulen)

B.t. sv. aizawai (B.t.a.) gegen Larven bestimmter **Lepidopteren**, auch gegen *Noctuidae* (Eulen)

Pathotyp B

B.t. sv. israelensis (B.t.i.) gegen Larven von **Nematoceren** (Mosquitos, Fliegen, Mücken)

Pathotyp C

B.t. v. tenebrionis (B.t.t.) gegen Larven von **Chrysomeliden** (Blattkäfer)

Handelsprodukte

***B.t.*-Präparate vom Pathotyp A**

B.t. sv. kurstaki (B.t.k.)

B.t. sv. aizawai (B.t.a.)

Dipel, Dipel ES
Turex, XenTari,
Raupenfrei, B 401

***B.t.*-Präparate vom Pathotyp B**

B.t. sv. israelensis (B.t.i.)

Biomükk, Culinex,
Neudomükk

***B.t.*-Präparate vom Pathotyp C**

B.t. v. tenebrionis (B.t.t.)

Novodor FC

B.t.- Präparate vom Pathotyp A

B.t. sv. kurstaki (B.t.k.)

Dipel, Dipel ES

(Name von **lepi**Doptera)

B.t. sv. aizawai (B.t.a.)

Turex (=Agree)

XenTari

Raupenfrei

B 401 (=Certan)

B.t.- Präparate vom Pathotyp B

B.t. sv. israelensis (B.t.i.) Biomükk
Culinex
Neudomükk

B.t.- Präparate vom Pathotyp C

B.t. v. tenebrionis (B.t.t.) Novodor FC

Anwendung

- ✓ erhältlich in Genossenschaften und Gartenbedarfsgeschäften
- ✓ als Flüssigformulierungen oder Spritzpulver
- ✓ Ausbringung mit üblichen Pflanzenschutzgeräten
- ✓ Temperaturen sollten nach der Ausbringung bei 20-25°C liegen
- ✓ Wirkungsgrad häufig bei 70 bis 90%

Grundsätze

- ✓ gruppenspezifische Wirkung nach Endotoxinen
- ✓ nur wirksam nach Aufnahme durch Fraß
- ✓ Präparate müssen sich am Fraßort befinden
- ✓ dosisabhängige Wirkung in Abhängigkeit von Körpermasse
- ✓ obwohl Tod empfindlicher Insekten erst mehrere Tage nach der Aufnahme des Toxins eintritt, ist sofortige Wirkung durch Fraßstopp vorhanden

Stabilität

Hinsichtlich der Strahlenempfindlichkeit von *B.t.*-Präparaten ist zwischen Spore und Toxin zu differenzieren.

➔ **Spore UV-empfindlich**

➔ **Toxin UV-stabil**

Produktion

- ✓ industrielle Produktion als Submerskultur in gut belüfteten Fermentern mit Nährmedien bei 25-30°C
- ✓ Bildung von Dauersporen und parasporalen Kristallen bei Nährstoffmangel und in Anwesenheit von Sauerstoff
- ✓ Anteil an Sporen und Kristallen ca. 5% des Fermenter-inhalts
- ✓ Abtrennung der aktiven Bestandteile durch Zentrifugation und Reinigung, anschließend Trocknung
- ✓ Die im Handel erhältlichen *B.t.*-Präparate enthalten als Hauptkomponenten **Endotoxinkristalle** und **Sporen**.

Bedeutung

Besonderheit

selektive Wirkung, gezielter Einsatz, umweltschonend, zählt zu den sichersten Insektiziden

Deutschland

B.t.-Präparate seit über 40 Jahren eingesetzt vor allem im ökologischen Landbau

Weltweit

ca. 1 % des Marktes für Agrarchemikalien
ca. 90 % des Marktes für biologische Bekämpfung

Gliederung

Einführung über *Bacillus thuringiensis* **B.t.**

Entdeckung, Vorkommen, Biologie, Vermehrung, Toxine, Stämme, Taxonomie

B.t. im Pflanzenschutz **B.t.-Präparate**

Geschichte, Wirkungsmechanismus, Spezifität, Wirkungsspektrum, Handelsprodukte, Anwendung, Grundsätze, Stabilität, Produktion, Bedeutung

B.t. in der Grünen Gentechnik **B.t.-Pflanzen**



B.t.- Pflanzen

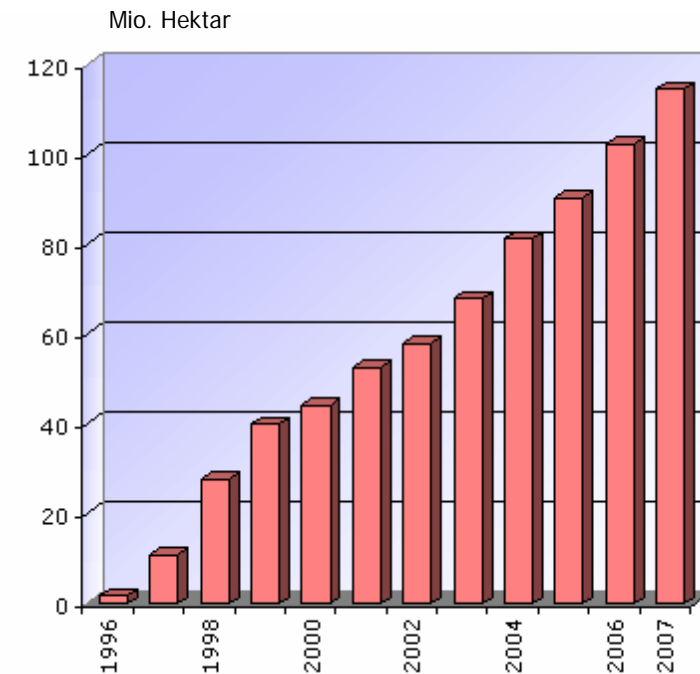
Pflanzenart	Zielorganismus	<i>B.t.</i> -Toxin
<i>B.t.</i> -Mais	Maiszünsler	Cry 1Ab
<i>B.t.</i> -Baumwolle	Baumwollkapselwurm	Cry 1Ac
<i>B.t.</i> -Kartoffel	Kartoffelkäfer	Cry 3A

B.t.- Mais

Zielorganismus	<i>B.t.</i> -Toxin	Event
Maiszünsler <i>(Ostrinia nubilalis)</i>	Cry 1Ab	Bt 176, MON 810 u.a.
Maiswurzelbohrer <i>(Diabrotica virgifera)</i>	Cry 3Bb1	MON 863, MON 88017
Maizünsler <u>und</u> Maiswurzelbohrer	Cry 1Ab+ Cry 3Bb1	MON 810 x MON 863

Bedeutung von gv-Pflanzen

- ✓ weltweit > 100 Mio. ha
- ✓ > 50% in den USA
- ✓ Soja, Mais, Raps und Baumwolle großflächig
- ✓ In Deutschland 2007 ca. 2.700 ha *B.t.*-Mais



Weltweite Anbauflächen mit gentechnisch veränderten Pflanzen [www.transgen.de]

Internet



aktuelle Informationen zu *B.t.*- Pflanzen
und rund um GVO's

www.biosicherheit.de

bioSicherheit
Gentechnik - Pflanzen - Umwelt

www.transgen.de

TRANS GEN

Transparenz für Gentechnik bei Lebensmitteln