

bestimmen. Hierfür wurden zwei unterschiedliche methodische Ansätze gewählt, die zum einen auf einer Anfärbung und mikroskopischen Betrachtung des Sexchromatins männlicher und weiblicher Tiere beruhte, und sich die Tatsache zu Hilfe machte, dass nur weibliche Tiere einen deutlich gefärbten W-Körper tragen. Zum anderen wurde ein PCR-Schnelltest bei frisch geschlüpften *C. pomonella*-Larven etabliert, bei dem mittels kurzer Extraktion der Tiere in der Mikrowelle ein Fragment eines geschlechtsspezifischen Gens ausschließlich bei weiblichen Tieren amplifiziert werden konnte. Ein weiteres Ziel des Projektes ist die Isolierung des verantwortlichen CpGV-Resistenzgens, da die Kenntnis der beteiligten Resistenzmechanismen eine wichtige Voraussetzung für das zukünftige CpGV-Resistenzmanagement ist. Hierzu werden aktuell genetische Kartierungen in Rückkreuzungsfamilien aus resistenten und sensitiven *C. pomonella* Individuen durchgeführt. Für diese Kartierungsansätze erfolgte zum einen eine SNP (single nucleotide polymorphism) Analyse von bekannten Genen, die bei anderen Lepidopteren auf dem Z-Chromosom lokalisiert sind. Zum anderen wurden AFLP (amplified fragment length polymorphism) Marker identifiziert, die geschlechtsgebunden und möglicherweise mit der CpGV-Resistenz gekoppelt sind. Nach Isolierung und Sequenzierung der entsprechenden Loci werden diese nun zukünftig für weitere Kartierungsansätze eingesetzt.

#### Literatur

Asser-Kaiser, S., Fritsch, E., Undorf-Spahn, K., Kienzle, J., Eberle, K.E., Gund, N.A., Reineke, A., Zebitz, C.P.W., Heckel, D.G., Huber, J., Jehle, J. A., 2007. Rapid emergence of baculovirus resistance in codling moth due to dominant, sex-linked inheritance. *Science* 317: 1916-1918.

150-Schmitt, A.<sup>1)</sup>; Huber, J.<sup>1)</sup>; Sauphanor, B.<sup>2)</sup>; Jehle, J.A.<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Julius-Kühn-Institut, Institut für Biologischen Pflanzenschutz

<sup>2)</sup> INRA, Avignon

<sup>3)</sup> Dienstleistungszentrum Ländlicher Raum Rheinhessen Nahe Hunsrück

### ***Cydia pomonella* zeigt keine Kreuzresistenz zwischen Apfelwicklergranulovirus und Insektiziden**

*Cydia pomonella* shows no cross-resistance of granulovirus with chemical insecticides

Codling moth larvae from 23 orchards located in five European countries were tested for their susceptibility/resistance to the *Cydia pomonella granulovirus* (CpGV) in standardized laboratory bioassays. Farmers observed in several of these populations reduced susceptibility to CpGV treatment. For each *C. pomonella* strain, the percentage of larvae surviving CpGV concentrations of 10<sup>4</sup> to 10<sup>6</sup> OB/ml, 14 days after start of the trial, was calculated and used for prediction of percentage of resistant individuals in the collected population. The mortality was corrected after Abbott with the average mortality determined in the controls of all 14-day trials performed (mortality due to other reasons than virus). In general, the results from the bioassays were in accordance with the observations in the field. Most orchards from which the farmer reported failure of the CpGV treatment contained resistant codling moth populations. The percentage of resistant individuals in a population ranged roughly from 30 to 90 %. However, in some apparently susceptible populations there were also hints for the presence of a very small fraction of resistant individuals. Several of these European populations were tested for susceptibility to eight insecticides including different classes of insect growth regulators and neurotoxic compounds. High mortality was recorded to most insecticides, independent of resistance to CpGV. A reduced susceptibility to azinphos, diflubenzurone, and tebufenozide was recorded in several populations, virus-susceptible ones as well as virus-resistant. Overall, there was no indication for the occurrence of cross-resistance between CpGV and insecticides in the tested populations.

This study was funded by the EU, CRAFT project 32857; Further information can be found under [www.sustaincpgv.eu](http://www.sustaincpgv.eu)

151-Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Huber, J.

Julius Kühn-Institut, Institut für Biologischen Pflanzenschutz

### **Stabilität der Resistenz des Apfelwicklers gegenüber dem CpGV mit und ohne Selektionsdruck**

Stability of resistance of codling moth against CpGV with and without virus pressure

Für das im ökologischen Obstbau schon seit über einem Jahrzehnt mit großem Erfolg eingesetzte Apfelwickler-Granulovirus (CpGV-M) wurde erstmals 2004, im Rahmen eines Forschungs- und Entwicklungsprojektes des Bundesministeriums für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft (BMVEL), das vom Hopfenbauverein Immenstaad in Zusammenarbeit mit der Universität Hohenheim und dem Julius Kühn-Institut in Darmstadt durchgeführt wurde, eine Resistenz der Apfelwicklerlarven

nachgewiesen. Diese erwiesen sich als 1000-fach weniger anfällig für eine Virusinfektion als ein empfindlicher Apfelwickler-Laborstamm (Fritsch et al., 2005; Asser-Kaiser et al., 2007). Für Untersuchungen zur Stabilität dieser Resistenz wurde seit 2004 ein aus einer Problemanlage stammender Apfelwicklerstamm (BW-FI-03) in Zucht genommen. Die Folgegenerationen wurden mit und ohne Selektionsdruck gehalten und deren Empfindlichkeit regelmäßig überprüft.

**Method:** Der resistente Stamm BW-FI-03 wurde auf künstlichem Nährmedium nach Bathon (1981) über 4 Jahre (42 Generationen) gehalten. Für die Untersuchungen unter Selektionsdruck wurden Nachkommen dieses Stammes ab der 30. Generation auf virus-kontaminiertem Zuchtmedium ( $5 \times 10^3$  Granula/ml Medium = LC95 des empfindlichen Laborstammes DA) über 5 weitere Generationen gezüchtet. Die Empfindlichkeit jeder Generation wurde in Biotests mit Eilarven ermittelt. Aus den nach 14 Tagen registrierten Mortalitäten wurden die entsprechenden LC50-Werte berechnet.

**Stabilität der Resistenz ohne Selektionsdruck:** Der im Vergleich zum Referenzstamm 1000-fach resistere AW-Stamm BW-FI-03 zeigte über 32 Generationen (2,5 Jahre) keine signifikanten Veränderungen in seiner Resistenz. Erst ab dieser Generation setzte eine kontinuierliche Abnahme der Resistenz ein. Nach weiteren 10 Generationen (F42) waren die Apfelwickler-Larven nur noch um das 10-fache unempfindlicher als der Referenzstamm.

**Stabilität der Resistenz mit Selektionsdruck:** In zusätzlichen Untersuchungen, die mit der 30. Generation des resistenten Freilandstammes begannen, wurden die Tiere über 5 Generationen unter Virusdruck weitergezüchtet. Bereits bei der 1. Generation zeigte sich eine weitere Zunahme der Resistenz um etwa Faktor 10. Seit Beginn des Selektionsdruckes stieg die LC50 von  $10^6$  G/ml Medium bei der 5. Generation auf  $10^8$  G/ml Medium an. Dies entspricht einer bisher beobachteten maximalen Resistenz von Faktor 100.000. Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass durch den weiteren Einsatz des CpGV-M in Problemanlagen die Resistenzentwicklung innerhalb weniger Generationen weiter beschleunigt wird. Selbst bei einem Verzicht des Viruseinsatzes ist in einer resistenten AW-Population erst nach etwa 16 Jahren mit einer Abnahme der Resistenz zu rechnen. Auf der anderen Seite hat es sich gezeigt, dass die Resistenz der betroffenen Apfelwicklerpopulationen durch neue Isolate des CpGV wieder gebrochen werden kann. Seit 2006 werden neue Virus-Isolate getestet, die auch in resistenten Apfelwicklerpopulationen noch Wirkung zeigen. In diesem Jahr wurden bereits viel versprechende Feldversuche in Deutschland, Italien, Frankreich und in der Schweiz durchgeführt. So könnte aus den Forschungsergebnissen bald eine rasche Hilfe für die betroffenen Apfelbauern bereit stehen (Jehle et al., 2006).

#### Literatur

- |   |  |
|---|--|
| <p>Asser-Kaiser, S., Fritsch, E., Undorf-Spahn, K., Kienzle, J., Eberle, K. E., Gund, N. A., Reineke, A., Zebitz, C. P. W., Heckel, D. G., Huber, J., Jehle, J. A., 2007: Rapid emergence of baculovirus resistance in codling moth due to dominant, sex-linked inheritance. - Science, 317 (Iss. 5846), 1916-1918.</p> <p>Bathon, H., 1981: Zur Zucht des Apfelwicklers, <i>Laspeyresia pomonella</i> (L.) (Lep., Tortricidae), auf einem künstlichen Nährmedium. Mitt. Deut. Ges. allgem. angew. Entomol. 2, 136-140.</p> | <p>Fritsch, E.; Undorf-Spahn, K.; Kienzle, J.; Zebitz, P. W.; Huber, J., 2005: Apfelwickler-Granulovirus: Erste Hinweise auf Unterschiede in der Empfindlichkeit lokaler Apfelwickler-Populationen. - Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd., 57(2), 29-34.</p> <p>Jehle, J.A., Sayed, S.M., Wahl-Ermel, B., Eberle, K.E., 2006: Neues Granulovirus-Isolat. Bekämpfung von resistenten Apfelwicklerpopulationen möglich? - Obstbau, 31(6), 320-322.</p> |
|---|--|

152-Scheer, C.; Trautmann, M.  
Kompetenzzentrum Obstbau Bodensee

#### **Wirksamkeitsprüfung von Pheromonverwirrverfahren gegen den Apfelwickler *C. pomonella* (L.) und den Kleinen Fruchtwickler *G. lobarzewskii* (NOWICKI) in der Region Bodensee mit der Käfigmethode nach DOYE**

Efficacy trials of mating disruption against codling moth (*Cydia pomonella* L.) and apple seed moth (*Grapholita lobarzewskii* Nowicki) according to the method of DOYE

Der Frage nach der Effektivität von Pheromonverwirrverfahren geht die nach der Mindestabgaberate des Pheromondispensern voraus, die ausreicht um das Versprechen der Verwirrung: „Die Männchen finden die Weibchen nicht“ zu erfüllen. Die Werte für die Mindestabgaberate liegen für im Obstbau relevante Kleinschmetterlinge derzeit nicht vor. Die Mindestabgaberate von Dispensern zur Regulierung der wichtigsten Kleinschmetterlinge in Reben wurde von DOYE bestimmt. Diese Methode wurde am KOB