

186-Kaiser-Alexnat, R.

Julius Kühn-Institut, Institut für Biologischen Pflanzenschutz

Proteolytischer Abbau der *B.t.*-Mais-Toxins Cry3Bb1 im Mitteldarm des Westlichen Maiswurzelbohrers (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte)

Proteolytical processing of *B.t.*-corn-toxin Cry3Bb1 in the midgut of Western corn rootworm

(*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte)

Der Westliche Maiswurzelbohrer ist einer der wirtschaftlich bedeutendsten Maisschädlinge weltweit. Im Jahr 2007 wurde er auch erstmals in Deutschland beobachtet. Eine Bekämpfungsmöglichkeit stellt der Anbau von *B.t.*-Mais dar. Die Firma Monsanto entwickelte *B.t.*-Mais, der das *B.t.*-Toxin Cry3Bb1 mit Wirksamkeit gegenüber dem Westlichen Maiswurzelbohrer exprimiert. Ein großflächiger Anbau dieses *B.t.*-Mais erhöht jedoch die Wahrscheinlichkeit der Provozierung einer Resistenzentwicklung gegenüber dem *B.t.*-Toxin Cry3Bb1.

Bei *B.t.*-Toxinen handelt es sich um Proteine, die im Mitteldarm anfälliger Insekten durch einen spezifischen Wirkungsmechanismus prozessiert werden. Grundsätzlich kann die Resistenz von Insekten gegenüber *B.t.*-Toxinen an jedem Schritt dieses Wirkungsmechanismus ansetzen. Die bisher bei anderen Insekten beschriebenen Resistenzmechanismen gegenüber *B.t.*-Toxinen sind jedoch meist protease- oder rezeptorbedingt. Daher wurden entsprechende Parameter zur Prozessierung des *B.t.*-Mais-Toxins Cry3Bb1 (Bezug von der Firma Monsanto über Dr. Johannes Jehle, DLR Rheinpfalz, Neustadt/Weinstraße) im Mitteldarm von L3 Larven des Westlichen Maiswurzelbohrers (Anzucht und Präparation von der BTL Bio-Test Labor GmbH, Sagerheide, Dr. Thomas Thieme) untersucht.

Da der Darmsaft des Westlichen Maiswurzelbohrers mit einem durchschnittlichen pH-Wert von 5,75 leicht sauer ist, wurde angenommen, dass vor allem Proteasen mit saurem pH-Optimum aktiv sind. Diese Annahme wurde durch die hohen Aktivitäten der Cysteinproteasen Cathepsin L mit Papain, gefolgt von Cathepsin B und Cathepsin H bestätigt. Aber auch Proteasen aus anderen Klassen wurden nachgewiesen. Neben den Serinproteasen Trypsin, Chymotrypsin und Elastase wurden die zur gleichen Klasse gehörigen Proteasen Cathepsin G, Plasmin und Thrombin nachgewiesen, wobei vor allem die hohen Aktivitäten von Plasmin und Thrombin bemerkenswert sind. Auch die Aspartatprotease Pepsin und die Metalloprotease Saccharolysin sowie die Exopeptidasen Aminopeptidase und eine Omegapeptidase (Acylaminoacylpeptidase) wurden nachgewiesen.

Weiterhin wurde der proteolytische Abbau des *B.t.*-Mais-Toxins Cry3Bb1 *in vitro* simuliert. Dazu wurde zunächst die Verdauung des Toxins mit käuflichen Proteasen untersucht. Unter den nachgewiesenen Proteasen bauten Trypsin, Elastase und Papain das 77 kDa Toxin ab, wobei es von Trypsin zu einem ca. 75 kDa Protein, von Elastase zu Proteinen mit ca. 75 kDa und 40 kDa und von Papain vollständig abgebaut wurde. Demgegenüber bauten Chymotrypsin, Cathepsin G, Plasmin, Thrombin, Cathepsin L, Cathepsin B, Cathepsin H, Pepsin und Aminopeptidase das Toxin nicht ab. Außerdem wurde die Verdauung des Toxins mit *Diabrotica*-Darmsaft untersucht. Im Gegensatz zu den Ergebnissen mit käuflichen Proteasen, wurde das Toxin mit *Diabrotica*-Darmsaft nicht abgebaut. Daher ist die Wahrscheinlichkeit des Auftretens einer Protease-bedingten Resistenz als gering einzustufen.