

Tritrophische Interaktionen zwischen transgenem,
insektenresistentem *Bacillus thuringiensis*-Mais, dem
Herbivoren *Chilo partellus* (Lepidoptera: Crambidae) und
dem Parasitoiden *Cotesia flavipes* (Hymenoptera:
Braconidae)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Fakultät Biologie, Chemie und Geowissenschaften
der Universität Bayreuth

Lehrstuhl für Tierökologie II
(Prof. Dr. K. Dettner)

vorgelegt von
Gernot Prütz
aus Kiel

Bayreuth, Februar 2004

Die vorliegende Arbeit wurde erstellt am Lehrstuhl für Tierökologie II
der Universität Bayreuth unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. K. Dettner
und entstand im Zeitraum von April 1999 bis Februar 2004.

1. Gutachter: Prof. Dr. K. Dettner
2. Gutachter: Prof. Dr. H. Zwölfer
Tag der mündlichen Prüfung: 19.07.2004

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG	1
2 MATERIAL UND METHODEN	5
2.1 Das untersuchte tritrophische System.....	5
2.1.1 <i>B.t.</i> -Mais	5
2.1.2 <i>Chilo partellus</i>	5
2.1.3 <i>Cotesia flavipes</i>	7
2.2 Haltung und Zucht der Organismen.....	8
2.2.1 Mais	8
2.2.2 <i>Chilo partellus</i>	8
2.2.3 <i>Cotesia flavipes</i>	9
2.3 Definition der gemessenen Parameter.....	10
2.3.1 Mortalität und Verpuppung von <i>C. partellus</i>	10
2.3.2 Die Ermittlung der Verdauungsparameter nach WALDBAUER (1968) bei <i>C. partellus</i>	10
2.3.3 Life-history parameter von <i>C. flavipes</i>	12
2.4 Statistische Auswertung und grafische Darstellung	14
2.5 Durchgeführte Versuche	17
2.5.1 Biotests zur Wirkung von <i>B.t.</i> -Mais auf nicht parasitierte <i>Chilo partellus</i> -Larven	18
2.5.1.1 Wirkung von Kontrollmaisblättern mit verschieden stark konzentrierten <i>B.t.</i> -Maisblatt-Suspensionen auf ältere Larvalstadien von <i>C. partellus</i>	18
2.5.1.2 Einfluss des Wasserverlusts der Nahrung auf die zeitlichen Änderungen der Verdauungsparameter älterer Larvalstadien von <i>C. partellus</i> auf Kontrollmaisblättern mit Kontrollmais-Suspension	19
2.5.1.3 Wirkung von Kontrollmaisblättern mit <i>B.t.</i> -Maisblatt-Suspension auf junge Larvalstadien von <i>C. partellus</i>	20
2.5.1.4 Wirkung von Kontrollmaisstängeln mit verschieden stark konzentrierten <i>B.t.</i> -Maisblatt-Suspensionen auf ältere Larvalstadien von <i>C. partellus</i>	20
2.5.2 Biotest zum Einfluss des Futters (Kontrollmais-Stängel versus -Blätter) auf die Entwicklung parasitierter <i>Chilo partellus</i> -Larven und seines Parasitoiden <i>Cotesia flavipes</i>	22
2.5.3 Biotests zur Wirkung von <i>B.t.</i> -Mais auf parasitierte <i>Chilo partellus</i> -Larven und <i>Cotesia flavipes</i>	23
2.5.3.1 Biotests mit optimierter <i>B.t.</i> -Maisblatt-Suspension auf Kontrollmaisblättern, parasitierten <i>Chilo partellus</i> -Larven und <i>Cotesia flavipes</i>	23
2.5.3.2 Biotest mit optimierter <i>B.t.</i> -Maisblatt-Suspension in Kontrollmais-Stängeln, parasitierten <i>Chilo partellus</i> -Larven und <i>Cotesia flavipes</i>	24
3 ERGEBNISSE	28
3.1 Biotests zur Wirkung von <i>B.t.</i>-Mais auf nicht parasitierte <i>Chilo partellus</i>-Larven	29
3.1.1 Wirkung von Kontrollmaisblättern mit verschieden stark konzentrierten <i>B.t.</i> -Maisblatt-Suspensionen auf höhere Larvalstadien von <i>C. partellus</i>	29
3.1.1.1 Mortalität an Tag 1-2 (Konzentrationen 50 µg Mais / mg Nahrung; 12,5 µg Mais / mg Nahrung) bzw. Tag 1-4 (5 µg Mais / mg Nahrung; 2,5 µg Mais / mg Nahrung).....	29
3.1.1.2 Verdauungsparameter an Tag 1-2 (Konzentrationen 50 µg Mais / mg Nahrung; 12,5 µg Mais / mg Nahrung) bzw. Tag 1-4 (5 µg Mais / mg Nahrung; 2,5 µg Mais / mg Nahrung).....	29
3.1.1.3 Mortalität an Tag 4-8 (Konzentration 2,5 µg Mais / mg Nahrung).....	38
3.1.1.4 Verdauungsparameter an Tag 4-8 (Konzentration 2,5 µg Mais / mg Nahrung)	38
3.1.2 Einfluss des Wasserverlusts der Nahrung auf die zeitlichen Änderungen der Verdauungsparameter älterer Larvalstadien von <i>C. partellus</i> auf Kontrollmaisblättern mit Kontrollmais-Suspension.....	41
3.1.3 Wirkung von Kontrollmaisblättern mit <i>B.t.</i> -Maisblatt-Suspension auf junge Larvalstadien von <i>C. partellus</i>	44
3.1.4 Wirkung von Kontrollmaisstängeln mit verschieden stark konzentrierten <i>B.t.</i> -Maisblatt-Suspensionen auf ältere Larvalstadien von <i>C. partellus</i>	47

3.1.5 Vergleich der Verdauungsparameter 1 mg schwerer, 15-33 mg schwerer und 40-70 mg schwerer <i>C. partellus</i> -Larven in der Kontrolle.....	53
3.1.6 Vergleich der bei verschiedenen <i>B.t.</i> -Mais-Konzentrationen aufgenommenen <i>B.t.</i> -Mais-Mengen.....	56
3.2 Biotest zum Einfluss des Futters (Kontrollmais-Stängel versus -Blätter) auf die Entwicklung parasitierter <i>Chilo partellus</i>-Larven und des Parasitoids <i>Cotesia flavipes</i>	57
3.3 Biotests zur Wirkung von <i>B.t.</i>-Mais auf parasitierte <i>Chilo partellus</i>-Larven und <i>Cotesia flavipes</i>	62
3.3.1 Biotests mit optimierter <i>B.t.</i> -Maisblatt-Suspension auf Kontrollmaisblättern, parasitierten <i>Chilo partellus</i> -Larven und <i>Cotesia flavipes</i>	62
3.3.2 Biotest mit <i>B.t.</i> -Maisblatt-Suspension in Kontrollmais-Stängeln, parasitierten <i>Chilo partellus</i> -Larven und <i>Cotesia flavipes</i>	70
3.3.2.1 <i>Chilo partellus</i>	70
3.3.2.2 „Life history“ Parameter des Parasitoids <i>Cotesia flavipes</i>	77
3.3.2.3 Korrelationen zwischen Nahrungsaufnahme des Herbivoren und Entwicklungsparametern der Parasitoide.....	81
4 DISKUSSION	84
4.1 Messung von Frisch- versus Trockengewichten.....	85
4.2 Methodische Probleme bei der Messung der Verdauungsparameter	86
4.3 Nicht parasitierte <i>Chilo partellus</i>-Larven verschiedenen Alters auf Blatt- und Stängelfutter mit verschiedenen <i>B.t.</i>-Mais-Konzentrationen.....	88
4.3.1 Mortalität nicht parasitierter <i>C. partellus</i> -Larven.....	88
4.3.2 Gegenüber der Kontrolle verringerte Nahrungsaufnahme und „Relative Consumption Rate“ (RCR) in der <i>B.t.</i> -Gruppe bei Stängel- und Blattfutter.....	89
4.3.3 Gegenüber der Kontrolle verringerte Gewichtsdiﬀerenz und „Relative Growth Rate“ (RGR) in der <i>B.t.</i> -Gruppe bei Stängel- und Blattfutter.....	90
4.3.4 Gegenüber der Kontrolle verringerte „Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter“ (ECD) in der <i>B.t.</i> -Gruppe bei Stängel- und Blattfutter	91
4.3.5 „Approximate Digestibility“ (AD): unterschiedliches Verhalten je nach <i>B.t.</i> -Konzentration und Futterart	91
4.3.6 Gegenüber der Kontrolle verringerte „Efficiency of Conversion of Ingested Food into Body Matter“ (ECI) in der <i>B.t.</i> -Gruppe bei Stängel- und Blattfutter	93
4.3.7 Problematik der Interpretation der vorliegenden Korrelationen zwischen Nahrungsaufnahme, „Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter“ (ECD) und Gewichtsdiﬀerenz	93
4.3.8 Vergleich mit anderen Studien	94
4.3.9 Verdauungsparameter älterer Larvalstadien auf Blatt- und Stängelfutter an Tag 5-8 in der Kontrolle	95
4.3.10 Einfluss des Wasserverlusts der Nahrung auf die zeitlichen Änderungen der Verdauungsparameter älterer Larvalstadien von <i>C. partellus</i> auf Kontrollmaisblättern mit Kontrollmais-Suspension.....	96
4.3.11 Vergleich der Verdauungsparameter 1 mg schwerer, 15-33 mg schwerer und 40-70 mg schwerer <i>C. partellus</i> -Larven in der Kontrolle.....	98
4.3.12 Vergleich der aufgenommenen <i>B.t.</i> -Mais-Mengen bei verschiedenen <i>B.t.</i> -Mais-Konzentrationen.....	98
4.3.13 Schlussbemerkung und Zusammenfassung: Messung von Verdauungsparametern bei <i>C. partellus</i> nach Aufnahme von <i>B.t.</i> -Mais.....	99
4.4 Biotest zum Einfluss des Futters (Kontrollmais-Stängel versus -Blätter) auf die Entwicklung parasitierter <i>Chilo partellus</i>-Larven und des Parasitoids <i>Cotesia flavipes</i>	100
4.5 Biotests mit optimierter <i>B.t.</i>-Maisblatt-Suspension auf Kontrollmaisblättern, parasitierten <i>Chilo partellus</i>-Larven und <i>Cotesia flavipes</i>	101
4.6 Biotest mit <i>B.t.</i>-Maisblatt-Suspension in Kontrollmais-Stängeln, parasitierten <i>Chilo partellus</i>-Larven und <i>Cotesia flavipes</i>	103
4.6.1 <i>Chilo partellus</i>	103
4.6.1.1 Ausreißer.....	103
4.6.1.2 Verdauungsparameter des parasitierten Herbivoren	104
4.6.2 „Life history Parameter“ von <i>C. flavipes</i>	106

4.6.2.1 Vergleich der „life history Parameter“ des Parasitoids in der Kontrollgruppe mit anderen Studien zur Entwicklung von <i>Cotesia flavipes</i> in <i>Chilo partellus</i>	106
C. partellus	106
4.6.2.2 Unterschiedliche wirtsvermittelte Effekte auf Parasitoide in verschiedenen tritrophischen Systemen	107
4.6.2.3 Gewicht erfolgreich parasitierter Wirte.....	109
4.6.2.4 Mortalität, Verpuppung und erfolgreiche Parasitierung der Wirte.....	109
4.6.2.5 Gewicht von Spinnseide, Puppen, Kokons und adulten Parasitoiden	110
4.6.3 Korrelationen zwischen vom Wirt aufgenommener Nahrungsmenge und „life history Parametern“ von <i>Cotesia flavipes</i>	110
4.7 Direkte oder indirekte Wirkung des δ-Endotoxins auf <i>Cotesia flavipes</i>?.....	111
4.8 Von der Wirkung mikrobieller <i>B.t.</i>-Präparate kann nicht auf die Wirkung transgener <i>B.t.</i>-Pflanzen geschlossen werden	114
4.9 Weiterer Forschungsbedarf zur Wirkung von <i>B.t.</i>-Mais auf Parasitoide.....	115
4.10 Freilandrelevanz der vorliegenden Studie	116
4.11 Die vorliegende Studie als Modell für die Untersuchung der Wirkung transgener insektenresistenter Pflanzen auf Herbivore, deren Parasitoide und Räuber	118
5 ZUSAMMENFASSUNG.....	120
6 SUMMARY	122
7 LITERATUR	124
Dank	139

1 EINLEITUNG

Die weltweite Anbaufläche transgener Pflanzen hat sich vom Jahr 1996 bis zum Jahr 2003 um das 40fache erhöht, und zwar von 1,7 Millionen Hektar auf 67,7 Millionen Hektar (JAMES 2003). 73% dieser Fläche wurden im Jahr 2003 von herbizidresistenten Pflanzen, weitere 18% von insektenresistenten *Bacillus thuringiensis*-Pflanzen („*B.t.*-Pflanzen“) eingenommen. *B.t.*-Pflanzen wurden mit einem Gen des ubiquitären Bodenbakteriums *Bacillus thuringiensis* transformiert, das für ein insektizides Protein, das δ -Endotoxin, kodiert (KOZIEL et al. 1993). Die transformierten Pflanzen synthetisieren das δ -Endotoxin konstitutiv in verschiedenen Geweben und sind somit in der Lage, sich je nach Art des δ -Endotoxins beispielsweise gegen phytophage Lepidopterenlarven oder gegen den Kartoffelkäfer *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) zu schützen (SHELTON et al. 2002). An *B.t.*-Pflanzen wurde vor allem *B.t.*-Mais angebaut, und zwar auf einer Fläche von weltweit 9,1 Millionen Hektar im Jahr 2003 (JAMES 2003).

Die Erforschung der möglichen ökologischen Risiken und des Nutzens von *B.t.*-Pflanzen hat zahlreiche Facetten: So wird diskutiert, ob das ins pflanzliche Genom eingefügte δ -Endotoxin-Gen über horizontalen Gentransfer in das Genom von Mikroorganismen gelangen kann, wie wahrscheinlich die Entstehung von Resistenzen phytophager Insekten gegenüber dem δ -Endotoxin ist und inwiefern der Pestizideinsatz durch den Anbau von *B.t.*-Pflanzen verringert bzw. der Ertrag erhöht wird. Weitere Diskussionspunkte sind die Übertragung des δ -Endotoxin-Gens über Auskreuzung auf verwandte Wildpflanzen und der gegenüber Kontrollpflanzen verringerte Gehalt des Pilztoxins Fumonisin im *B.t.*-Mais (HAILS 2000; SHELTON et al. 2002; CONNER et al. 2003). Fumonisin wird von Pilzen der Gattung *Fusarium* gebildet, die sich in von Lepidopteren-Larven befallenen Pflanzen entwickeln, und kann auf Pferde tödlich wirken bzw. bei Menschen Krebs verursachen (BETZ et al. 2000).

Die vorliegende Arbeit soll einen Beitrag zu der Frage leisten, wie *B.t.*-Pflanzen auf Herbivore und deren Parasitoide wirken. Die Erforschung der Wirkung transgener Pflanzen auf Nichtzielorganismen wie Prädatoren und Parasitoide ist von Bedeutung, denn entomophage Arthropoden können eine wichtige Rolle bei der Kontrolle von Schädlingen spielen (ORR und SUH 1999; DUTTON et al. 2003; ZWÖLFER 2003).

Nichtzielorganismen können mit dem δ -Endotoxin auf verschiedenen Wegen in Kontakt kommen:

1. δ -Endotoxin wird von *B.t.*-Mais-Wurzeln in den Boden abgegeben (SAXENA et al. 1999; SAXENA und STOTZKY 2000; SAXENA et al. 2002). Dies bestätigt sich jedoch nicht für *B.t.*-Baumwolle (HEAD et al. 2002).

2. Verrottendes *B.t.*-Pflanzenmaterial setzt δ -Endotoxin frei, das im Boden je nach experimentellen Bedingungen für unterschiedliche Zeiträume nachweisbar ist (SIMS und HOLDEN 1996; PALM et al. 1996; SHELTON et al. 2002; ZWAHLEN et al. 2003a). Bisher konnten keine gravierenden negativen Effekte auf verschiedene Bodenorganismen wie *Folsomia candida* (Collembola: Isotomidae), *Oppia nitens* (Acari: Orbatidae), *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta: Lumbricidae), Nematoden, verschiedene Arten von Bakterien, Protozoen und Actinomyceten nachgewiesen werden (DONEGAN et al. 1995; YU et al. 1997; SAXENA und STOTZKY 2001a). Allerdings wurde in einer Langzeitstudie (ZWAHLEN et al. 2003b) ein Gewichtsverlust von *L. terrestris* beobachtet, wenn dieser in Erde mit verrottendem *B.t.*-Pflanzenmaterial lebte.

3. *B.t.*-Mais der genetischen Linie „Event 176“ des Unternehmens Syngenta (Basel, Schweiz) synthetisiert das δ -Endotoxin im Pollen (FEARING et al. 1997). *B.t.*-haltiger Pollen kann beispielsweise von Bienen oder auch Spinnen aufgenommen werden, in deren Netzen er haften bleibt. Ferner kann er vom Wind auf Wirtspflanzen phytophager Insekten verdriftet werden. Bisher wurden keine Beeinträchtigungen von Bienen oder Spinnen festgestellt (MALONE und PHAM-DELÈGUE 2001; LUDY et al. 2003). Bei Larven von *Danaus plexippus* (Lepidoptera: Danaidae) dagegen wurde im Labor und im Freiland eine gegenüber der Kontrolle erhöhte Mortalität festgestellt (LOSEY et al. 1999; HANSEN-JESSE und OBRYCKI 2000). Umfangreiche Risikoabschätzungen ergaben jedoch, dass im Freiland letztlich nur geringe Beeinträchtigungen von *D. plexippus* zu erwarten sind, zumal die Anbaufläche von Event 176 in den USA im Jahr 2001 nur 2% der Gesamtanbaufläche an Mais betrug (HELLMICH et al. 2001; GATEHOUSE et al. 2002). Weitere Studien ergaben keine Beeinträchtigungen von Larven der Arten *Papilio troilus*, *Papilio glaucus* und *Papilio polyxenes* (Lepidoptera: Papilionidae) (WRIGHT et al. 2000; SCRIBER 2001).

4. Verschiedene phytophage Nichtzielorganismen sind Pflanzensaftsauger an *B.t.*-Pflanzen, beispielsweise Aphiden und Zikaden. Verschiedene Fitness-Parameter von *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae) und *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae), das Stechverhalten von *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) sowie die Anzahl an *Myzus persicae*-Individuen pro Pflanze waren in Kontrolle und *B.t.*-Gruppe nicht signifikant unterschiedlich (SHIEH et al. 1994; LOZZIA et al. 1998; SCHULER et al. 2001; BERNAL et al. 2002a). Dagegen waren bei *Myzus euphorbiae* (Homoptera: Aphididae) Gewicht und Anzahl an Nachkommen gegenüber der Kontrolle signifikant reduziert (ASHOURI et al. 2001a).

5. Zikaden scheiden Honigtau aus, der das δ -Endotoxin enthalten kann (BERNAL et al. 2002a). Dieser kann von verschiedenen Nichtzielorganismen aufgenommen werden (ZOEBELEIN 1956; WAY 1963).

6. Wirtsvermittelte Effekte auf Prädatoren. Laborversuche zur Wirkung von *B.t.*-Pflanzen auf Räuber wurden häufig mit Larven der Florfliege *Chrysoperla carnea* (Neuroptera:

Chrysopidae) durchgeführt, darüber hinaus hauptsächlich mit Coleopteren und Heteropteren; als Futter dienten vor allem Lepidopteren-Larven verschiedener Familien sowie Aphiden (Homoptera), Tetranychiden (Acarina) und Thripiden (Thysanoptera). Freilandversuche bestanden in Messungen der Abundanzen von Prädatoren in *B.t.*-Pflanzen-Feldern und Kontrollpflanzen-Feldern. Bisher wurde im Laborversuch eine Beeinträchtigung der Larven von *Chrysoperla carnea* (HILBECK et al. 1998a) und im Freiland eine gegenüber der Kontrolle geringere Abundanz von *Lebia grandis* festgestellt (Coleoptera: Carabidae) (RIDDICK et al. 1998). In zahlreichen weiteren Studien ergaben sich keine Beeinträchtigungen (MEIER und HILBECK 2001; siehe Übersichtsarbeiten von SCHULER et al. 1999 und von GROOT und DICKE 2002; DUTTON et al. 2003).

7. Wirtsvermittelte Effekte auf Parasitoide. Verglichen mit der Literatur über die wirtsvermittelten Effekte von *B.t.*-Pflanzen auf Prädatoren wurden nur wenige Studien veröffentlicht. In einigen Labor- und Freilandstudien befassten sich JOHNSON und GOULD (1992), JOHNSON (1997) und JOHNSON et al. (1997) mit tritrophischen Interaktionen zwischen *B.t.*-Tabak, *B.t.*-empfindlichen und *B.t.*-resistenten *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) und den Parasitoiden *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae) und *Cardiochiles nigriceps* (Hymenoptera: Braconidae). Während JOHNSON und GOULD (1992) eine gegenüber der Kontrolle erhöhte Rate an *H. virescens* fanden, die an *B.t.*-Tabak fraßen und von *C. sonorensis* parasitiert wurden, stellten JOHNSON (1997) und JOHNSON et al. (1997) eine gegenüber der Kontrolle erniedrigte Parasitierungsrate fest. Diese unterschiedlichen Ergebnisse sind möglicherweise durch die zwischen den Experimenten variierenden Zeitspannen zu erklären, die den Parasitoiden zur Eiablage zur Verfügung standen.

Vor kurzem wurden einige Laborstudien veröffentlicht, die sowohl den Wirt als auch den Parasitoid genauer untersuchen (ASHOURI et al. 2001a; ASHOURI et al. 2001b; BERNAL et al. 2002b; BAUR und BOETHEL 2003). Die Nahrungsaufnahme des Wirtes wurde dabei von BAUR und BOETHEL (2003) erfasst. Die Ergebnisse dieser Studien fallen unterschiedlich aus: So beobachteten ASHOURI et al. (2001b) ein gegenüber der Kontrolle verringertes Trockengewicht adulter *Aphidius nigripes* (Hymenoptera: Braconidae), während die Entwicklungszeit des Parasitoiden in beiden Gruppen ähnlich war. Demgegenüber fanden BERNAL et al. (2002b) eine im Vergleich zur Kontrolle längere Entwicklungsdauer von *Parallorhogas pyralophagus* (Hymenoptera: Braconidae) und keine Änderung in der Anzahl an Eiern in den Ovarien adulter Parasitoidenweibchen. BAUER und BOETHEL (2003) zählten dagegen gegenüber der Kontrolle weniger Eier im Uterus von *Cotesia marginiventris*-Weibchen (Hymenoptera: Braconidae) und fanden ebenfalls keine Änderung in der Entwicklungsdauer. Die Unterschiede zwischen diesen Laborstudien sind möglicherweise darauf zurückzuführen, dass unterschiedliche tritrophische Systeme untersucht wurden.

Die vorliegende Arbeit wurde mit dem Ziel begonnen, experimentelle Protokolle zu erarbeiten, die eine möglichst eindeutige Interpretation erlauben, wie *B.t.*-Pflanzen auf phytophage Zielinsekten und deren Parasitoide wirken. Als tritrophisches Modellsystem dienten dabei *B.t.*-Mais (Event 176) des Schweizer Unternehmens Syngenta, die phytophagen Larven des Lepidopteren *Chilo partellus* (Lepidoptera: Crambidae) und dessen gregärer koinobionter larvaler Endoparasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). Event 176 synthetisiert ein gegen Lepidopteren-Larven wirksames, verkürztes *B.t.*-Toxin (KOZIEL et al. 1993), *C. partellus* ist ein in Asien und Afrika vorkommender Getreideschädling und *C. flavipes* wurde in Kenia zu dessen Bekämpfung eingeführt (KFIR et al. 2002). *C. partellus* ist daher Zielinsekt, während *C. flavipes* Nichtzielinsekt ist.

Larvalparasitoide entwickeln sich im Unterschied zu Eiparasitoiden in Wirten, die Nahrung aufgenommen haben. Ist der Wirt von einem koinobionten Parasitoid befallen, so nimmt er auch während der Parasitierung Nahrung auf. Daher könnte das in Maispflanzen vorhandene *B.t.*-Toxin eine über den Wirt *C. partellus* vermittelte Wirkung auf die Entwicklung von *C. flavipes* ausüben.

Folgende Experimente und Analysen waren vorgesehen:

1. Da δ -Endotoxine Zellen des Mitteldarmepithels schädigen, die für Enzymsekretion und Nahrungsresorption wichtig sind (BOUCIAS und PENDLAND 1998), sollten die Verdauungsparameter nach WALDBAUER (1968) von *Chilo partellus*-Larven berechnet werden, die *B.t.*-Pflanzenmaterial aufgenommen hatten. Diese Parameter erlauben Aufschluss darüber, wie viel Nahrung vom Herbivoren aufgenommen, welcher Prozentsatz der aufgenommenen Nahrung verdaut und welcher Anteil der verdauten Nahrung in Körpermasse umgesetzt wurde. Verdauungsparameter wurden von nicht parasitierten und parasitierten *C. partellus*-Larven verschiedener Stadien ermittelt, die teils auf Blatt- und teils auf Stängelfutter gehalten wurden.
2. Es sollte im Biotest untersucht werden, ob und welche life history-Parameter der Parasitoiden *C. flavipes* gegenüber der Kontrolle verändert wurden, wenn der Wirt *C. partellus* während der Parasitierung *B.t.*-Pflanzenmaterial aufnahm.
3. Es sollte erfasst werden, inwiefern die Nahrungsverwertung des Wirtes die life history der Parasitoiden beeinflusste. Dabei sollten wirtsvermittelte *B.t.*-Mais-Effekte auf das Eiablageverhalten des Parasitoidweibchens ausgeschlossen werden. Da Parasitoidweibchen unter Umständen zwischen „*B.t.*-Wirten“ und „Kontroll-Wirten“ unterscheiden können (WESELOH und ANDREADIS 1982; ERB et al. 2001; SCHOENMAKER et al. 2001), wurden die Wirte erst nach der Eiablage alternativ mit *B.t.*- oder Kontrollmais gefüttert.
4. Über SDS-PAGE und Western Blot sollte ein möglicher δ -Endotoxin-Titer in verschiedenen Herbivoren- und Parasitoidkompartimenten bestimmt werden.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Das untersuchte tritrophische System

2.1.1 *B.t.*-Mais

Als *B.t.*-Mais (*Zea mays* L. [Poaceae]) (Abb. 1) wurde die genetische Zuchtlinie „Event 176“, Sorte „Navares“, des Unternehmens Syngenta (Basel, Schweiz) verwendet, als Kontrolle diente die Sorte „Antares“, deren Genom zu etwa 99% mit „Navares“ übereinstimmt (AHL-GOY, persönliche Mitteilung). Event 176 enthält ein verkürztes Cry1Ab-Gen (siehe YAMAMOTO 2001 zur Toxin-Nomenklatur) unter der Kontrolle eines Phosphoenolpyruvatcarboxylase-Promotors, der in grünem Gewebe aktiv ist, und eines Pollen-spezifischen Promotors. (KOZIEL et al. 1993; FEARING et al. 1997). Cry1 Proteine sind gegen Lepidopteren-Larven wirksam (RYAN 2002). Maisembryonen wurden mit 2 Plasmiden transformiert, die auch das 35S/bar-Gen enthielten (Herbizidresistenz als Marker) sowie das amp-Gen (Ampicillin-Resistenz). Der *B.t.*- δ -Endotoxin-Titer liegt in Pollen und Blättern bei etwa 1 μg / g Frischgewicht, das Toxin ist jedoch in Wurzeln, Mark des Stängels und in Körnern nicht nachweisbar. Der *B.t.*- δ -Endotoxin-Titer erreicht sein Maximum im 5-6 Blatt-Stadium bzw. zur Pollenreife (FEARING et al. 1997).

2.1.2 *Chilo partellus*

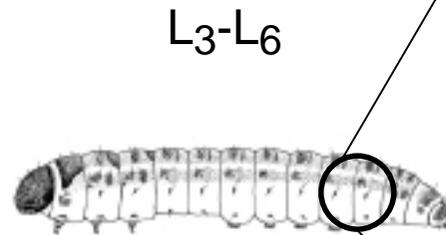
Chilo partellus Swinhoe (Lepidoptera: Crambidae), der gesprenkelte Stängelbohrer (Abb. 1), kommt ursprünglich aus dem asiatischen Raum und wurde das erste Mal um 1930 in Malawi, Afrika, gefunden. Heute umfasst sein Verbreitungsgebiet in Afrika unter anderem Äthiopien, Sudan, Somalia, Kenia, Tansania, Uganda, Mosambik, Südafrika, Swasiland, Lesotho, Simbabwe, Malawi und Botswana (KFIR et al. 2002). *C. partellus* frisst an angebauten Futterpflanzen hauptsächlich Mais und Hirse (KFIR et al. 2002). Er gilt in Afrika als einer der wirtschaftlich bedeutendsten Getreideschädlinge, der die Ernte um bis zu 73% verringern kann (OVERHOLT et al. 1997). *C. partellus* hat in Ostafrika viele natürliche Feinde, darunter Ei-, Larval-, und Pupalparasitoide. Unter den Hymenopteren finden sich verschiedene Vertreter der Bethyridae, Braconidae, Chalcididae, Eulophidae, Ichneumonidae und Pteromalidae. Sie alle sind zusammen mit den Räufern jedoch nicht in der Lage, *C. partellus*-Populationen wirksam zu dezimieren (BONHOF et al. 1997). Allerdings wäre der

1. trophische Ebene:
Pflanze



B.t.-Mais
(Event 176)

2. trophische Ebene:
Herbivor



1 cm

Chilo partellus
(Lepidoptera:
Crambidae)

3. trophische Ebene:
larvaler, gregärer, koinobionter
Endoparasitoid



L1

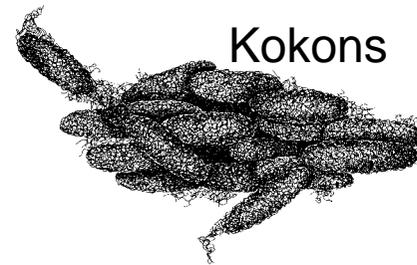


L2



L3

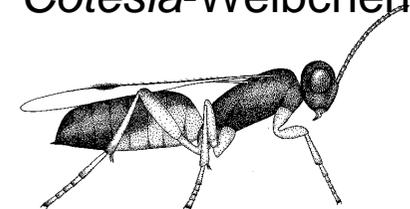
Cotesia flavipes
(Hymenoptera:
Braconidae)



Kokons

1 cm

Cotesia-Weibchen



1 mm

Abbildung 1: das tritrophische System *B.t.*-Mais, *Chilo partellus* und *Cotesia flavipes*. *C. flavipes* parasitiert erfolgreich Stadium L3-L6 von *C. partellus* und durchläuft selbst drei Larvalstadien, bevor die Parasitoidlarven sich außerhalb des Wirts verpuppen.

durch *Chilo partellus* verursachte wirtschaftliche Schaden ohne dessen natürliche Feinde wahrscheinlich noch höher (KFIR 2002).

Seine Larvalentwicklung umfasst 6 Stadien, selten 7, von denen die ersten 5 bei 26°C und 65% relativer Luftfeuchte jeweils etwa 4 Tage dauern (OCHIENG-ODERO et al. 1994). Während der ersten 1-2 Wochen frisst *C. partellus* noch ektophytisch an den Blättern, um sich anschließend in den Stängel einzubohren (BERGER 1992; BERGER 1994; KUMAR 1997). L6 dauert für die Weibchen etwa 8 Tage, für Männchen etwas kürzer, und beginnt mit einer „Fressphase“, in der noch Nahrung aufgenommen wird, gefolgt von einer Ruhephase (OCHIENG-ODERO et al. 1994). Nach einer Puppenruhe von etwa 8 Tagen schlüpfen die Adulten. Die Weibchen legen meist in der 2. Nacht insgesamt mehrere hundert Eier ab, aus denen nach 5 Tagen die L1-Larven schlüpfen. Ein kompletter Entwicklungszyklus dauert also für ein Weibchen bei 26°C etwa 43 Tage.

Für die vorliegende Arbeit standen dem Lehrstuhl für Tierökologie II, Universität Bayreuth, im Mai 1999 bzw. Oktober 2000 als Zuchtansatz etwa 500 L3- und L4-Larven auf Kunstfutter vom International Center of Insect Physiology and Ecology (ICIPE), Nairobi, Kenia, zur Verfügung.

2.1.3 *Cotesia flavipes*

Cotesia flavipes (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae) (Abb. 1) stammt aus dem indo-australischen Raum (OVERHOLT et al. 1997) und wurde inzwischen in über 40 verschiedenen Ländern der Tropen und Subtropen eingeführt (KFIR et al. 2002), um dort hauptsächlich Lepidopterenlarven der Gattungen *Chilo* und *Diatraea* zu bekämpfen. 1991 wurde vom International Center of Insect Physiology und Ecology (ICIPE), Nairobi, Kenia, der Versuch unternommen, *C. flavipes* in Kenia zur Bekämpfung von *C. partellus* einzuführen (OVERHOLT et al. 1997), offenbar mit Erfolg: Inzwischen wurde die *C. partellus*-Dichte im Küstenbereich Kenias von *C. flavipes* um ca. 32-55% reduziert (KFIR et al. 2002). In Afrika wurden insgesamt drei Lepidopteren-Wirte gefunden (OVERHOLT et al. 1997): neben *C. partellus* noch *Chilo orichalcociliellus* und *Sesamia calamistis* (Lepidoptera: Noctuidae).

C. flavipes ist ein gregärer larvaler koinobionter Endoparasitoid, d.h. es entwickeln sich mehrere Parasitoidlarven im Innern einer Wirtslarve, während der Wirt Nahrung aufnimmt und sich weiterentwickelt (QUICKE 1997). Der Parasitoid befällt vor allem die Larvalstadien 3-6 des Wirtes (NGI-SONG et al. 1995) und durchläuft selbst 3 Larvalstadien, bevor er das Integument des Wirtes durchbricht, sich außen verpuppt und dabei Kokons bildet (MOUTIA 1952; KAJITA und DRAKE 1969). Die Gesamtdauer der Larvalentwicklung beträgt bei 27 °C etwa 10 Tage, des Pupariums ca. 5 Tage. Die Adulten leben nur wenige Tage. Ihre

Lebensdauer hängt entscheidend von dem Nahrungsangebot, der Temperatur und der Luftfeuchte ab (KAJITA und DRAKE 1969; MOHYUDDIN 1971; POTTING et al. 1997b).

Für die vorliegende Studie wurden vom Lehrstuhl für Tierökologie II, Universität Bayreuth, im November 2000 mehrere hundert *C. flavipes*-Kokons als Zuchtansatz vom International Center of Insect Physiology and Ecology (ICIPE), Nairobi, Kenia, erworben.

2.2 Haltung und Zucht der Organismen

2.2.1 Mais

Die *B.t.*-Maissorte „Navares“ und die nicht transgene Maissorte „Antares“ wurden im S1-Gewächshaus bei 20 ± 3 °C und einer relativen Luftfeuchte von etwa 60% gezogen. Nur im Winter wurden sie von 6 - 20 h mit Kunstlicht (10.000 lumen / m²) bestrahlt. Maispflanzen wurden einzeln in 9 x 9 x 9,5 cm großen Töpfen in einem Substrat aus Lauberde, Bims, Lava, Löss und TKS 1 im Verhältnis 5 : 2 : 2 : 1 : 5,6 (v / v) kultiviert. Pro Liter Substrat wurden 2 g Osmocote hinzugegeben. TKS 1 ist ein Gemisch aus wenig bis mäßig zersetztem Hochmoortorf mit einem Salzgehalt von < 1,5 g / l. Osmocote enthält 16 % Stickstoff, 10 % Phosphat und 13 % Kaliumoxid.

2.2.2 *Chilo partellus*

Alle Entwicklungsstadien von *Chilo partellus* wurden bei 27 °C und 50-70 % relativer Luftfeuchtigkeit nach den Anweisungen von ODINDO und ONYANGO (1998) gehalten, sowie bei einem Hell-Dunkel-Zyklus von 12h zu 12h. *C. partellus*-Larven der Erhaltungszucht wurden ausschließlich auf Maispflanzen der Sorte „Antares“ gehalten. Für die Experimente bestimmte Larven wurden ebenfalls vor Beginn der Fraßversuche mit „Antares“ gefüttert.

Haltung der Adulten: Die Eiablage erfolgte in einem täglich befeuchteten Maschendrahtkäfig (40 cm L x 30 cm B x 40 cm H) auf gefaltetem Butterbrotpapier. Als Nahrungsquelle für die Adulten diente eine Petrischale mit Zellstoff, welcher mit 20%igem Zuckerwasser befeuchtet wurde.

Haltung der Eier: Aus dem Butterbrotpapier wurden die mit Eiern bedeckten Teile täglich herausgeschnitten. Schwärzlich verfärbte Eier („black head stage“; OCHIENG-ODERO et al. 1994) wurden in kleine Gefäße mit frischen Maisblättern gelegt.

Haltung der Larven auf Maisblättern bzw. -stängeln: Die ersten Larvalstadien (bis zum Alter von 10 Tagen) wurden mit Maisblättern, größere Larven (ab dem 10.-14. Tag) mit

Maisstängel-Stückchen gefüttert. Bis zu 200 L1-Larven wurden in einer Plastikbox (11 cm L x 7 cm B x 4 cm H) gehalten. Ab einem Alter von 10 – 14 Tagen wurden 20 Tiere pro Box gehalten. Raupengefäße und Nahrung wurden alle 2 Tage ausgewechselt.

Haltung der Puppen: Die Puppen wurden täglich aus dem Zuchtgefäß der Larven entfernt und in kleinere Gefäße ohne Nahrung überführt.

2.2.3 *Cotesia flavipes*

Adulte und Eiablage: Adulte wurden in einem täglich befeuchteten Käfig aus durchsichtigem Plexiglas (ca. 30 cm L x 30 cm B x 30 cm H) gehalten. Als Nahrungsquelle für die Adulten diente eine Petrischale mit Zellstoff, welcher mit 20%igem Honigwasser befeuchtet wurde. Frisch geschlüpfte Adulte wurden durch helles Licht (60 W) zur Paarung stimuliert. Die potentiellen Wirte (*Chilo partellus*-Larven) wurden mit einer Federstahlpinzette festgehalten und so den Parasitoiden einzeln angeboten (siehe „hand-stinging-method“ nach OVERHOLT et al. 1994). Auf diese Weise wurde Superparasitismus verhindert (POTTING et al. 1997a). Parasitierte Wirte wurden wie nicht parasitierte *C. partellus*-Larven gehalten.

Versorgung der Kokons: Nach ca. 9-10 Tagen verließen die Parasitoidlarven den Wirt und begannen Kokons zu spinnen. Dann wurde die Wirtslarve entfernt, die Kokonmasse vorsichtig vom Untergrund abgelöst und in ein sauberes Gefäß überführt.

Eiablage von *C. flavipes* in *C. partellus*-Larven im Rahmen der durchgeführten

Biotests: Es wurden nur *C. flavipes*-Weibchen ohne Eiablageerfahrung eingesetzt, denn die Anzahl der in den Wirt gelegten Eier verringert sich von Stich zu Stich (GIFFORD und MANN 1967; POTTING et al. 1997b). Erst nach der Eiablage wurden die Wirte alternativ mit *B.t.*- oder Kontrollmais gefüttert. Auf diese Weise wurde ein wirtsvermittelter *B.t.*-Effekt auf die Eiablage des Weibchens ausgeschlossen.

2.3 Definition der gemessenen Parameter

2.3.1 Mortalität und Verpuppung von *C. partellus*

Bei nicht parasitierten *C. partellus*-Larven wurde der Anteil toter *C. partellus*-Larven an allen nicht parasitierten *C. partellus*-Larven ermittelt und die Kontrolle mit der *B.t.*-Gruppe hinsichtlich der Mortalitätsrate verglichen. Bei parasitierten *C. partellus*-Larven wurde der Anteil derjenigen Wirte, der vor der Verpuppung der Parasitoidlarven starb, an allen parasitierten Wirten ermittelt.

Sofern sich parasitierte bzw. nicht parasitierte *C. partellus*-Larven verpuppten, wurde der Anteil verpuppter *C. partellus*-Larven an allen Larven der jeweiligen Gruppe angegeben.

2.3.2 Die Ermittlung der Verdauungsparameter nach WALDBAUER (1968) bei *C. partellus*

WALDBAUER (1968) definierte folgende Verdauungsparameter:

1. Consumption rate (CR)

CR = aufgenommene Nahrungsmenge / Zeitintervall

Es wurde die in einem bestimmten Zeitintervall (je nach Versuch 2 oder 4 Tage) aufgenommene Nahrungsmenge ermittelt. Die Gesamtmenge der während dieses Zeitintervalls aufgenommenen Nahrung wurde durch die Anzahl der Tage geteilt. Dadurch wurde die durchschnittlich pro Tag aufgenommene Nahrungsmenge während des Zeitintervalls bestimmt.

2. Relative consumption rate (RCR)

RCR = aufgenommene Nahrungsmenge / (Anfangsgewicht x Zeitintervall)

Es wurde die aufs Anfangsgewicht bezogene Nahrungsmenge in einem bestimmten Zeitintervall (je nach Versuch 2 oder 4 Tage) bestimmt. WALDBAUER (1968) berechnete die RCR dagegen mit dem mittleren Gewicht. Waldbauers Formel wurde für diese Arbeit nach FARRAR et al. (1989) und RAUBENHEIMER und SIMPSON (1992) modifiziert.

3. Gewichts Differenz

Gewichtsdifferenz = Gewicht (t_2) – Gewicht (t_1)

Es wurde die Differenz zwischen dem Gewicht am Ende (t_2) und am Anfang (t_1) eines bestimmten Zeitintervalls (je nach Versuch 2 oder 4 Tage) bestimmt. Nimmt das Tier an Gewicht zu, so ist der Wert positiv.

4. Relative growth rate (RGR)

$RGR = \text{Gewichtsdifferenz} / (\text{Anfangsgewicht} \times \text{Zeitintervall})$

Es wurde die aufs Anfangsgewicht bezogene Gewichtsdifferenz in einem bestimmten Zeitintervall (je nach Versuch 2 oder 4 Tage) bestimmt. WALDBAUER (1968) berechnete die RGR dagegen mit dem mittleren Gewicht. Waldbauers Formel wurde für diese Arbeit nach FARRAR et al. (1989) und RAUBENHEIMER und SIMPSON (1992) modifiziert.

5. Approximate digestibility (AD)

$AD = (\text{aufgenommene Nahrung} - \text{Kot}) / \text{aufgenommene Nahrung}$

Die AD ist ein Maß für den Anteil der aufgenommenen Nahrung, der auch verdaut wurde, denn die Differenz „aufgenommene Nahrung – Kot“ wird näherungsweise der verdauten Nahrung gleichgesetzt. Sofern Kot = 0, beträgt die AD 1. Wird keine Nahrung aufgenommen (aufgenommene Nahrung = 0), so ist die AD nicht definiert.

6. Efficiency of conversion of digested food into body matter (ECD)

$ECD = \text{Gewichtsdifferenz} / (\text{aufgenommene Nahrung} - \text{Kot})$

Die ECD ist ein Maß für den Anteil der verdauten Nahrung, der auch in Körpermasse umgesetzt wurde. Die Differenz „aufgenommene Nahrung – Kot“ wird näherungsweise der verdauten Nahrung gleichgesetzt (siehe AD). Sofern die Gewichtsdifferenz der Differenz „aufgenommene Nahrung – Kot“ entspricht, beträgt die ECD 1.

7. Efficiency of conversion of ingested food into body matter (ECI)

$ECI = \text{Gewichtsdifferenz} / \text{aufgenommene Nahrung}$

Die ECI ist ein Maß für den Anteil der aufgenommenen Nahrung, der letztlich in Körpermasse umgesetzt wurde. Sofern die Gewichtsdifferenz der aufgenommenen Nahrung entspricht, beträgt die ECI 1.

Bestimmung des Gewichtsverlusts der Nahrung

Es wurden ausschließlich Frischgewichte von Nahrung (Maisblatt- bzw. Maisstängel-Stückchen), Kot und *C. partellus*-Larven gemessen, weil die Verdauungsparameter in einigen Versuchen für mehrere aufeinanderfolgende Zeitintervalle bestimmt werden sollten. Nahrung verliert an Gewicht aufgrund von Atmung des Pflanzengewebes und/oder von

Verdunstung (WALDBAUER 1968; VAN LOON 1991). Mithilfe der Formel nach WALDBAUER (1968; S. 240) wurde der Gewichtsverlust der Nahrung möglichst genau in die Berechnungen einbezogen. Der Gewichtsverlust von nicht gefressenen Nahrungsresten wurde bei nicht parasitierten *C. partellus*-Larven dadurch bestimmt, dass einige Maisblatt- bzw. Maisstängel-Stückchen der für die Experimente vorgesehenen Pflanzen ohne *C. partellus*-Larven inkubiert wurden. Wurde *C. partellus* parasitiert, so wurden Maisblatt- bzw. Maisstängel-Stückchen zusammen mit Wirten inkubiert, die keine Nahrung mehr aufnahmen, weil die Parasitoidlarven ihre Entwicklung im Wirt beinahe vollendet hatten (BECKAGE 1997).

Durch Häutungen beeinflusste Werte der Verdauungsparameter wurden von der Analyse ausgeschlossen (BROWNE 1995). Alle Gewichtsmessungen wurden auf einer Sartorius Research Electronic Semimicro Balance R 200 D (Genauigkeit $\pm 0,1$ mg) durchgeführt.

Voraussetzungen für die korrekte Interpretation und Messung der Verdauungsparameter AD und ECD: Es muss ein kontinuierlicher Massenfluss durch das Tier vorliegen. Tiere müssen kontinuierlich Nahrung aufnehmen und Kot abgeben, denn nur dann entspricht die Differenz „aufgenommene Nahrung – Kot“ auch wirklich näherungsweise der verdauten Nahrung. Bei moribunden Tieren ist diese Bedingung nicht erfüllt, denn sie nehmen mitunter noch wenig Nahrung auf, geben aber keinen Kot mehr ab. Nach der Formel für die approximate digestibility ist die Verdaulichkeit in diesem Fall etwa 1. Das würde bedeuten, dass die aufgenommene Nahrung zu 100 % verdaut würde. Diese Interpretation ist sicherlich falsch, denn das Tier konnte wahrscheinlich keinen Kot mehr abgeben, weil es vorher gestorben ist.

Darüber hinaus müssen neben dem Tiergewicht die aufgenommene Nahrung und der Kot zu wiegen sein. Sofern nur geringste Nahrungsmengen aufgenommen bzw. Kotmengen abgegeben werden, sind diese meist nicht mehr korrekt bestimmbar.

2.3.3 Life-history parameter von *C. flavipes*

Folgende Parameter wurden gemessen:

- 1. Erfolgreiche Parasitierung:** Es wurde der Anteil derjenigen Wirte, in denen die Parasitoidlarven das Wirtsintegument durchbrachen, sich einspinnen und verpuppten, an allen Wirten berechnet.
- 2. Anzahl Kokons pro Wirt:** Die Anzahl aller pro Wirt gebildeten Parasitoid-Kokons wurde gezählt.
- 3. Gewicht aller Kokons pro Wirt:** Das Frischgewicht aller Parasitoid-Kokons (mit Inhalt) eines Wirtes wurde gemessen.

4. Gewicht eines Kokons: Es wurde das durchschnittliche Frischgewicht eines Parasitoid-Kokons (mit Inhalt) berechnet, indem das Frischgewicht aller Kokons pro Wirt durch die Anzahl aller Kokons pro Wirt geteilt wurde.

5. Gewicht der Kokospinnseide pro Kokon: Das durchschnittliche Frischgewicht der Kokospinnseide wurde näherungsweise dem durchschnittlichen Frischgewicht eines Parasitoid-Kokons *nach* dem Schlupf des adulten Parasitoids gleichgesetzt.

6. Kokon-Mortalität: Es wurde das Verhältnis „Anzahl abgestorbener Kokons pro Wirt / Anzahl aller Kokons pro Wirt“ bestimmt.

7. Gewicht einer Parasitoidpuppe: Das durchschnittliche Frischgewicht einer Parasitoidpuppe wurde näherungsweise der Differenz zwischen dem durchschnittlichen Frischgewicht eines Parasitoid-Kokons 4 Tage *vor* dem Schlupf des adulten Parasitoids und dem durchschnittlichen Frischgewicht eines Kokons wenige Stunden *nach* dem Schlupf des adulten Parasitoids gleichgesetzt (das Puparium von *C. flavipes* dauert bei 27 °C etwa 5 Tage).

8. Gewicht eines adulten Parasitoids: Adulte Parasitoide wurden 4 Tage bei -50 °C und 10⁻² bar gefriergetrocknet und nach Geschlechtern getrennt gewogen. Das durchschnittliche Trockengewicht eines Parasitoid-Weibchens (-Männchens) wurde berechnet als der Quotient aus dem Gewicht aller Weibchen (Männchen) geteilt durch die Anzahl aller gewogenen Weibchen (Männchen).

9. Entwicklungszeit: Es wurde die Entwicklungszeit des Parasitoids von der Eiablage bis zur Verpuppung gemessen.

10. Geschlechterverhältnis: Das Geschlechterverhältnis wurde als der Anteil der Weibchen an allen adulten Parasitoiden angegeben.

Alle Gewichtsmessungen wurden auf einer Sartorius MC 210 P ultramicro balance durchgeführt (Genauigkeit: ± 0,1 µg).

Es wurde darauf verzichtet, die Lebensdauer der Parasitoid-Imagines zu ermitteln. Dieser Parameter hängt von der Temperatur, dem Nahrungsangebot und dem Grad der Luftfeuchte ab (MOUTIA 1952; KAJITA und DRAKE 1969; MOHYUDDIN 1971; POTTING et al. 1997b) und müsste deswegen in einem gesonderten Bioassay untersucht werden, bei dem diese Faktoren genau kontrolliert werden.

2.4 Statistische Auswertung und grafische Darstellung

Vergleich zweier unabhängiger Datensätze (B.t.-Gruppe und Kontrolle):

Folgende Tests wurden eingesetzt:

1. t-Test für unabhängige Gruppen (zweiseitige Fragestellung), sofern Normalverteilung vorlag (Überprüfung mit der Lilliefors-Modifikation des Kolmogoroff-Smirnoff-Tests) und die Varianzen homogen waren (F-Test). Dokumentiert wurde die Prüfgröße t , die Irrtumswahrscheinlichkeit p und die Größe der Stichprobe n ;
2. Mann-Whitney-U-Test (zweiseitige Fragestellung), wenn keine Normalverteilung vorlag und/oder die Varianzen heterogen waren, jedoch die Verteilungsform der Datensätze beider Gruppen im Histogramm ähnlich erschien (SACHS 1999). Dokumentiert wurden die Prüfgrößen U , Z , die Irrtumswahrscheinlichkeit p und die Größe der Stichprobe n .
3. Kolmogoroff-Smirnoff-Test (zweiseitige Fragestellung), wenn weder Normalverteilung noch Varianzhomogenität vorlag und die Verteilungsform der Daten im Histogramm unterschiedlich erschien. Dokumentiert wurde die Prüfgröße D , die Irrtumswahrscheinlichkeit p und die Größe der Stichprobe n .

Vergleich mehrerer unabhängiger Datensätze:

Sofern die Varianzen homogen waren (Levene-Test) und Normalverteilung vorlag (Lilliefors-Modifikation des Kolmogoroff-Smirnoff-Tests), wurde je nach Fragestellung eine ein- bzw. zweifaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt. Als post-hoc Verfahren wurde der Spjotvoll-Stoline-Test für verschieden große Stichproben eingesetzt (STATSOFT 1999). Dokumentiert wurden F , die Zahl der Freiheitsgrade (FG), die Irrtumswahrscheinlichkeit p und die Größe der Stichproben n .

Waren die Bedingungen für eine parametrische ANOVA nicht erfüllt, wurde eine Kruskal-Wallis-ANOVA angewandt. Zur Lokalisierung signifikanter Unterschiede wurde dann das nichtparametrische Tukey-Kramer-Verfahren durchgeführt (SACHS 1999). Dokumentiert wurden H , die Zahl der Freiheitsgrade (FG), die Irrtumswahrscheinlichkeit p und die Größe der Stichproben n .

Bonferroni-Korrektur bei multiplen Vergleichen:

Die Hochberg-Modifikation der Bonferroni-Korrektur wurde angewandt (HOCHBERG 1988), wenn ein Datensatz Gegenstand multipler Vergleiche war. Auch wenn derselbe Datensatz zur Berechnung verschiedener Verdauungsparameter verwendet wurde - wie etwa im Fall der ECD und der AD, die beide die Differenz „aufgenommene Nahrung – Kot“ enthalten - wurde die Bonferroni-Korrektur für die entsprechenden Parameter durchgeführt.

Korrelationen zwischen verschiedenen Verdauungsparametern von *C. partellus* bzw. zwischen Wirts- und Parasitoidparametern:

Waren beide Datensätze normalverteilt und die Varianzen homogen, wurde Pearsons r bzw. r^2 berechnet. Korrelationen wurden anhand des Spearman R Koeffizienten überprüft, sofern die Rangbindungen unter 20 % lagen (SACHS 1999) und die Datensätze nicht normalverteilt und/oder deren Varianzen heterogen waren; ansonsten erfolgte die Überprüfung über den Gamma-Koeffizienten. Dokumentiert wurde in beiden Fällen neben dem entsprechenden Koeffizienten die Irrtumswahrscheinlichkeit p , sowie die Größe der Stichprobe n und im Falle des Gamma-Koeffizienten die Prüfgröße Z .

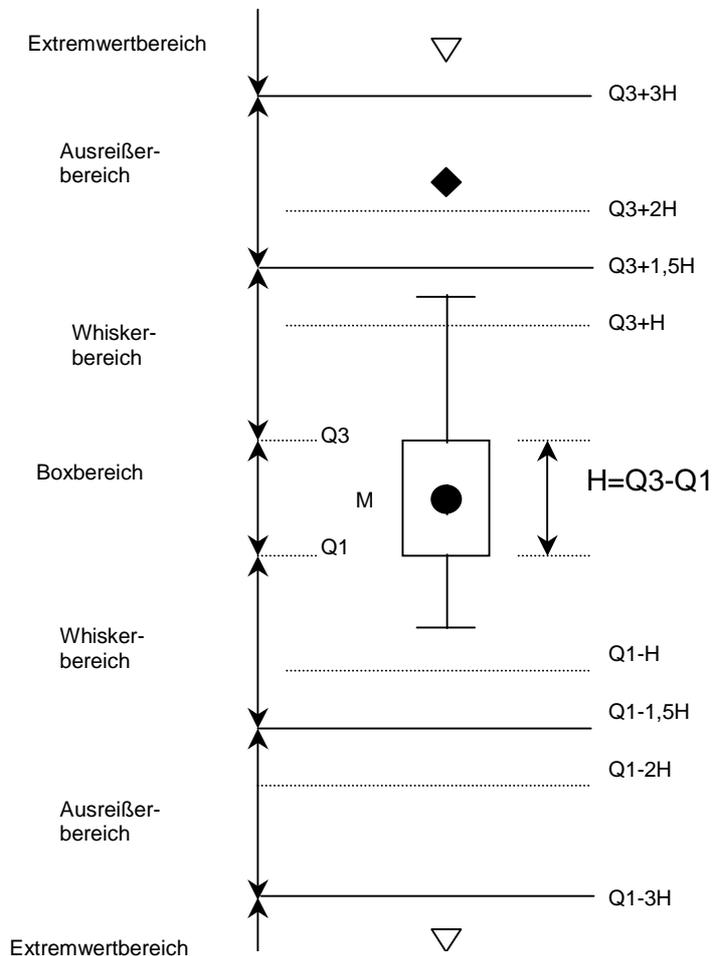
Vergleich von Häufigkeiten zwischen *B.t.*- und Kontrollgruppe:

Der Vergleich von Häufigkeiten (Mortalitätsraten, Verpuppung des Wirts, erfolgreiche Parasitierung) zwischen *B.t.*- und Kontrollgruppe wurde anhand von Fishers exaktem Test durchgeführt. Dokumentiert wurde die Irrtumswahrscheinlichkeit p sowie die Größe der Stichprobe n .

Alle Tests mit Ausnahme des nichtparametrischen Tukey-Kramer-Verfahrens wurden mit der Software STATISTICA (STATSOFT 1999) durchgeführt. Das Tukey-Kramer-Verfahren wurde mithilfe der Formel in SACHS (1999) durchgeführt.

Grafische Darstellung:

Viele Ergebnisse wurden als Box-Whisker-Plots dargestellt, die aus dem Boxbereich, dem Whiskerbereich, dem Ausreißer- und dem Extrembereich bestehen (siehe Abbildung 2). Der Boxbereich enthält den Median M und wird begrenzt von dem ersten und dritten Quartil ($Q1$ bzw. $Q3$). Der Whiskerbereich liegt oberhalb bzw. unterhalb des Boxbereiches und enthält

**Abbildung 2: Box-Whisker-Plot**

Werte, deren Abstand zu $Q3$ bzw. $Q1$ weniger als $1,5 \cdot (Q3 - Q1)$ beträgt. Die Whisker („Schnurrhaare“) markieren dabei den höchsten bzw. niedrigsten Wert innerhalb dieses Bereiches. Der Ausreißerbereich liegt oberhalb bzw. unterhalb des Whiskerbereiches und enthält Werte, deren Abstand zu $Q3$ bzw. $Q1$ weniger als $3 \cdot (Q3 - Q1)$ beträgt. Jeder einzelne Wert innerhalb dieses Bereiches wird durch Symbole gekennzeichnet. Der Extremwertbereich liegt oberhalb bzw. unterhalb des Ausreißerbereiches und enthält Werte, deren Abstand zu $Q3$ bzw. $Q1$ mehr als $3 \cdot (Q3 - Q1)$ beträgt. Jeder einzelne Wert innerhalb dieses Bereiches wird durch Symbole gekennzeichnet.

Folgende Signifikanz-Symbolik wurde verwendet:

„n.s.“ für „nicht signifikant“: $p > 0,05$;

* $0,05 \geq p > 0,01$;

** $0,01 \geq p > 0,001$;

*** $0,001 \geq p$.

2.5 Durchgeführte Versuche

Vorbemerkung: Es wurden zunächst folgende Vorversuche durchgeführt: **1.** *C. partellus* wurde konstant mit *B.t.*-Mais gefüttert; **2.** *C. partellus* wurde alternierend 2 Tage mit *B.t.*- und zwei Tage mit Kontrollmais gefüttert; **3.** *C. partellus* wurde mit Kunstfutter gefüttert, dem gefriergetrocknetes *B.t.*-Maispulver beigemischt war; **4.** *C. partellus* wurde einen Tag mit *B.t.*-Mais und daraufhin mehrere Tage mit Kontrollmais gefüttert. Diese Experimente erfüllten nicht alle Voraussetzungen, die für die korrekte Messung der Verdauungsparameter gegeben sein müssen (Abschnitt 2.3.2): *Chilo partellus*-Larven nahmen nicht wägbare Mengen an *B.t.*-Mais auf und schieden dünnflüssigen Kot aus, der ebenfalls nicht gewogen werden konnte (Experimente 1 und 2). Ferner war die Mortalitätsrate häufig recht hoch und damit die "experimentelle Ausbeute" sehr gering (Experiment 1, 2, 4). Daher könnte der Parasitoid *C. flavipes* in den meisten Fällen seine Entwicklung im Wirt nicht vollenden. Versuche mit Kunstfutter (Experiment 3) reduzierten die Mortalitätsrate drastisch, brachten aber ein weiteres Problem mit sich: Kot konnte weder strukturell noch räumlich von der Nahrung unterschieden werden. Aus all diesen experimentellen Schwierigkeiten konnten die folgenden Schlüsse gezogen werden:

- Es sollte nur mit natürlichem Futter (*B.t.*- und Kontroll-Maispflanzen) experimentiert werden;
- Das *B.t.*-Toxin in der transgenen Pflanze wirkte offenbar zu stark; es musste also soweit verdünnt werden, dass es einerseits eine messbare Wirkung auf den Herbivoren ausübte und andererseits den im Wirt lebenden Parasitoidlarven eine vollständige Entwicklung ermöglichte.

Aus diesen Gründen wurden Experimente mit verschiedenen stark konzentrierten *B.t.*-Mais-Suspensionen durchgeführt, um diejenige Konzentration zu ermitteln, bei der die Verdauungsparameter des Wirts und life history Parameter des Parasitoids optimal gemessen werden konnten. Jüngere Larvalstadien von *C. partellus* fressen an Blättern, ältere bohren sich in den Stängel ein (BERGER 1992; 1994). Daher wurde mit Maisblättern und –stängeln experimentiert. *B.t.*- bzw. Kontrollmais-Suspension wurde auf Kontrollmaisblatt-Stückchen gestrichen und in Kontrollmaisstängel-Stückchen geträufelt. Die durchgeführten Experimente wurden der Übersichtlichkeit halber in folgende Gruppen unterteilt: **a)** Biotests mit nichtparasitierten *C. partellus*-Larven (Abschnitt 2.5.1); **b)** Biotests zum Einfluss des Futters (Stängel vs. Blätter) auf die Entwicklung von parasitierten *C. partellus*-Larven und von *C. flavipes* (Abschnitt 2.5.2); **c)** Biotests mit parasitierten *Chilo partellus*-Larven und *C. flavipes* (Abschnitt 2.5.3). Wie aus den Vorbemerkungen zu den

einzelnen Experimenten deutlich wird, entspricht diese Gliederung nicht der chronologischen Abfolge der durchgeführten Experimente.

2.5.1 Biotests zur Wirkung von *B.t.*-Mais auf nicht parasitierte *Chilo partellus*-Larven

2.5.1.1 Wirkung von Kontrollmaisblättern mit verschiedenen stark konzentrierten B.t.-Maisblatt-Suspensionen auf ältere Larvalstadien von C. partellus

Larvalalter und -gewicht: *C. partellus* Larven: 14 – 21 Tage (meist L4-L5; *C. flavipes* parasitiert erfolgreich L3-L6) zu Versuchsbeginn; Gewicht: 15 – 33 mg.

Größe der Stichprobe: jeweils ca. 10 Larven in *B.t.*- und Kontrollgruppe.

Präparation der Maisblätter: Kleingeschnittene Kontroll- oder *B.t.*-Maisblätter (Pflanzen im 7-8 Blattstadium, nur die jüngsten Blätter ohne Mittelrippe) - je nach Konzentration der Maissuspension 50 mg, 100 mg, 250 mg oder 1 g - und 20 ml deionisiertes Wasser wurden in ein Reagenzglas gegeben, das von außen mit Eis gekühlt wurde, und dann für dreißig Sekunden homogenisiert (Dispergierwerkzeug EUROTURRAX® T 20 Standard der Firma IKA® Labortechnik Janke & Kunkel GmbH & Co.KG; Schaft des Gerätes: S 25 NK - 19 G). Die so entstandene Suspension wurde über feinen Stoff abgefiltert und 100 µl davon homogen und einseitig auf ca. 50 mg schwere quadratische Blattstückchen (ca. 2 cm x 2 cm) von Kontrollmaispflanzen über die ganze Fläche verteilt aufgetragen. Die Blattstückchen wurden anschließend für ca. 15 Min. bei 30°C im Ofen gehalten, um die Suspension antrocknen zu lassen. Jede Larve erhielt zwei Blattstückchen in einer Petrischale von 3,5 cm Durchmesser und 1,1 cm Höhe. *C. partellus*-Larven der *B.t.*-Gruppe erhielten also zwei Kontrollblattstückchen mit *B.t.*-Mais-Suspension. Larven der Kontrolle erhielten Kontrollblattstückchen mit Kontrollmais-Suspension. Es ergaben sich die folgenden Konzentrationen an in der Suspension enthaltenem Maisblatt-Material (entweder von *B.t.*- oder Kontrollpflanzen) pro mg Blattfutter (ausschließlich von Kontrollpflanzen): 2,5 µg Kontroll- bzw. *B.t.*-Maisblatt-Material pro mg Blattfutter, 5 µg Kontroll- bzw. *B.t.*-Maisblatt-Material pro mg Blattfutter, 12,5 µg Kontroll- bzw. *B.t.*-Maisblatt-Material pro mg Blattfutter und 50 µg Kontroll- bzw. *B.t.*-Maisblatt-Material pro mg Blattfutter.

Messung der Verdauungsparameter: Täglich wurde das Gewicht von Nahrung, Kot und Larven gemessen. Die Nahrung wurde täglich gewechselt. Die Verdauungsparameter (siehe Abschnitt 2.3.2) wurden je nach Maiskonzentration für einen Zeitraum von 2 Tagen (50 µg / mg Futter, 12,5 µg / mg Futter) oder 4 Tagen (5 µg / mg Futter, 2,5 µg / mg Futter) berechnet. Der Versuch wurde im Fall der Konzentrationen von 50 µg Mais / mg Futter und

12,5 µg Mais / mg Futter nach 2 Tagen beendet, denn die *C. partellus*-Larven nahmen in der *B.t.*-Gruppe so stark an Gewicht ab, dass eine erfolgreiche Entwicklung des Parasitoids *C. flavipes* bei diesen Konzentrationen als unwahrscheinlich erschien (Abb. 3). Ferner waren die Verdauungsparameter AD und ECD nicht mehr messbar, weil kein Kot abgegeben wurde (Abb. 5). Im Fall der Konzentration von 5 µg Mais / mg Futter wurde der Versuch nach 4 Tagen abgebrochen, weil auch bei dieser Konzentration in der *B.t.*-Gruppe eine zu starke Gewichtsabnahme zu verzeichnen war. Bei der geringsten *B.t.*-Mais-Konzentration (2,5 µg Mais / mg Futter) wurde jedoch keine Gewichtsabnahme beobachtet (Abb. 3). Daher wurde das Experiment nach 8 Tagen beendet, denn dieser Zeitraum entspricht etwa der Larvalentwicklung von *C. flavipes* (ca. 9 Tage).

Korrelationen zwischen Nahrungsaufnahme, AD, ECD und Gewichtsdifferenz: Es wurden die Beziehungen zwischen Nahrungsaufnahme und AD und zwischen Gewichtsdifferenz und Nahrungsaufnahme bzw. zwischen Gewichtsdifferenz und ECD untersucht.

2.5.1.2 Einfluss des Wasserverlusts der Nahrung auf die zeitlichen Änderungen der Verdauungsparameter älterer Larvalstadien von C. partellus auf Kontrollmaisblättern mit Kontrollmais-Suspension

Vorbemerkung: Unter den in Abschnitt 2.5.1.1 genannten Versuchsbedingungen nahmen die Werte einiger Verdauungsparameter in der Kontrolle (jedoch *nicht* in der *B.t.*-Gruppe) bei einer Konzentration von 2,5 µg Mais / mg Nahrung von Tag 1-4 (Abb. 3-6) nach Tag 5-8 (Abb. 8-9) stark ab. Aus diesem Grunde war beispielsweise die RCR der Kontrollgruppe an Tag 5-8 nicht mehr signifikant höher als in der *B.t.*-Gruppe. „Kontroll-Larven“ waren an Tag 5 signifikant schwerer als „*B.t.*-Larven“. Es wurde spekuliert, dass die im Vergleich zur *B.t.*-Gruppe schwereren „Kontroll-Larven“ auf den Wasserverlust der Nahrung empfindlicher reagierten als die „*B.t.*-Larven“ (eine ausführliche Diskussion erfolgt in Abschnitt 4.3.9). Dadurch könnte es zu der beobachteten Abnahme einiger Verdauungsparameter gekommen sein. Um den Einfluss der Verdunstung aus Maisblättern auf die zeitliche Änderung der Verdauungsparameter in der Kontrolle bei der Konzentration von 2,5 µg Mais / mg Nahrung zu messen, wurden *C. partellus*-Larven und Maisblätter in Eppendorfröhrchen überführt. In Petrischalen (3,5 cm Durchmesser; 1,1 cm Höhe), die in Abschnitt 2.5.1.1 benutzt wurden, ist der Gewichtsverlust der Blätter mit 6,2 % / Tag mehr als doppelt so hoch wie in Eppendorfröhrchen (2,3 % / Tag). Alle Maisblätter wurden nur mit Kontrollmais-Suspension bestrichen.

Larvalalter und –gewicht: siehe Abschnitt 2.5.1.1.

Größe der Stichprobe: 10 Raupen je Gruppe (eine Raupe pro Eppendorfröhrchen).

Präparation der Maisblätter: siehe Abschnitt 2.5.1.1.

Messung der Verdauungsparameter: siehe Abschnitt 2.5.1.1; der Versuch wurde nach 8 Tagen beendet.

2.5.1.3 Wirkung von Kontrollmaisblättern mit B.t.-Maisblatt-Suspension auf junge Larvalstadien von C. partellus

Vorbemerkung: Es sollte überprüft werden, ob die B.t.-Mais-Wirkung auf die Verdauungsparameter vom Larvalstadium abhängt.

Larvalalter und -gewicht: 4 Tage (L1-L2); ca. 1 mg.

Größe der Stichprobe: 10 x 5 Larven in je einem Gefäß.

Präparation der Maisblätter: siehe Abschnitt 2.5.1.1. Im Unterschied zu Abschnitt 2.5.1.1 wurden die Maisblätter jedoch beidseitig mit B.t.-Mais- bzw. Kontrollmais-Suspension (50 mg Maisblatt / 20 ml Wasser) bestrichen. Junge Larven fressen das Blatt nur einseitig (Fensterfraß), d.h. sie ließen beim Fressen nur eine der beiden Blattepidermes übrig, und zwar zufällig die obere oder untere (Blattquerschnitte der Nahrungsreste wurden mikroskopiert). Wären die Blätter nur einseitig mit B.t.-Mais-Suspension bestrichen worden, so hätten etwa 50% der Tiere der B.t.-Gruppe praktisch nur Kontrollmais gefressen. Der Anteil der übriggelassenen Epidermis am Gesamtgewicht des Blattstückchens war gering. Daher nahmen die Larven pro mg aufgenommenen Blattnahrung etwa 2,5 µg an in der Suspension enthaltenem Maisblatt-Material (B.t.- oder Kontrollmais) auf. Somit betrug die (effektive) Maiskonzentration etwa 2,5 µg / mg aufgenommene Nahrung. Ferner wurden im Unterschied zu Abschnitt 2.5.1.1 jeweils 5 Raupen und zwei Maisblätter in ein Eppendorfröhrchen überführt. Da die Raupen noch sehr klein waren, konnte die gefressene Nahrungsmenge bzw. der aufgenommene Kot nicht individuell bestimmt werden.

Messung der Verdauungsparameter: Täglich wurde das Gewicht von Nahrung, Kot und Larven gemessen. Die Nahrung wurde täglich gewechselt. Der Messzeitraum betrug 2 Tage. Es konnten keine individuellen Verdauungsparameter gemessen werden, die Messwerte wurden jedoch im Falle der aufgenommenen Nahrung, der Gewichts Differenz, RGR und RCR durch die Anzahl der Larven pro Gefäß geteilt.

2.5.1.4 Wirkung von Kontrollmaisstängeln mit verschieden stark konzentrierten B.t.-Maisblatt-Suspensionen auf ältere Larvalstadien von C. partellus

Vorbemerkung: Wurden Wirte parasitiert und dann mit Kontrollmais-Blättern gefüttert, auf die B.t.-Mais- oder Kontrollmaisblatt-Suspension gestrichen war, so konnte kein einziger Parasitoid seine Entwicklung vollenden (siehe Abschnitt 3.3.1). Weitere Experimente zeigten, dass der Parasitierungserfolg höher war, wenn die Wirte mit Stängeln gefüttert und relativ schwere Wirte eingesetzt wurden (siehe Abschnitt 3.2). Daher wurden die Verdauungsparameter 40 – 70 mg schwerer Larven auf Stängelfutter gemessen.

Larvalalter und -gewicht: 15-17 Tage, 40 – 70 mg zu Versuchsbeginn.

Größe der Stichprobe: 10 Larven pro Gruppe (Gruppe 1 = Kontrolle; Gruppe 2 = 1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Stängelnahrung; Gruppe 3 = 14 µg *B.t.*-Mais / mg Stängelnahrung, siehe „Konzentrationen der eingesetzten Kontroll- bzw. *B.t.*-Mais-Suspensionen“).

Präparation der Stängelstückchen: Es wurden ausschließlich Stängelstückchen aus dem oberen Teil von Kontrollmais-Pflanzen (etwa die obersten 10 cm des Stängels von Pflanzen im 7-8-Blatt-Stadium) verwendet, die ein Gewicht zwischen 0,900 g und 1,500 g aufwiesen (Durchmesser: ca. 1 cm; Länge ca. 3 cm). Zumeist hatten die Stängel 5-6 Wochen alter Maispflanzen den geeigneten Durchmesser. Die Stängelstückchen wurden mit einem schmalen Spatel (Spatelbreite: 2 mm) parallel zu ihrer Längsachse 2-3 Mal durchstoßen. Schließlich wurde jedes Stängelstückchen von beiden Seiten auf die Querschnittsflächen mit 50 µl *B.t.*-Maisblatt-Suspension (bzw. Kontrollmaisblatt-Suspension) beträufelt und dann für ca. 15 Minuten im Ofen bei 30 °C leicht angetrocknet. Das Durchstechen und die beidseitige Beträufelung sollten eine vollständige und möglichst gleichmäßige Verteilung der Mais-Suspension im Innern des Stängels gewährleisten. Um die Verteilung der Suspension zu überprüfen, wurde sie mit dem roten Farbstoff Erythrosin vermischt und die Stängelstückchen in Längsrichtung geviertelt. Die rote Farbe war auf der gesamten Schnittfläche zu erkennen. Daraus wurde auf eine vollständige Verteilung der Suspension in der gesamten Länge und Breite des Stängelstückchens geschlossen. Der Einsatz von Kontrollmaisstängeln, die mit *B.t.*-Maisblatt-Suspension präpariert wurden, hatte gegenüber *B.t.*-Mais-Stängelstückchen folgenden Vorteil: Aus der aufgenommenen Nahrungsmenge konnte auf die aufgenommene Menge an *B.t.*- δ -Endotoxin-haltigem Gewebe geschlossen werden. Da im Mark des Stängels von Event 176 *B.t.*-Maispflanzen kein *B.t.*-Toxin nachweisbar ist (FEARING et al. 1997) und *C. partellus* teilweise am Mark und teilweise am grünen Gewebe des Stängels frisst, könnte bei Stängelstückchen von *B.t.*-Pflanzen nicht ohne weiteres von der aufgenommenen Nahrungsmenge auf die aufgenommene Menge an *B.t.*- δ -Endotoxin-haltigem Gewebe geschlossen werden.

Konzentrationen der eingesetzten Kontroll- bzw. *B.t.*-Mais-Suspensionen:

1. Kontrolle: 4,000 g Kontrollmaisblätter und 0 g *B.t.*-Maisblätter in 20 ml deionisiertem Wasser; entspricht ca. 14 µg an in der Suspension enthaltenem Kontrollmais-Material / mg Stängelnahrung;
2. 3,600 g Kontrollmaisblätter und 0,400 g *B.t.*-Maisblätter in 20 ml deionisiertem Wasser; entspricht ca. (12,6 µg Kontrollmais + 1,4 µg *B.t.*-Mais) / mg Stängelnahrung;
3. 0,000 g Kontrollmaisblätter und 4,000 g *B.t.*-Maisblätter in 20 ml deionisiertem Wasser; entspricht ca. 14 µg *B.t.*-Mais / mg Stängelnahrung.

Die Gesamtkonzentration an in der Suspension enthaltenem Maisblatt-Material (*B.t.*-Mais + Kontrollmais) betrug also immer 14 µg pro mg Stängelnahrung, nur der Anteil an Kontroll- bzw. *B.t.*-Maisblatt-Material änderte sich.

Maisblätter und Wasser wurden in ein Reagenzglas gegeben, das sich in einem mit Eis gefüllten Becherglas befand, und mit einem Dispergiergerät (Firma IKA Labortechnik Janke & Kunkel GmbH & Co. KG, Modell Euroturrax T 20 Standard; Schafttyp S 25 NK – 19 G) für 30 s homogenisiert.

Jeweils ein mit Suspension beträufeltes Stängelstückchen und eine *C. partellus*-Larve wurden in ein Petrischälchen mit 3,5 cm Durchmesser und 1,1 cm Höhe überführt.

Messung der Verdauungsparameter: Täglich wurde das Gewicht von Nahrung, Kot und Larven gemessen. Die Nahrung wurde täglich gewechselt. Die Verdauungsparameter wurden zweimal für einen Zeitraum von je 4 Tagen ermittelt, d.h. der Versuch wurde nach 8 Tagen beendet.

Korrelationen zwischen aufgenommener Nahrung, ECD und Gewichts Differenz: In der Kontrolle und bei den Konzentration von 1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung bzw. 14 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung wurden die Parameter aufgenommene Nahrung, Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter (ECD) und die Gewichts Differenz miteinander korreliert.

2.5.2 Biotest zum Einfluss des Futters (Kontrollmais-Stängel versus - Blätter) auf die Entwicklung parasitierter *Chilo partellus*-Larven und seines Parasitoiden *Cotesia flavipes*

Vorbemerkung: Wurden Wirte parasitiert und dann mit Kontrollmais-Blättern gefüttert, auf die *B.t.*-Mais- oder Kontrollmaisblatt-Suspension gestrichen war, so konnte kein einziger Parasitoid seine Entwicklung vollenden (siehe Abschnitt 3.3.1). Daher sollte untersucht werden, ob das Futter bzw. das Gewicht der Wirte einen Einfluss auf den Parasitierungserfolg von *C. flavipes* haben könnte.

Versuchsgruppen

Gruppe 1:	Raupenalter 15 Tage,	Gewicht ca. 20 mg,	nur Kontrollmais-Stängel;
Gruppe 2:	Raupenalter 15 Tage,	Gewicht ca. 20 mg,	nur Kontrollmais-Blätter;
Gruppe 3:	Raupenalter 31 Tage,	Gewicht ca. 130 mg,	nur Kontrollmais-Stängel;
Gruppe 4:	Raupenalter 31 Tage,	Gewicht ca. 130 mg,	nur Kontrollmais-Blätter.

Größe der Stichprobe: 10 Larven pro Gruppe.

Nahrungsaufnahme und Entwicklung parasitierter *C. partellus*-Larven: Jede Raupe wurde zuerst von Parasitoiden gestochen und dann entweder in eine Petrischale mit Stängeln oder mit Blättern (Menge: ca. 1 g) überführt. Täglich wurde das Gewicht der Raupe

gemessen und aufgezeichnet, ob sie gefressen hatte oder nicht. Nahrung, Kot und Gewicht des Pflanzenmaterials wurden dagegen nicht quantifiziert.

Eiablage von *C. flavipes*: siehe Abschnitt 2.2.3.

Life-history parameter von *C. flavipes*: Es wurden folgende Parameter bestimmt: die erfolgreiche Parasitierung, die Entwicklungszeit, das Gewicht aller Kokons pro Wirt, die Anzahl an Kokons pro Wirt, das Gewicht eines Kokons und die Mortalität der Kokons (siehe Abschnitt 2.3.3).

2.5.3 Biotests zur Wirkung von *B.t.*-Mais auf parasitierte *Chilo partellus*-Larven und *Cotesia flavipes*

2.5.3.1 Biotests mit optimierter B.t.-Maisblatt-Suspension auf Kontrollmaisblättern, parasitierten Chilo partellus-Larven und Cotesia flavipes

Vorbemerkung: *C. partellus*-Larven der *B.t.*-Gruppe nahmen nicht an Gewicht ab, wenn ihnen Kontrollmais-Blattstückchen angeboten wurden, die mit *B.t.*-Mais-Suspension der Konzentration 2,5 µg / mg Blattfutter bestrichen waren (Abschnitt 2.5.1.1 bzw. 3.1.1.2, Abb. 3). Dennoch hatte das *B.t.*-Toxin eine hochsignifikante Wirkung auf verschiedene Verdauungsparameter (Abschnitt 3.1.1.2). Die Mortalität innerhalb dieser Gruppe war gering (Abschnitt 3.1.1.1). Deswegen wurde angenommen, dass *C. flavipes* zumindest einige Wirte der *B.t.*-Gruppe erfolgreich parasitieren könnte, wenn *C. partellus*-Larven Kontrollmais-Blattstückchen mit einer *B.t.*-Mais-Konzentration von 2,5 µg / mg Blattfutter zu fressen bekämen.

Alter und Gewicht parasitierter *C. partellus* Larven: 14 Tage; 15-30 mg.

Größe der Stichprobe: 10-11 Larven pro Gruppe (*B.t.*-Gruppe bzw. Kontrolle).

Präparation der Maisblätter: siehe Abschnitt 2.5.1.1; Konzentration: 2,5 µg Mais / mg Blattfutter.

Messung der Verdauungsparameter: siehe Abschnitt 2.5.1.1. Das Experiment wurde nach 16 Tagen abgebrochen. Die Verdauungsparameter wurden jeweils für einen Zeitraum von 4 Tagen berechnet.

Eiablage von *C. flavipes*: siehe Abschnitt 2.2.3.

Life-history parameter von *C. flavipes*: Da die Parasitoidlarven ihre Entwicklung in keinem Wirt nach 16 Tagen beendet hatten, wurden die Wirte aufpräpariert und Anzahl und Länge der Parasitoidlarven bestimmt. Es wurden nur die Längen von Parasitoidlarven gemessen, deren Wirte in *B.t.*- und Kontrollgruppe ein ähnliches Durchschnittsgewicht hatten. Dadurch sollte ausgeschlossen werden, dass eventuelle Unterschiede zwischen den Parasitoidlängen in *B.t.*- und Kontrollgruppe durch unterschiedliche Wirtsbiomassen bedingt waren. Als

„**Durchschnittsgewicht**“ eines Wirtes wurde die Summe aller im Verlauf des Experiments täglich gemessenen Gewichte eines Wirtes geteilt durch die Anzahl an Messtagen definiert.

Lebensdauer der Wirte: Einige Wirte starben vor Abbruch des Experiments. Es wurde die Lebensdauer derjenigen Wirte bestimmt, deren Durchschnittsgewicht in *B.t.*- und Kontrollgruppe ähnlich war.

Korrelationen zwischen Wirtsgewicht und Parasitoidlänge: In *B.t.*- und Kontrollgruppe wurde das durchschnittliche Wirtsgewicht mit der durchschnittlichen Länge einer Parasitoidlarve korreliert.

2.5.3.2 Biotest mit optimierter *B.t.*-Maisblatt-Suspension in Kontrollmais-Stängeln, parasitierten *Chilo partellus*-Larven und *Cotesia flavipes*

Vorbemerkung: Wurde *B.t.*-Mais-Suspension in Kontrollmais-Stängelstückchen geträufelt (siehe Abschnitt 2.5.1.4), so ergaben sich gegenüber der Kontrolle signifikante Änderungen verschiedener Verdauungsparameter (siehe Abschnitt 3.1.4). Bei einer Konzentration von 1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Stängelnahrung nahmen die *C. partellus*-Larven zunächst an Gewicht zu (siehe Abb. 14). Weitere Experimente zeigten, dass der Parasitierungserfolg höher war, wenn die Wirte mit Stängeln gefüttert und relativ schwere Wirte eingesetzt wurden (siehe Abschnitt 3.2). Deswegen wurde angenommen, dass *C. flavipes* zumindest einige Wirte der *B.t.*-Gruppe erfolgreich parasitieren könnte, wenn ca. 40-80 mg schwere *C. partellus*-Larven Kontrollmais-Stängelstückchen mit einer *B.t.*-Mais-Konzentration von 1,4 µg / mg Stängelfutter zu fressen bekämen.

Alter und Gewicht parasitierter *C. partellus*-Larven: 14 – 21 Tage; 40 – 80 mg.

Präparation der Kontrollmaisstängel: Kontrollmaisstängel der Kontrolle enthielten 14 µg Kontrollmais / mg Futter; Kontrollmaisstängel der *B.t.*-Gruppe enthielten (12,6 µg Kontrollmais + 1,4 µg *B.t.*-Mais) / mg Futter (siehe Abschnitt 2.5.1.4).

Prüfung auf Ausreißer: Da innerhalb der *B.t.*-Gruppe ein Wirt sehr viel mehr an Nahrung aufnahm und an Gewicht zunahm als alle anderen, wurde für jeden Wirt aus *B.t.*-Gruppe und Kontrolle die Gewichts Differenz (Gewicht an Tag 8 – Gewicht an Tag 1) und die Nahrungsaufnahme im Verlauf des gesamten Experimentes berechnet. Über die 4-Sigma-Regel nach SACHS (1999) wurde geprüft, ob es sich dabei um einen Ausreißer handeln könnte. Liegt ein Wert um mehr als 4 Standardabweichungen vom Mittelwert entfernt, so ist die Wahrscheinlichkeit, dass er derselben Grundgesamtheit entstammt, nach der Ungleichung von BIENAYMÉ und TSCHEBYSCHEFF $\leq 6\%$ bei beliebigen Verteilungen, nach der Ungleichung von GAUß $\leq 3\%$ bei symmetrisch-eingipfeligen Verteilungen und $\leq 0,001\%$ bei Normalverteilungen. Alle statistischen Analysen wurden mit und ohne Ausreißer durchgeführt, um zu bestimmen, inwiefern er die Ergebnisse beeinflusste. Ergaben sich

Unterschiede, so wurden die Ergebnisse beider Analysen genannt und die Ausreißer auch grafisch dargestellt.

Größe der Stichprobe (siehe Tabelle 1): Das Experiment wurde fünfmal durchgeführt. In Experiment 1-4 wurden Wirtsgewicht, Verdauungsparameter des Wirts und life history-Parameter des Parasitoids ermittelt, in Experiment 5 dagegen nur Wirtsgewicht und life history-Parameter des Parasitoids. Die *B.t.*-Gruppe bestand insgesamt (Exp. 1-5) aus 109 parasitierten Wirten, die Kontrolle (Exp. 1-5) aus 29 parasitierten Wirten. Die Stichprobengröße *aller* parasitierten Wirte lag in der *B.t.*-Gruppe bei 10-30 pro Experiment und in der Kontrolle bei 5-8. In der *B.t.*-Gruppe war die Mortalitätsrate der Wirte vor Verpuppung der Parasitoide hoch. Deswegen wurden nur 25 Wirte von 109 *erfolgreich* parasitiert. In der Kontrolle wurden hingegen 25 Wirte von 29 *erfolgreich* parasitiert. Einige Parasitoide starben vor Schlupf der Adulti, deswegen betrug die Stichprobengröße einiger life history-Parameter des Parasitoids nicht 25, sondern 16-25. Da Nahrungsaufnahme und AD des Wirtes in Experiment 5 nicht ermittelt wurden, betrug die Stichprobengröße für Nahrungsaufnahme, RCR und AD *erfolgreich* parasitierter Wirte in der Kontrolle 19 (Exp. 1-4) und für die *B.t.*-Gruppe 12 (Exp. 1-4).

Poolen von Daten: Das Experiment wurde fünfmal durchgeführt. In Experiment 1-4 wurden Wirtsgewicht und Verdauungsparameter des Wirts und life history-Parameter des Parasitoids ermittelt, in Experiment 5 dagegen nur Wirtsgewicht und life history-Parameter des Parasitoids. Die Rohdaten innerhalb der *B.t.*- bzw. Kontrollgruppe wurden nur dann gepoolt, wenn eine der folgenden drei Bedingungen erfüllt war:

Bedingung 1: Der Median der einen Gruppe (*B.t.*- bzw. Kontrollgruppe) war in jedem Experiment (aufgenommene Nahrung, RCR, AD: Exp. 1-4; Wirtsgewicht, life history Parameter des Parasitoids: Exp. 1-5) größer als der Median der anderen Gruppe.

Bedingung 2: Der Median der einen Gruppe (*B.t.*- bzw. Kontrollgruppe) war in jedem Experiment (aufgenommene Nahrung, RCR, AD: Exp. 1-4; Wirtsgewicht, life history Parameter des Parasitoids: Exp. 1-5) kleiner als der Median der anderen Gruppe.

Bedingung 3: Der Median der einen Gruppe (*B.t.*- bzw. Kontrollgruppe) hatte in jedem Experiment (aufgenommene Nahrung, RCR, AD: Exp. 1-4; Wirtsgewicht, life history Parameter des Parasitoids: Exp. 1-5) denselben Wert wie in der anderen Gruppe.

Wurde bei einem Parameter keine der 3 Bedingungen erfüllt, so wurde in jeder Gruppe (*B.t.*- bzw. Kontrollgruppe) für jedes Experiment (aufgenommene Nahrung, RCR, AD: Exp. 1-4; Wirtsgewicht, life history Parameter des Parasitoids: Exp. 1-5) der Median aller Werte gebildet. Die Mediane aller Experimente innerhalb einer Gruppe wurden gepoolt.

Beispielsweise war die Anzahl aller Parasitoid-Kokons pro Wirt in Exp. 1, 4 und 5 in der Kontrolle höher als in der *B.t.*-Gruppe (Abb. 35). Dagegen war sie in Exp. 2 und 3 in beiden Gruppen gleich. Also war keine der drei oben angegebenen Bedingungen erfüllt. Daher

Tabelle 1: Größe der Stichprobe verschiedener Parameter in Kontrolle und *B.t.*-Gruppe

Experiment		1	2	3	4	5	
Ermittelte Wirtsparameter		Gewicht ⁶ Nahrung ⁷ RCR AD	Gewicht Nahrung RCR AD	Gewicht Nahrung RCR AD	Gewicht Nahrung RCR AD	Gewicht	
Gemessene life history Parameter des Parasitoids		alle (siehe Abschnitt 2.3.3)	alle (siehe Abschnitt 2.3.3)	alle (siehe Abschnitt 2.3.3)	alle (siehe Abschnitt 2.3.3)	alle (siehe Abschnitt 2.3.3)	Summe
Anzahl Wirte pro Experiment	Kt ¹ <i>B.t.</i> ²	8 9	5 15	5 25	5 25	6 35	29 109
Gestorbene ³ , verpuppte Wirte ⁴ pro Experiment	Kt <i>B.t.</i>	2 8	1 12	1 20	0 22	0 22	4 84
Anzahl erfolgreich parasitierter Wirte pro Experiment	Kt <i>B.t.</i>	6 1	4 3	4 5	5 3	6 13	25 25
Größe des Datensatzes für							
• Gewicht	Kt <i>B.t.</i>	6 1	4 3	4 5	5 3	6 13	25 25
• Gefressene Nahrung	Kt <i>B.t.</i>	6 1	4 3	4 5	5 3	0 0	19 12
• RCR	Kt <i>B.t.</i>	6 1	4 3	4 5	5 3	0 0	19 12
• AD	Kt <i>B.t.</i>	6 1	4 3	4 5	5 3	0 0	19 12
Größe des Datensatzes für Verschiedene life history-Parameter des Parasitoids ⁵	Kt <i>B.t.</i>	Experiment 1-5: 16 - 25 (Kontrolle); 20 – 25 (<i>B.t.</i> -Gruppe)					

¹ Kt = Kontrolle² *B.t.* = *B.t.*-Gruppe³ Wirte starben, bevor der Parasitoid seine Larvalentwicklung im Wirt vollenden konnte.⁴ Dazu gehören auch Wirte, bei denen nach 16 Tagen noch kein Parasitoid seine Larvalentwicklung vollendet hatte. Das Experiment wurde nach 16 Tagen abgebrochen.⁵ Die Größe des Datensatzes verschiedener Parameter war unterschiedlich, denn einige Parasitoide starben, bevor sie das Adultstadium erreichten.⁶ Gemeint ist das Anfangsgewicht des Wirtes.⁷ Gemeint ist die vom Wirt aufgenommene Nahrung

wurden nur die Mediane aller Experimente innerhalb einer Gruppe gepoolt. Damit war die Größe des Datensatzes in beiden Gruppen 5 (ein Wert pro Experiment, d.h. die Mediane der Experimente 1-5).

Durch diese Vorgehensweise wurde gewährleistet, dass die Rohdaten beider Gruppen nur dann gepoolt wurden, wenn die relativen Unterschiede zwischen beiden Gruppen in allen Experimenten (Exp. 1-4 bzw. 1-5) ähnlich ausfielen. Der Einfluss eventueller nicht kontrollierter Störfaktoren auf die Ergebnisse sollte dadurch minimiert werden.

Messung des Wirtsgewichts: Es wurde das Anfangsgewicht aller erfolgreich parasitierten Wirte gemessen.

Vergleich der aufgenommenen Nahrung von nicht parasitierten und parasitierten

Wirten: Es wurde die durchschnittliche an Tag 1-8 aufgenommene Nahrungsmenge parasitierter Wirte aus *B.t.*-Gruppe und Kontrolle berechnet. Ferner wurde die durchschnittliche an Tag 1-8 aufgenommene Nahrungsmenge nicht parasitierter Wirte aus *B.t.*-Gruppe (1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Stängelfutter) und Kontrolle bestimmt (Daten des unter Abschnitt 2.5.1.4 beschriebenen Biotests zur Wirkung von Kontrollmaisstängeln mit verschiedenen stark konzentrierten *B.t.*-Maisblatt-Suspensionen auf ältere Larvalstadien von *C. partellus*). Über eine zweifaktorielle Varianzanalyse wurde bestimmt, inwiefern die Parasitierung die Nahrungsaufnahme beeinflusste und ob es eine Interaktion zwischen den Faktoren „Parasitierung“ und der Gabe von *B.t.*-Mais bzw. Kontrollmais gab. „Interaktion“ zwischen zwei Faktoren ist in diesem Kontext wie folgt definiert: Die Wirkung der Gabe von *B.t.*-Mais bzw. Kontrollmais auf die Nahrungsaufnahme des Wirts hängt von einem weiteren Faktor, der Parasitierung, ab (siehe auch das STATISTICA-Handbuch von STATSOFT 1999).

Messung der Verdauungsparameter: siehe Abschnitt 2.5.1.4. Es wurde die aufgenommene Nahrungsmenge, der abgegebene Kot, die RCR sowie die AD bestimmt. Das Experiment wurde nach 16 Tagen beendet.

Eiablage von *C. flavipes*: siehe Abschnitt 2.2.3.

Life-history parameter von *C. flavipes*: Es wurden alle in Abschnitt 2.3.3 definierten Parameter ermittelt.

Korrelationen zwischen Wirts- und Parasitoidparametern: In *B.t.*- und Kontrollgruppe wurde die gesamte vom Wirt aufgenommene Nahrungsmenge mit der Anzahl an Kokons pro Wirt, dem Gewicht aller Kokons pro Wirt, dem Gewicht eines Kokons pro Wirt und der Entwicklungsdauer des Parasitoids von der Eiablage bis zur Verpuppung korreliert.

3 ERGEBNISSE

Die Gliederung des Ergebnisteils entspricht weitgehend der Gliederung des Abschnitts „Material und Methoden“. In Abschnitt 3.1 werden die Ergebnisse verschiedener Biotests zur Wirkung von *B.t.*-Mais-Suspension in Kontrollmais-Stängeln bzw. auf Kontrollmais-Blättern auf nicht parasitierte *Chilo partellus*-Larven beschrieben. Abschnitt 3.2 beschreibt den Einfluss des Futters (Kontrollmais-Stängel vs. Kontrollmais-Blätter; keine Mais-Suspension) auf die Entwicklung von parasitierten *C. partellus*-Larven und von *Cotesia flavipes*. In Abschnitt 3.3 werden die Ergebnisse zur Wirkung von *B.t.*-Mais-Suspension in Kontrollmais-Stängeln bzw. auf Kontrollmais-Blättern auf parasitierte *C. partellus*-Larven und auf *C. flavipes* erläutert.

3.1 Biotests zur Wirkung von *B.t.*-Mais auf nicht parasitierte *Chilo partellus*-Larven

Es wird die Wirkung von unterschiedlich stark konzentrierten *B.t.*-Mais-Suspensionen auf Kontrollmais-Blättern (3.1.1, 3.1.3) bzw. –Stängeln (3.1.4) auf *C. partellus*-Larven verschiedener Altersklassen beschrieben. Abschnitt 3.1.2 beschreibt den Einfluss der Verdunstung auf die zeitlichen Änderungen der Verdauungsparameter älterer Larvalstadien von *C. partellus* auf Kontrollmaisblättern mit Kontrollmais-Suspension. Darüber hinaus werden in Abschnitt 3.1.5 die Verdauungsparameter 1 mg schwerer, 15-33 mg schwerer und 40-70 mg schwerer *C. partellus*-Larven in der Kontrolle verglichen. Ferner werden in Abschnitt 3.1.6 die bei verschiedenen *B.t.*-Mais-Konzentrationen aufgenommenen *B.t.*-Mais-Mengen miteinander verglichen.

3.1.1 Wirkung von Kontrollmaisblättern mit verschieden stark konzentrierten *B.t.*-Maisblatt-Suspensionen auf höhere Larvalstadien von *C. partellus*

3.1.1.1 Mortalität an **Tag 1-2** (Konzentrationen 50 µg Mais / mg Nahrung; 12,5 µg Mais / mg Nahrung) bzw. **Tag 1-4** (5 µg Mais / mg Nahrung; 2,5 µg Mais / mg Nahrung)

Bei der Konzentration 2,5 µg Mais / mg Nahrung betrug die Mortalität 0 / 10 (Kontrolle) bzw. 2 / 10 (*B.t.*). Betrug die Konzentration 5 µg Mais / mg Nahrung, lag die Mortalität bei 1 / 9 (Kontrolle) bzw. 2 / 10 (*B.t.*). Bei höheren Konzentrationen wurden folgende Mortalitäten (Kontrolle vs. *B.t.*) beobachtet: 0 / 10 vs. 3 / 10 (12,5 µg Mais / mg Nahrung), sowie 1 / 10 vs. 1 / 10 (50 µg Mais / mg Nahrung). Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen *B.t.*- und Kontrollgruppen (Fishers exakter Test).

3.1.1.2 Verdauungsparameter an **Tag 1-2** (Konzentrationen 50 µg Mais / mg Nahrung; 12,5 µg Mais / mg Nahrung) bzw. **Tag 1-4** (5 µg Mais / mg Nahrung; 2,5 µg Mais / mg Nahrung)

Aufgenommene Nahrung (Abb 3 A): Bei den vier eingesetzten *B.t.*-Mais-Konzentrationen waren die Werte der *B.t.*-Gruppe signifikant geringer als in der Kontrolle. Bei 2,5 µg Mais /

mg Nahrung lag der Median der Kontrolle bei 34 mg / Tag, der Median der *B.t.*-Gruppe bei 16 mg / Tag; bei 5 µg Mais / mg Nahrung betrug der Kontrollmedian 31 mg / Tag, der *B.t.*-Median dagegen 8 mg / Tag. Stieg die Maiskonzentration weiter auf 12,5 bzw. 50 µg Mais / mg Nahrung, so lagen die Medianwerte in der Kontrolle bei 34 mg / Tag bzw. 44 mg / Tag, während sie in der *B.t.*-Gruppe bei 4 mg / Tag bzw. 5 mg / Tag lagen.

Zwischen den Werten bei verschiedenen Kontrollmais-Konzentrationen ergaben sich hinsichtlich der aufgenommenen Nahrung keine signifikanten Unterschiede; dagegen verringerte eine Erhöhung der *B.t.*-Mais-Konzentration die Menge der aufgenommenen Nahrung. Dabei lagen die Werte, die den beiden höchsten *B.t.*-Mais-Konzentrationen entsprachen, signifikant unter denjenigen der geringsten Konzentration.

Gewichtsdifferenz (Abb. 3 B). Bei den vier eingesetzten *B.t.*-Mais-Konzentrationen waren die Werte der *B.t.*-Gruppe signifikant geringer als in der Kontrolle. Bei einer Konzentration von 2,5 µg / mg Nahrung betrug der Kontroll-Median 3,4 mg / Tag, der *B.t.*-Median hingegen nur 0,9 mg / Tag; bei 5 µg / Nahrung lag der Kontrollmedian bei 3,3 mg / Tag, der *B.t.*-Median jedoch bei - 1,7 mg / Tag. Bei höheren Konzentrationen ergaben sich die folgenden Werte: 4,5 mg / Tag (Kontrolle, 12, 5 µg / mg Nahrung) und -3,0 mg / Tag (*B.t.*-Gruppe) bzw. 5,2 mg / Tag (Kontrolle, 50 µg / mg Nahrung) und -4,5 mg / Tag (*B.t.*-Gruppe).

Zwischen den Werten bei verschiedenen Kontrollmais-Konzentrationen bestand keinerlei signifikanter Unterschied. Demgegenüber führte eine Erhöhung der *B.t.*-Mais-Konzentration zu einem immer größeren Gewichtsverlust. Dabei lagen die Werte der beiden höchsten *B.t.*-Mais-Konzentrationen signifikant unter denjenigen der geringsten Konzentration.

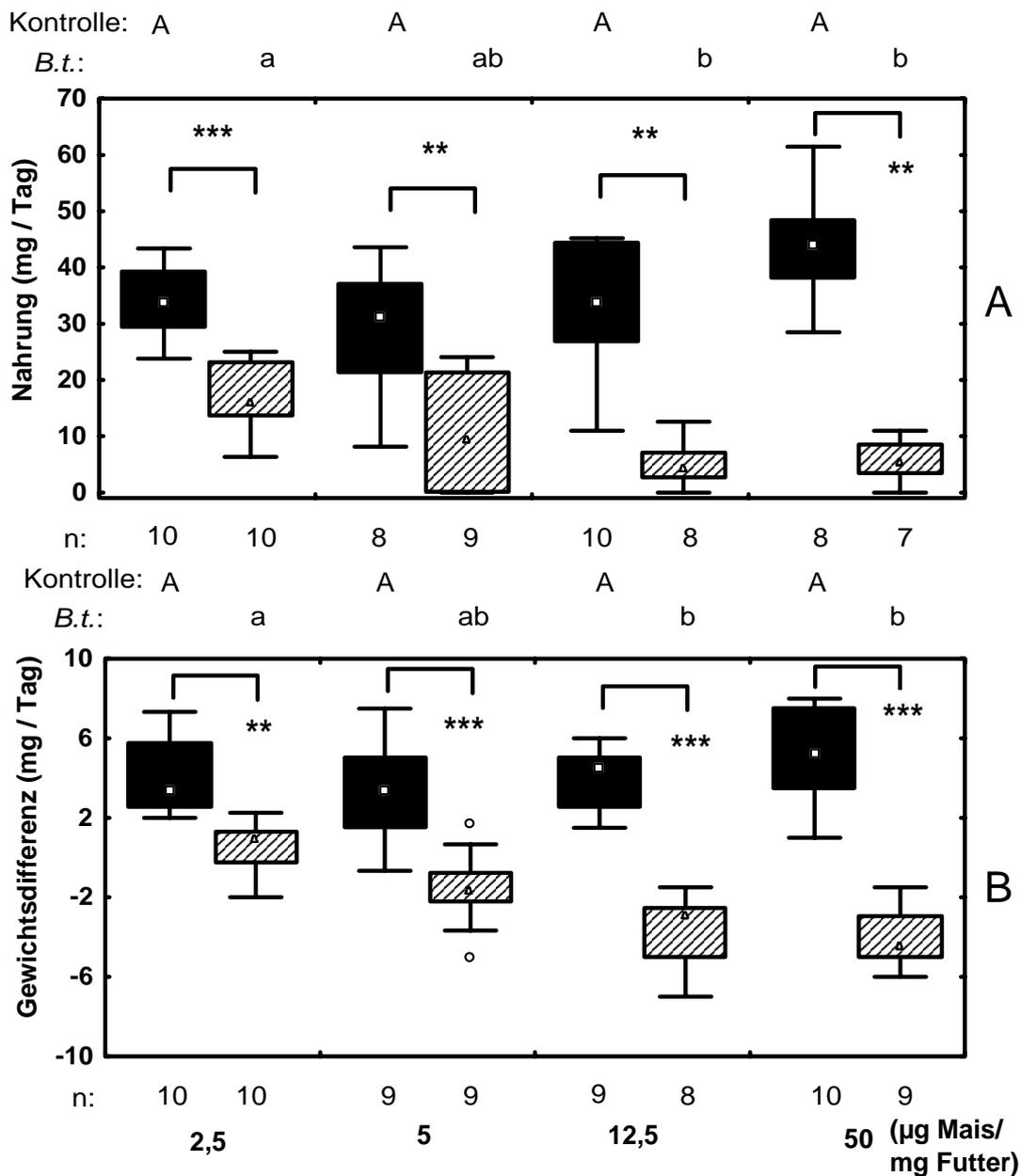
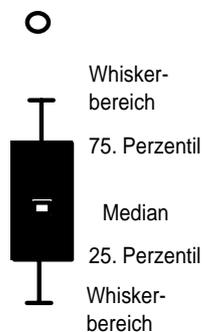


Abb. 3: Aufgenommene Nahrung (A) und Gewichts-differenz (B) unparasitierter *C. partellus*-Larven (Alter: 14-21 Tage; Gewicht: 15-33 mg) in Kontrolle (schwarz) und *B.t.*-Gruppe (gestreift) auf Kontrollmaisblättern bei verschiedenen Mais Konzentrationen. Zur graphischen Darstellung siehe Legende rechts bzw. Abschnitt 2.4. Unterschiedl. Buchstaben über den Graphiken weisen auf signifikante Unterschiede zwischen Kontrollgruppen (Großbuchstaben) und *B.t.*-Gruppen (Kleinbuchstaben). Versuchszeitraum: Tag 1-4 (2,5 bzw. 5 µg Mais / mg Nahrung), Tag 1-2 (12,5 bzw. 50 µg Mais / mg Nahrung). Nahrung, Kontrolle: F = 3,52; FG = 3, 33; p = 0,026; Bonferroni-Korrektur: n.s.; Nahrung, *B.t.*-Gruppe: H = 11,92; FG = 3, 33; p = 0,008. Gew.dif., Kontrolle: F = 1,23; FG = 3, 34; p = 0,32. Gew.dif, *B.t.*-Gruppe: H = 18,82; FG = 3, 33; p = 0,0002. 2,5 µg Mais, Nahrung: t = 6,2; p < 0,0001; Gew.dif.: D = 0,8; p < 0,005; 5 µg Mais, Nahrung: t = 3,35; p = 0,004; Gew.dif.: t = 4,31; p = 0,0005; 12,5 µg Mais, Nahrung: D = 0,9; p < 0,005; Gew.dif.: t = 8,79; p < 0,0001; 50 µg Mais, Nahrung: U = 0; Z = 3,24; p = 0,001; Gew.dif.: t = 9,87; p < 0,0001. n.s. = nicht signifikant; "FG" = Freiheitsgrade; Gew.dif. = Gewichts-differenz.



Relative Growth Rate (RGR; Abb. 4 A): Bei den vier eingesetzten *B.t.*-Mais-Konzentrationen waren die Werte der *B.t.*-Gruppe signifikant geringer als in der Kontrolle. Betrug die Mais-Konzentration 2,5 µg / mg Nahrung, so lag der Kontroll-Median bei 0,17, der *B.t.*-Median bei 0,04. Bei höheren Konzentrationen ergaben sich die folgenden Werte: 0,14 (Kontrolle; 5 µg / mg Nahrung) und -0,06 (*B.t.*-Gruppe); 0,26 (Kontrolle 12,5 µg / mg Nahrung) und -0,13 (*B.t.*-Gruppe); 0,22 (Kontrolle, 50 µg / mg Nahrung) und -0,17 (*B.t.*-Gruppe).

Zwischen den Werten bei verschiedenen Kontrollmais-Konzentrationen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Dagegen nahm die RGR in der *B.t.*-Gruppe mit steigender Konzentration ab. Dabei waren die Werte der beiden höchsten *B.t.*-Mais-Konzentrationen gegenüber der geringsten Konzentration signifikant verringert.

Relative Consumption Rate (RCR; Abb. 4 B): Bei den vier eingesetzten *B.t.*-Mais-Konzentrationen waren die Werte der *B.t.*-Gruppe signifikant geringer als in der Kontrolle. Bei einer Konzentration von 2,5 µg / mg Nahrung betrug der Kontroll-Median 1,57, der *B.t.*-Median 0,88; stieg die Konzentration auf 5 µg / mg Nahrung, so lag der Kontroll-Median bei 0,98, der *B.t.*-Median hingegen bei 0,34. Bei noch höheren Konzentrationen ergaben sich folgende Werte: 1,82 (Kontrolle, 12,5 µg / mg Nahrung) und 0,20 (*B.t.*-Gruppe); 1,63 (Kontrolle, 50 µg / mg Nahrung) und 0,27 (*B.t.*-Gruppe). Zwischen den Werten bei verschiedenen Kontrollmais-Konzentrationen bestanden keine signifikanten Unterschiede. Im Unterschied dazu nahm die RCR der *B.t.*-Gruppe bei steigender Konzentration ab. Dabei lagen die Werte der beiden höchsten Konzentrationen signifikant unter denjenigen der niedrigsten Konzentration.

Approximate Digestibility (AD; Abb. 5 A): Bei einer Konzentration von 2,5 µg Mais / mg Nahrung lag der Kontroll-Median hochsignifikant niedriger als der *B.t.*-Median (Kontrolle: 0,58; *B.t.*: 0,81). Bei den anderen Konzentrationen bestanden jedoch keine signifikanten Unterschiede (5 µg / mg Nahrung: 0,53 vs. 0,68; 12,5 µg / mg Nahrung: 0,70 vs. 0,67). In der *B.t.*-Gruppe nahm die AD mit steigender Konzentration ab. Dabei lagen die Werte der Konzentrationen 5 bzw. 12,5 µg / mg Nahrung signifikant niedriger als diejenigen der Konzentration 2,5 µg / mg Nahrung. In der Kontrolle ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Konzentrationen, allerdings war keine eindeutige Beziehung zwischen der Änderung der Konzentration und der Änderung der Kontroll-AD erkennbar: So waren die Werte bei einer Konzentration von 12,5 µg / mg Nahrung am höchsten. Diese waren signifikant höher als die Werte bei den Konzentrationen von 5 bzw. 50 µg / mg Nahrung. Zwischen den Werten bei der geringsten Konzentration und allen

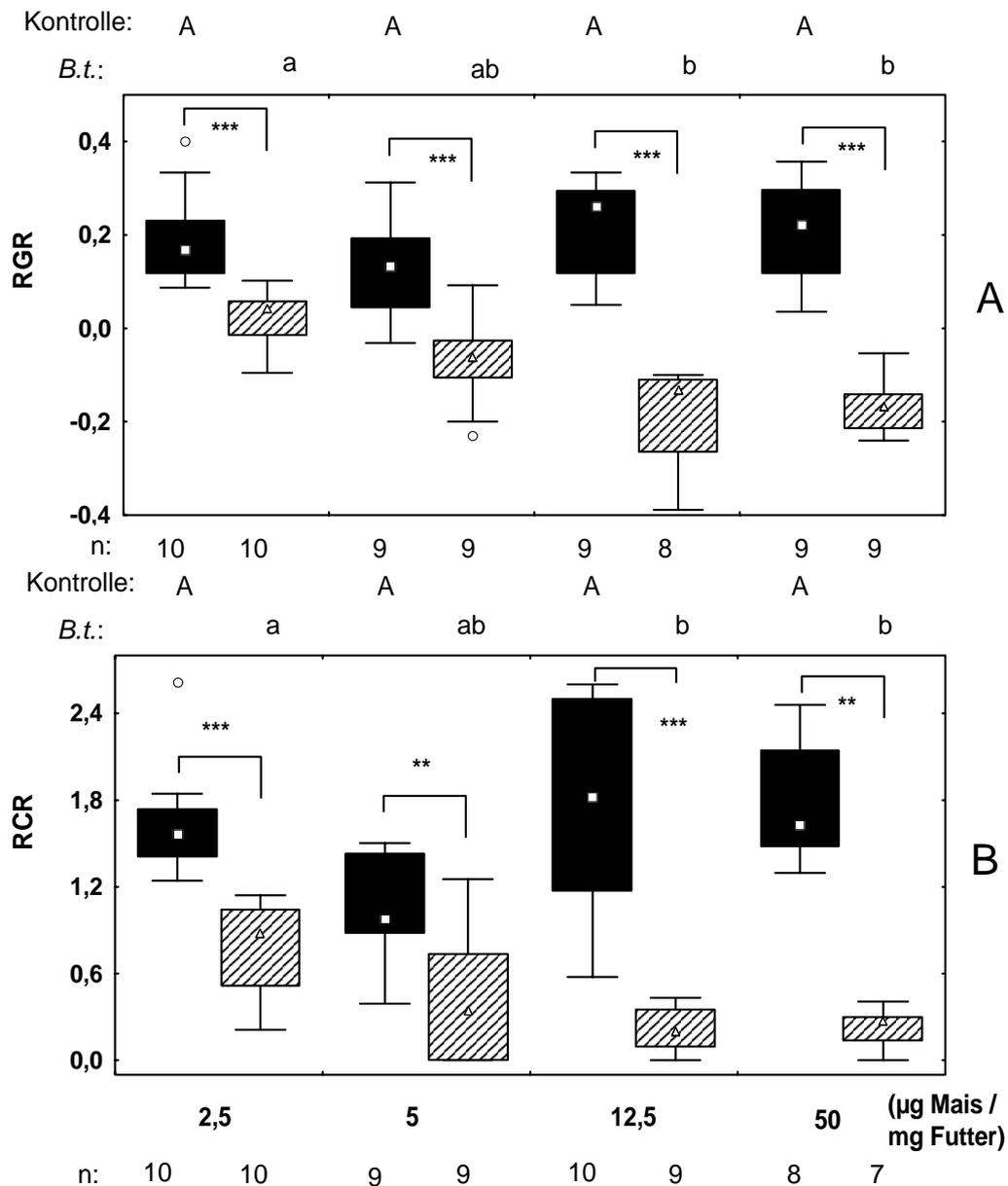


Abb. 4: Relative Growth Rate (RGR; A) und Relative Consumption Rate (RCR; B) unparasitierter *Chilo partellus*-Larven (Alter: 14-21 Tage; Gewicht: 15-33 mg) in Kontrolle (schwarz) und *B.t.*-Gruppe (gestreift) auf Kontrollmaissblättern bei verschiedenen Mais-Konzentrationen.

Zur graphischen Darstellung und weiteren Erläuterung siehe Abb. 3.

RGR, Kontrolle: $F = 1,47$; $FG = 3, 33$; $p = 0,240$.

RGR, *B.t.*-Gruppe: $H = 19,84$; $FG = 3, 33$; $p = 0,0002$.

RCR, Kontrolle: $F = 4,18$; $FG = 3, 33$; $p = 0,013$; Bonferroni-Korrektur: n.s..

RCR, *B.t.*-Gruppe: $H = 13,57$; $FG = 3, 33$; $p = 0,0036$.

2,5 µg Mais, RGR: $t = 4,63$; $p = 0,0001$; RCR: $D = 1$; $p < 0,001$.

5 µg Mais, RGR: $t = 3,90$; $p = 0,001$; RCR: $t = 3,26$; $p = 0,004$;

12,5 µg Mais, RGR: $U = 36$; $Z = 3,46$; $p = 0,0005$; RCR: $D = 1$; $p < 0,001$.

50 µg *B.t.*-Mais, RGR: $t = 8,83$; $p < 0,0001$; RCR: $U = 0$; $Z = 3,24$; $p = 0,0012$.

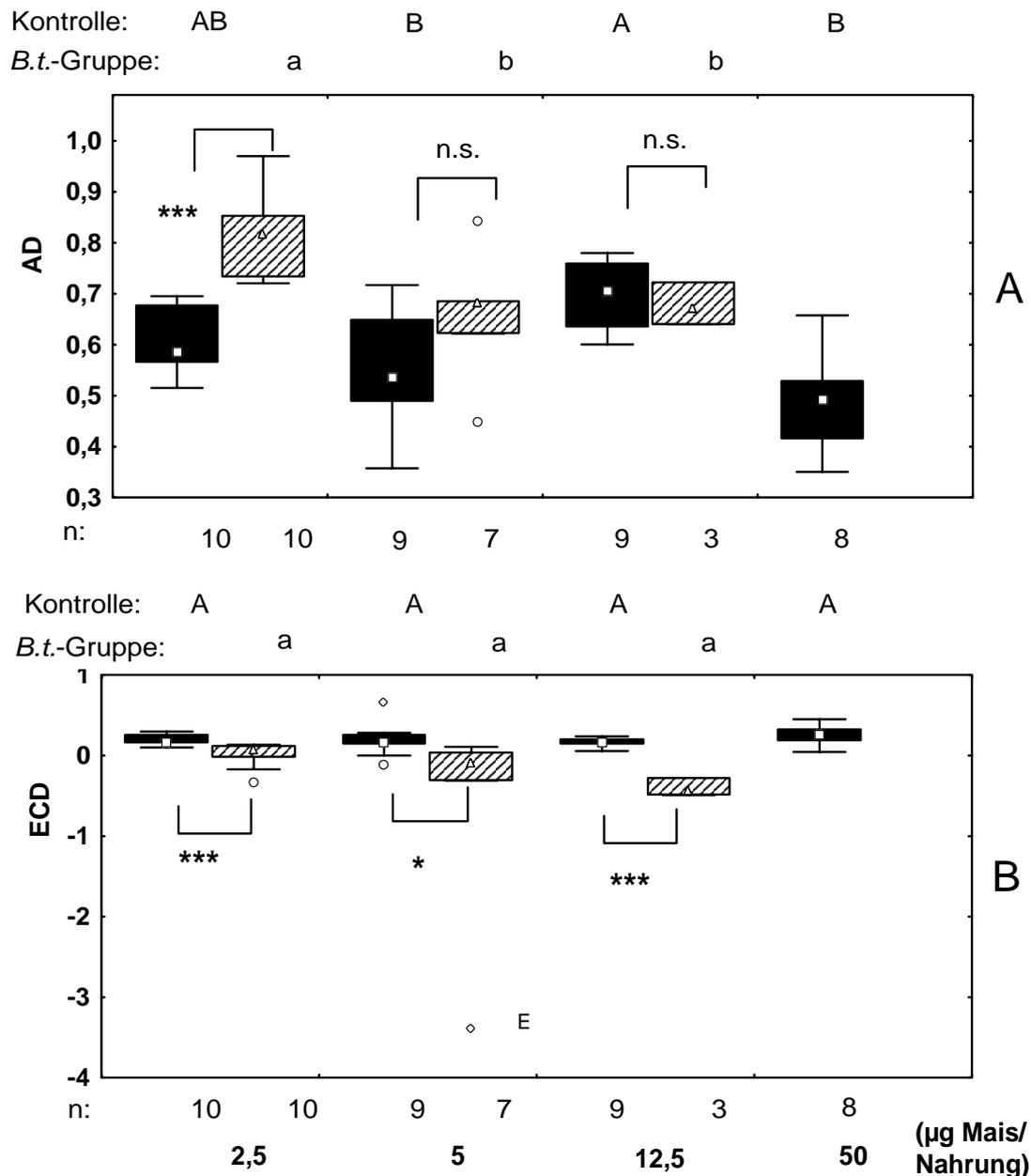


Abb. 5: Approximate Digestibility (AD; A) und Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter (ECD; B) unparasitierter *Chilo partellus*-Larven (Alter: 14-21 Tage; Gewicht: 15-33 mg) in Kontrolle (schwarz) und B.t.-Gruppe (gestreift) auf Kontrollmaisblättern bei verschiedenen Mais-Konzentrationen. Zur graphischen Darstellung und weiteren Erläuterung siehe Abb. 3. "E" = Extremwert (siehe Abschnitt 2.4).

AD, Kontrolle: H = 15,47; FG = 3, 33; p = 0,0002.

AD, B.t.-Gruppe: 2,5 µg - 5 µg: D = 0,86; p = 0,005; 2,5 µg - 12,5 µg: U = 1;

Z = 2,37; p = 0,018; 5 µg - 12,5 µg: U = 9; Z = -0,34; p = 0,73;

ECD, Kontrolle: H = 3,75; FG = 3, 33; p = 0,29.

ECD, B.t.-Gruppe: 2,5 µg - 5 µg: U = 16; Z = 1,85; p = 0,064; 2,5 µg -

12,5 µg: U = 1; Z = 2,37; p = 0,018: n.s. (Bonferroni-Korrektur); 5 µg - 12,5 µg:

U = 5; Z = 1,25; p = 0,21; 2,5 µg Mais, AD: D = 1; p < 0,001; ECD: D = 0,9; p

< 0,001. 5 µg Mais, AD: t = -1,6; p = 0,13; ECD: U = 9; Z = -2,381; p = 0,017;

12,5 µg Mais, AD: U = 13; Z = 0,09; p = 0,93; ECD: t = 12,16; p < 0,0001.

anderen Konzentrationen bestand jedoch kein signifikanter Unterschied. Für die stärkste Konzentration konnte die AD in der *B.t.*-Gruppe nicht mehr korrekt bestimmt werden, weil die (stark geschwächten) *C. partellus*-Larven zwar noch wenig Nahrung aufnahmen, jedoch keinen Kot mehr ausschieden (siehe Abschnitt 2.3.2: „Voraussetzungen für die korrekte Interpretation und Messung der Verdauungsparameter AD und ECD“).

Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter (ECD; Abb. 5 B): Die Werte der Kontrollgruppe lagen signifikant höher als in der *B.t.*-Gruppe: bei einer Konzentration von 2,5 µg / mg Nahrung lag der Kontrollmedian bei 0,16, der *B.t.*-Median bei 0,06. Bei 5 µg / mg Nahrung betrug der Kontrollmedian 0,16, der *B.t.*-Median hingegen –0,10. Bei der Konzentration 12,5 µg, so lag der Kontroll-Median bei 0,16 und der *B.t.*-Median bei –0,44. Bei 50 µg / mg Nahrung nahmen die (stark geschwächten) *C. partellus*-Larven in der *B.t.*-Gruppe noch Nahrung auf, gaben aber keinen Kot mehr ab. Deswegen konnte die ECD der *B.t.*-Gruppe bei dieser Konzentration nicht mehr korrekt bestimmt werden (siehe Abschnitt 2.3.2: „Voraussetzungen für die korrekte Interpretation und Messung der Verdauungsparameter AD und ECD“). Weder für die *B.t.*-Gruppe noch für die Kontrolle ergaben sich signifikante Änderungen der Werte in Abhängigkeit von der Konzentration.

Efficiency of Conversion of Ingested Food into Body Matter (ECI; Abb. 6): Bei einer Konzentration von 2,5 µg, 5 µg, 12,5 und 50 µg Mais / mg Nahrung waren die Kontroll-Werte signifikant höher als die *B.t.*-Werte: 0,11 vs. 0,05 (2,5 µg), 0,10 vs. –0,09 (5 µg), 0,11 vs. –0,32 (12,5 µg) und 0,13 vs. –0,64 (50 µg). Für die Kontrolle ergaben sich keine Änderungen der Werte in Abhängigkeit von der Konzentration. Jedoch lagen die Werte bei der höchsten *B.t.*-Mais-Konzentration signifikant unter den Werten bei der geringsten *B.t.*-Mais-Konzentration.

Korrelationen zwischen aufgenommener Nahrung, AD, ECD und Gewichts­differenz (Abb. 7): Bei einer Maisblattkonzentration von 2,5 µg / mg Nahrung waren sowohl Nahrungsmenge als auch ECD in der Kontrolle hochsignifikant positiv mit der Gewichts­differenz korreliert. In der *B.t.*-Gruppe ergab sich ebenfalls eine hochsignifikant positive Korrelation zwischen ECD und Gewichtszunahme. Bei einer Konzentration von 5 µg / mg Nahrung waren in der Kontrolle nur ECD und Gewichtszunahme hochsignifikant positiv miteinander korreliert. In der *B.t.*-Gruppe bestand eine hochsignifikant positive Korrelation zwischen Nahrungsmenge und Gewichts­differenz. Waren die Korrelationen signifikant, so betrug das Bestimmtheitsmaß r^2 mindestens 0,76, der Spearman-Rho-Koeffizient R mindestens 0,85. Bei höheren Konzentrationen waren die Parameter Nahrung und ECD einerseits und die Gewichts­differenz andererseits nicht signifikant miteinander korreliert. Bei

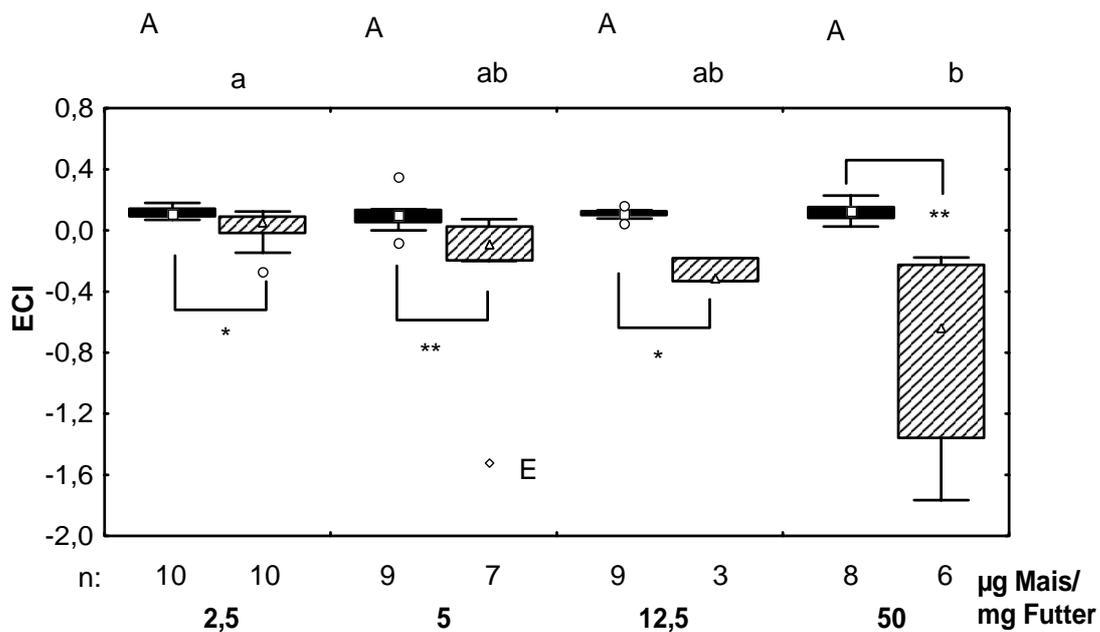


Abb. 6: Efficiency of Conversion of Ingested Food into Body Matter (ECI) unparasitierter *Chilo partellus*-Larven (Alter: 14-21 Tage; Gewicht: 15-33 mg) in Kontrolle (schwarz) und B.t.-Gruppe (gestreift) auf Kontrollmaisblättern bei verschiedenen Mais-Konzentrationen.

Zur graphischen Darstellung und weiteren Erläuterung siehe Abb. 3.

ECI, Kontrolle: $F = 1,87$; $FG = 3, 32$; $p = 0,154$;

ECI, B.t.-Gruppe : 2,5 µg - 5 µg: $U = 16$; $Z = 1,85$; $p = 0,064$;

2,5 µg - 12,5 µg: $U = 1$; $Z = 2,37$; $p = 0,018$ (Bonferroni-Korrektur: n.s.);

12,5 µg - 5 µg: $U = 4$; $Z = 1,48$; $p = 0,138$; 50 µg - 2,5 µg: $U = 2$; $p = 0,0024$

50 µg - 5 µg: $U = 6$; $Z = 2,14$; $p = 0,032$ (Bonferroni-Korrektur: n.s.);

50 µg - 12,5 µg: $U = 5$; $Z = 1,03$; $p = 0,31$.

2,5 µg Mais: $D = 0,7$; $p < 0,025$;

5 µg Mais: $U = 6$; $Z = 2,70$; $p = 0,007$;

12,5 µg Mais: $D = 1$; $p < 0,025$;

50 µg Mais: $D = 1$; $p < 0,005$.

E = Extremwert.

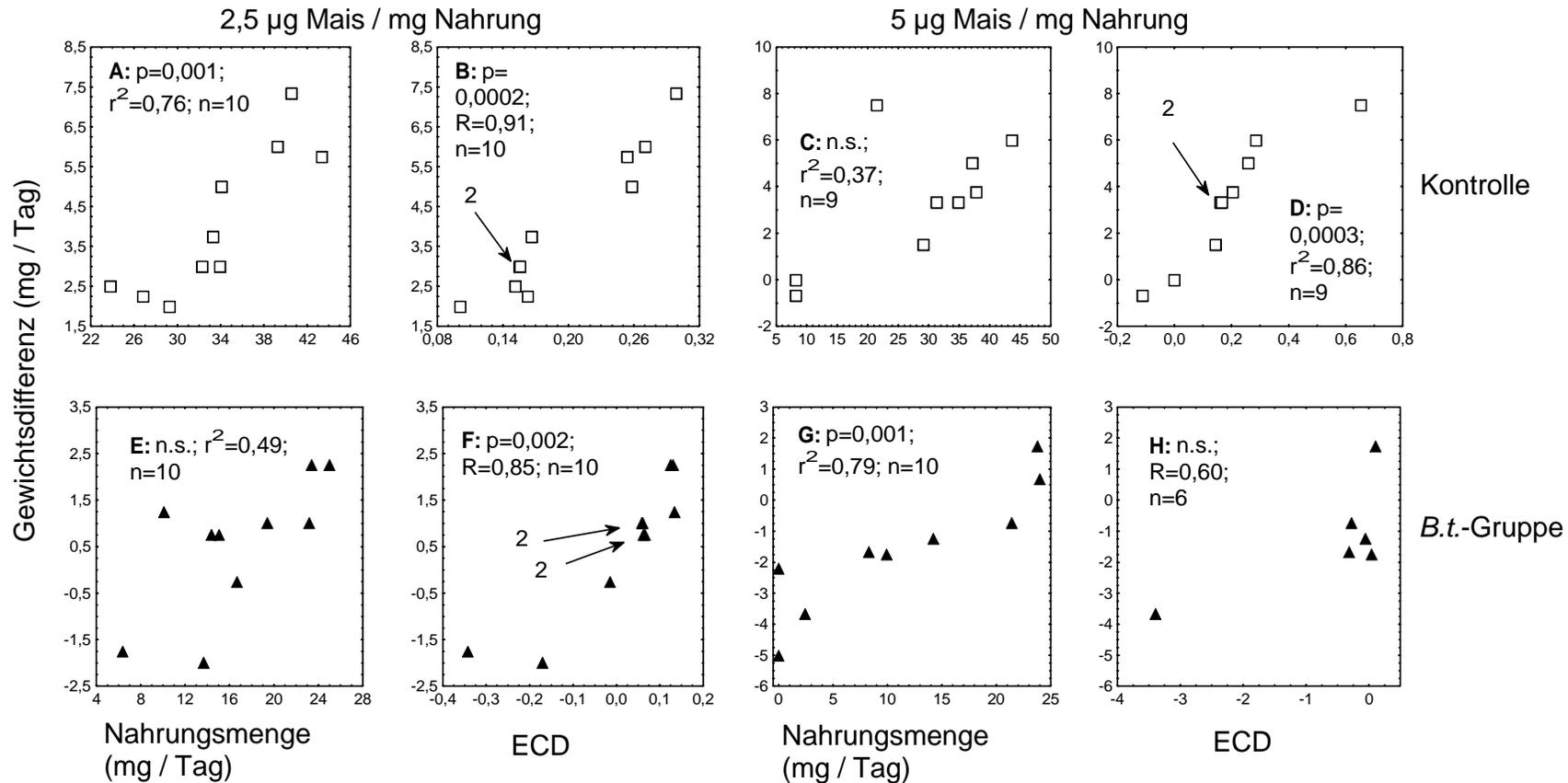


Abb. 7: Korrelationen zwischen der gefressenen Nahrungsmenge, der Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter (ECD) und der Gewichts-differenz von *Chilo partellus*-Larven (Alter: 14-21 Tage; Gewicht: 15-33 mg) auf Blattfütter an Tag 1-4 in der Kontrolle und B.t.-Gruppe bei verschiedenen Mais-Konzentrationen.

Die Mais-Konzentration betrug 2,5 μ g bzw. 5 μ g / mg Nahrung. "2" verweist auf 2 fast identische Werte. "r"= Pearsons r; "R" = Spearman-Rho-Koeffizient; C: p = 0,061; E: p = 0,03 (Bonferroni-Korrektur: n.s.); H: p = 0,2. n.s. = nicht signifikant.

keiner Konzentration waren signifikante Korrelationen zwischen der Nahrung und der AD zu finden oder zwischen Nahrung und ECD.

3.1.1.3 Mortalität an Tag 4-8 (Konzentration 2,5 µg Mais / mg Nahrung)

Die Mortalitäten betragen 0 / 10 (Kontrolle) bzw. 1 / 8 (*B.t.*-Gruppe). Der Unterschied war nicht signifikant (Fishers exakter Test).

3.1.1.4 Verdauungsparameter an Tag 4-8 (Konzentration 2,5 µg Mais / mg Nahrung)

Aufgenommene Nahrung (Abb. 8 A): Die Unterschiede zwischen Kontrolle und *B.t.*-Gruppe waren – im Gegensatz zu Tag 1-4 – nicht signifikant: Der Kontroll-Median betrug 30 mg / Tag (Tag 1-4: 34 mg / Tag), der *B.t.*-Median 22 mg (Tag 1-4: 16 mg).

Gewichtsdifferenz (Abb. 8 B): Die Kontrollwerte lagen signifikant über den *B.t.*-Werten; der Kontrollmedian betrug 2,3 mg (Tag 1-4: 3,4 mg), der *B.t.*-Median 0,8 mg (Tag 1-4: 0,9 mg).

Relative Growth Rate (RGR; Abb. 8 C): Die Unterschiede zwischen Kontrolle und *B.t.*-Gruppe waren – im Gegensatz zu Tag 1-4 – nicht signifikant. Der Kontrollmedian lag bei 0,07 (Tag 1-4: 0,17), der *B.t.*-Median bei 0,03 (Tag 1-4: 0,04).

Relative Consumption Rate (RCR; Abb. 8 D): Es gab – im Gegensatz zu Tag 1-4 – keine signifikanten Unterschiede zwischen *B.t.*- und Kontrollgruppe. Der Kontroll-Median betrug 0,91 (Tag 1-4: 1,57), der *B.t.*-Median 0,89 (Tag 1-4: 0,88).

Approximate Digestibility (AD; Abb. 9 A): Die *B.t.*-Werte waren – im Gegensatz zu Tag 1-4 – nicht signifikant von den Kontrollwerten zu unterscheiden. Der Kontroll-Median betrug 0,59 (Tag 1-4: 0,58), der *B.t.*-Median 0,66 (Tag 1-4: 0,81).

Efficiency of conversion of digested food into body matter (ECD; Abb. 9 B): Die Unterschiede zwischen Kontrolle und *B.t.*-Gruppe waren – im Gegensatz zu Tag 1-4 – nicht signifikant. Der Kontrollmedian lag bei 0,17 (Tag 1-4: 0,17), der *B.t.*-Median bei 0,06 (Tag 1-4: 0,06).

Efficiency of Conversion of Ingested Food into Body Matter (ECI, Abb. 9 C): Die Kontrollwerte lagen signifikant über den *B.t.*-Werten. Der Kontrollmedian betrug 0,08 (Tag 1-4: 0,11), der *B.t.*-Median 0,05 (Tag 1-4: 0,05).

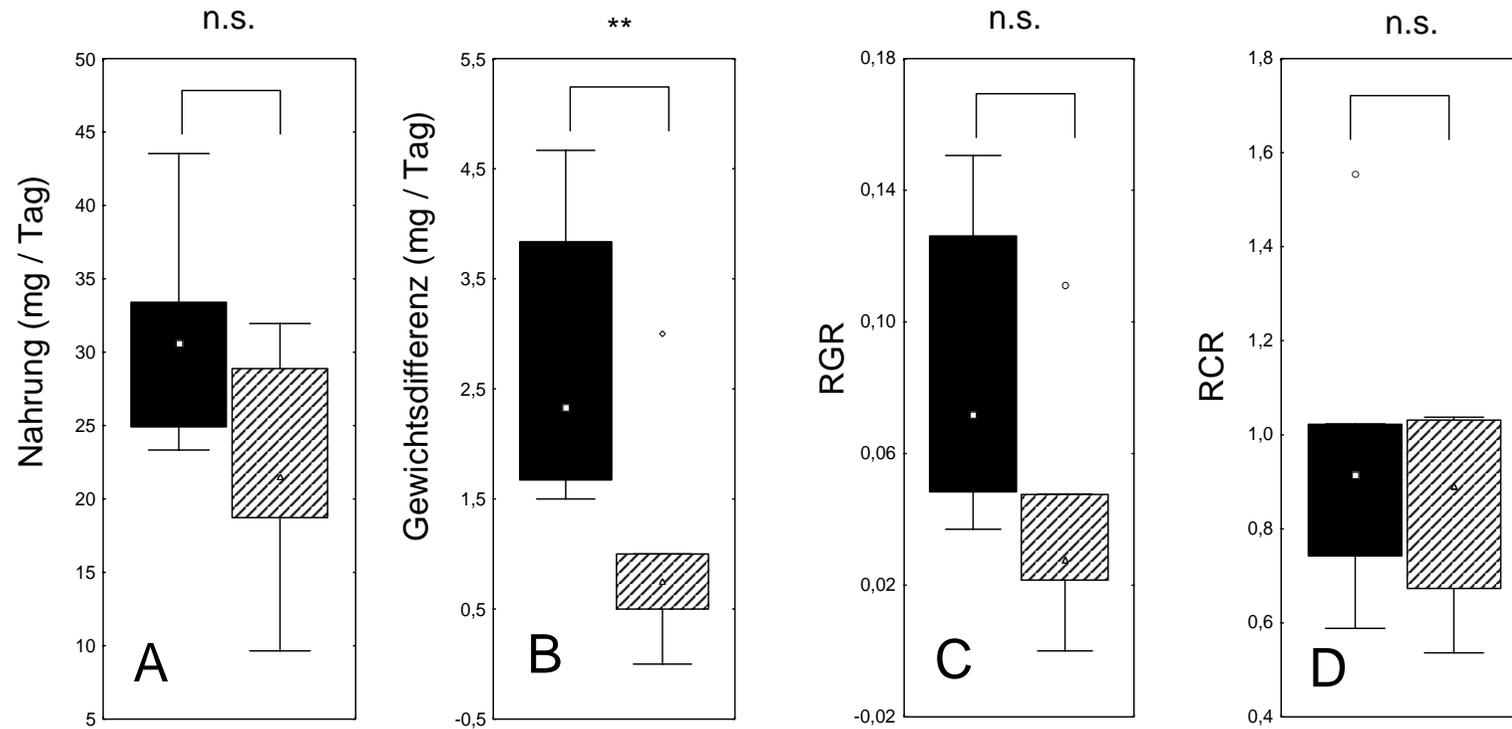


Abb. 8: Aufgenommene Nahrung (A), Gewichtsdifferenz (B), Relative Growth Rate (RGR; C) und Relative Consumption Rate (RCR; D) unparasitierter *Chilo partellus*-Larven (Alter: 14 Tage, Gewicht: 15-33 mg an Tag 1) in Kontrolle (schwarz) und B.t.-Gruppe (gestreift) auf Kontrollmaisblättern bei einer Konzentration von 2,5 µg Mais pro mg Nahrung an Tag 5-8 des Experiments. Zur graphischen Darstellung siehe Abb. 3.

Nahrung: $t = 2,17$; $p = 0,049$; Bonferroni-Korrektur: n.s.;

Gewichtsdifferenz: $U = 5$; $Z = 2,66$; $p = 0,007$;

RGR: $t = 2,8$; $p = 0,048$; Bonferroni-Korrektur: n.s.

RCR: $t = 0,72$; $p = 0,48$.

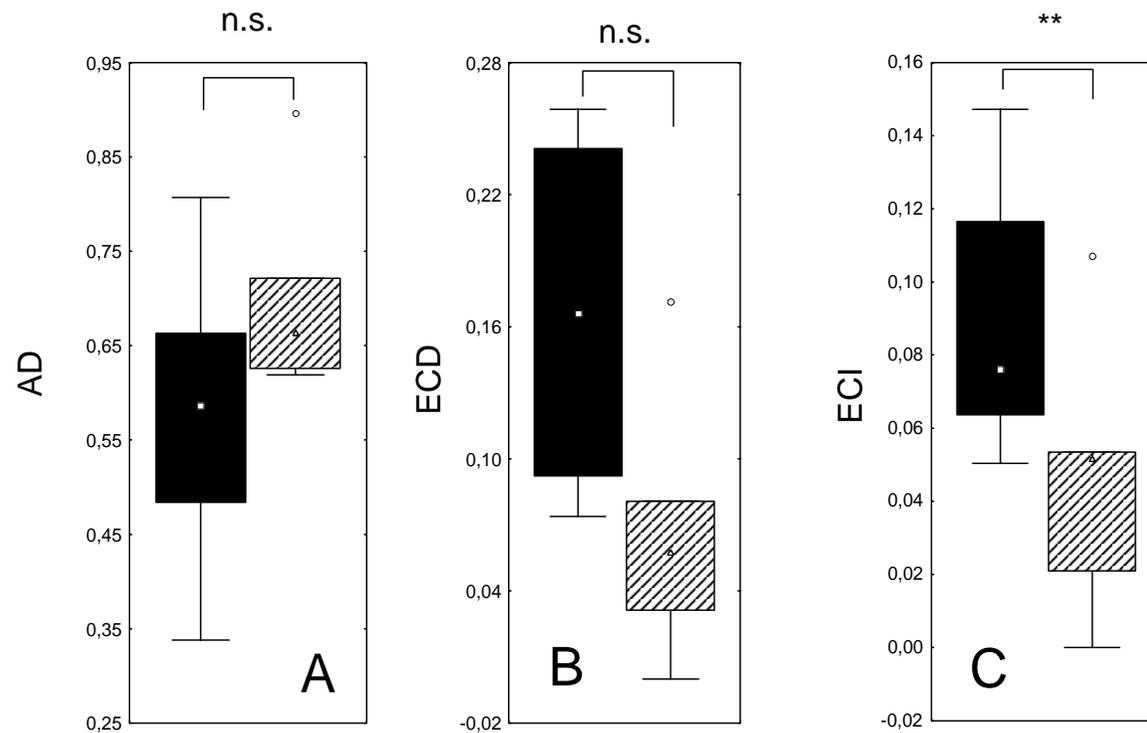


Abb. 9: Approximate Digestibility (AD; A), Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter (ECD; B) und Efficiency of Conversion of Ingested Food into Body Matter (ECI; C) unparasitierter *Chilo partellus*-Larven (Alter 14 Tage, Gewicht: 15-33 mg an Tag 1) in Kontrolle (schwarz) und *B.t.*-Gruppe (gestreift) auf Kontrollmaisblättern bei einer Konzentration von 2,5 µg Mais pro mg Nahrung an Tag 5-8 des Experiments.

Zur graphischen Darstellung siehe Abb. 3.

AD: $U = 13$; $Z = 1,74$; $p = 0,083$;

ECD: $t = 2,86$; $p = 0,013$; Bonferroni-Korrektur: n.s.

ECI: $t = 3,83$; $p = 0,0021$.

3.1.2 Einfluss des Wasserverlusts der Nahrung auf die zeitlichen Änderungen der Verdauungsparameter älterer Larvalstadien von *C. partellus* auf Kontrollmaisblättern mit Kontrollmais-Suspension

Mortalität an Tag 1-8: In Petrischalen und Eppendorfgefäßen betrug die Mortalität 0 / 10.

Verdauungsparameter

Aufgenommene Nahrung (Abb. 10 A): Weder an Tag 1-4 noch an 5-8 gab es signifikante Unterschiede zwischen Petrischale und Eppendorfgefäß in bezug auf die aufgenommene Nahrung: Die Mediane lagen bei 41 mg / Tag vs. 34 mg / Tag (Tag 1-4; Eppendorfgefäß vs. Petrischale) bzw. bei 34 mg / Tag vs. 29 mg / Tag (Tag 5-8).

Gewichtsdifferenz (Abb. 10 B): Die Unterschiede zwischen Eppendorfgefäß und Petrischale in bezug auf die Gewichtsdifferenz waren sowohl an Tag 1-4 als auch an Tag 5-8 nicht signifikant. Die Mediane betragen 3,5 mg / Tag vs. 3,4 mg / Tag (Tag 1-4; Eppendorfgefäß vs. Petrischale) bzw. 1,5 mg / Tag vs. 2 mg / Tag (Tag 5-8).

Relative Growth Rate (RGR; Abb. 10 C): Weder an Tag 1-4 noch an 5-8 gab es Unterschiede zwischen Petrischale und Eppendorfgefäß in bezug auf die RGR. Die Mediane lagen bei 0,14 und 0,17 (Tag 1-4: Eppendorfgefäß vs. Petrischale) bzw. bei 0,05 und 0,06 (Tag 5-8).

Relative Consumption Rate (RCR; Abb. 10 D): Die Werte der RCR in Eppendorfgefäß und Petrischale waren weder an Tag 1-4 noch an Tag 5-8 signifikant voneinander zu unterscheiden. Die Mediane betragen 1,52 und 1,57 (Tag 1-4; Eppendorfgefäß vs. Petrischale) bzw. 0,83 vs. 0,69 (Tag 5-8).

Approximate Digestibility (AD, Abb. 11 A): An Tag 1-4 lagen die Werte der AD im Eppendorfgefäß signifikant höher als in der Petrischalenwerte. Die Mediane betragen 0,69 und 0,58 (Eppendorf vs. Petrischale). An Tag 5-8 war der Unterschied nicht signifikant.

Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter (ECD; Abb. 11 B): Weder an Tag 1-4 noch an Tag 5-8 waren die Unterschiede zwischen beiden Gruppen signifikant.

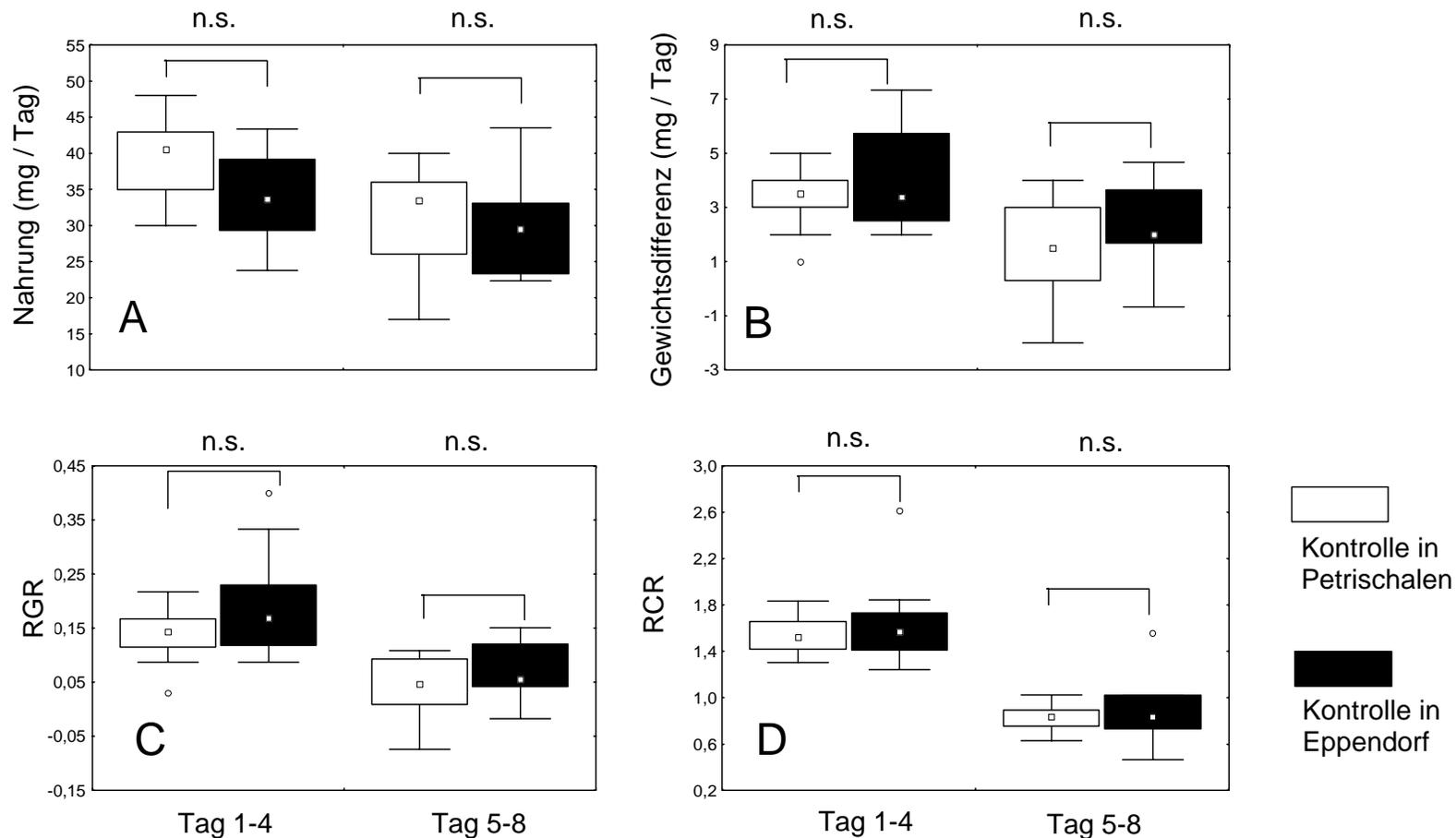


Abb. 10: Aufgenommene Nahrung (A), Gewichtsdifferenz (B), Relative Growth Rate (RGR; C) und Relative Consumption Rate (RCR; D) unparasitierter *Chilo partellus*-Larven (Alter: 14 Tage; Gewicht: 15-33 mg) der Kontrollgruppe in Petrischalen und Eppendorfgefäßen auf Kontrollmaisblättern bei einer Konzentration von 2,5 µg Mais / mg Nahrung. n (alle Gruppen) = 10. Zur graphischen Darstellung siehe Abb. 3.
 Nahrung: Tag 1-4: $t = 2,24$; $p = 0,038$ (Bonferroni-Korrektur: n.s.); Tag 5-8: $t = 0,52$; $p = 0,61$.
 Gewichtsdifferenz: Tag 1-4: $t = 0,932$; $p = 0,36$; Tag 5-8: $t = 0,88$; $p = 0,39$.
 RGR: Tag 1-4: $d = 0,4$; $p > 0,1$; Tag 5-8: $t = 1,18$; $p = 0,26$.
 RCR: Tag 1-4: $U = 46$; $Z = 0,3$; $p = 0,76$; Tag 5-8: $U = 49$; $Z = -0,68$; $p = 0,94$.

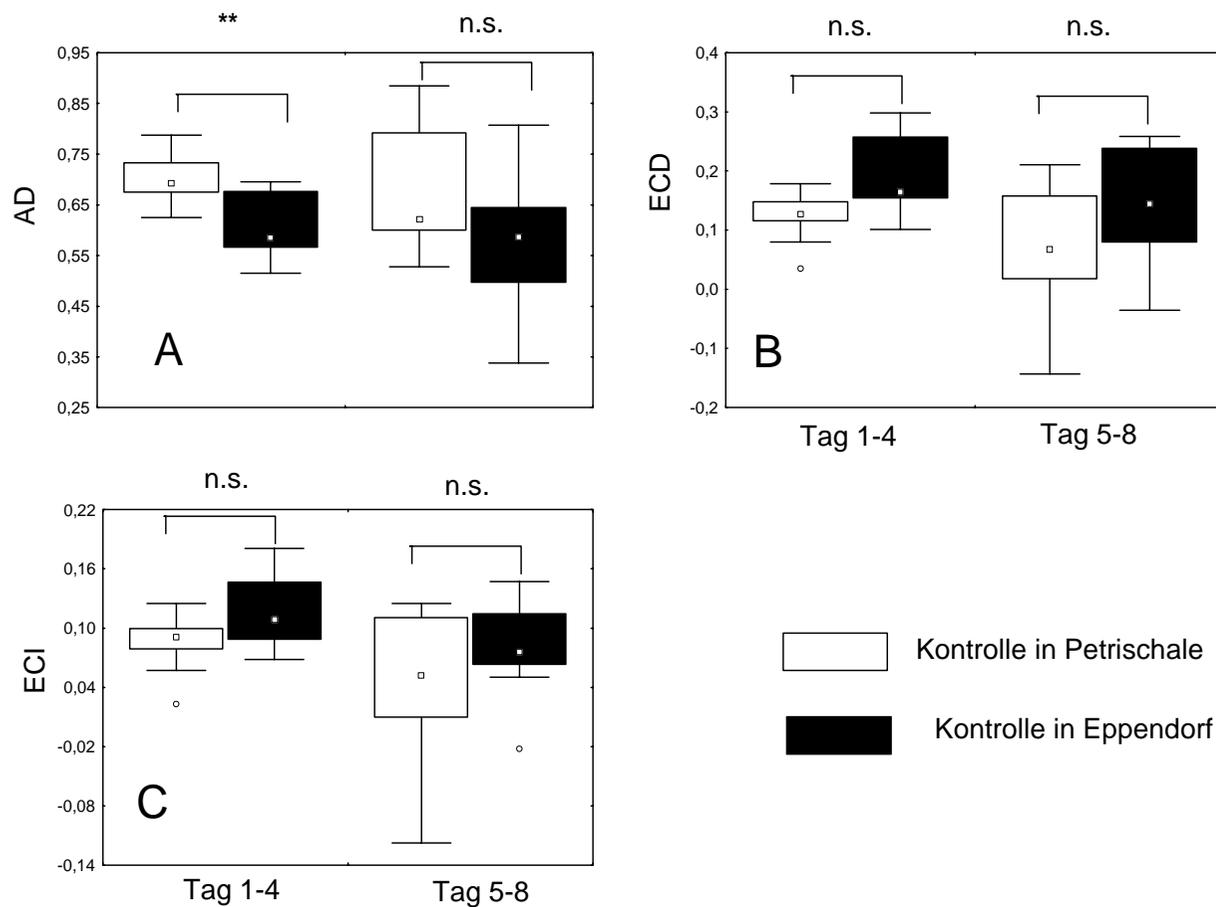


Abb. 11: Approximate Digestibility (AD; A), Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter (ECD; B) und Efficiency of Conversion of Ingested Food into Body Matter (ECI; C) unparasitierter *Chilo partellus* - Larven (Alter: 14 Tage; Gewicht 15-33 mg) der Kontrollgruppe in Petrischalen und Eppendorfgefäßen auf Kontrollmaisblättern bei einer Konzentration von 2,5 µg Mais / mg Nahrung. n (alle Gruppen) = 10. Zur graphischen Darstellung siehe Abb. 3.

AD: Tag 1-4: $t = 3,80$; $p = 0,004$; Tag 5-8: $t = 1,57$; $p = 0,14$.

ECD: Tag 1-4: $D = 0,4$; $p > 0,1$; Tag 5-8: $t = 1,69$; $p = 0,11$.

ECI: Tag 1-4: $t = 2,04$; $p = 0,06$; Tag 5-8: $t = 1,20$; $p = 0,24$.

Die Mediane betragen 0,13 vs. 0,16 (Tag 1-4; Eppendorf vs. Petrischale) bzw. 0,09 vs. 0,14 (Tag 5-8).

Efficiency of Conversion of Ingested Food into Body Matter (ECI; Abb. 11 C): Weder an Tag 1-4 noch an Tag 5-8 waren die Unterschiede zwischen beiden Gruppen signifikant. Die Mediane lagen bei 0,09 vs. 0,11 (Tag 1-4; Eppendorf vs. Petrischale) bzw. bei 0,05 vs. 0,08 (Tag 5-8).

3.1.3 Wirkung von Kontrollmaisblättern mit *B.t.*-Maisblatt-Suspension auf junge Larvalstadien von *C. partellus*

Mortalität: Von je 50 eingesetzten Larven starben in der Kontrolle 0 und in der *B.t.*-Gruppe eine Larve. Der Unterschied war nicht signifikant (Fishers exakter Test).

Verdauungsparameter:

Aufgenommene Nahrung (Abb. 12 A): Die Werte der Kontrolle (Median: 5,6 mg / Tag) lagen signifikant höher als die Werte der *B.t.*-Gruppe (3,0 mg / Tag).

Gewichtsdifferenz (Abb. 12 B): Die Werte der Kontrolle (Median: 0,97 mg / Tag) lagen signifikant höher als die Werte der *B.t.*-Gruppe (0,38 mg / Tag).

Relative Growth Rate (RGR; Abb. 12 C): Die Werte der Kontrolle (Median: 1,47) lagen signifikant höher als die Werte der *B.t.*-Gruppe (0,40 mg / Tag).

Relative Consumption Rate (RCR; Abb. 12 D): Die Werte der Kontrolle (Median: 8,21) lagen signifikant höher als die Werte der *B.t.*-Gruppe (3,63).

Approximate Digestibility (AD; Abb. 13 A): Die Werte der Kontrolle (Median: 0,69) lagen signifikant niedriger als die Werte der *B.t.*-Gruppe (0,77).

Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter (ECD, Abb. 13 B): Die Werte der Kontrolle (Median: 0,26) lagen signifikant höher als die Werte der *B.t.*-Gruppe (0,15).

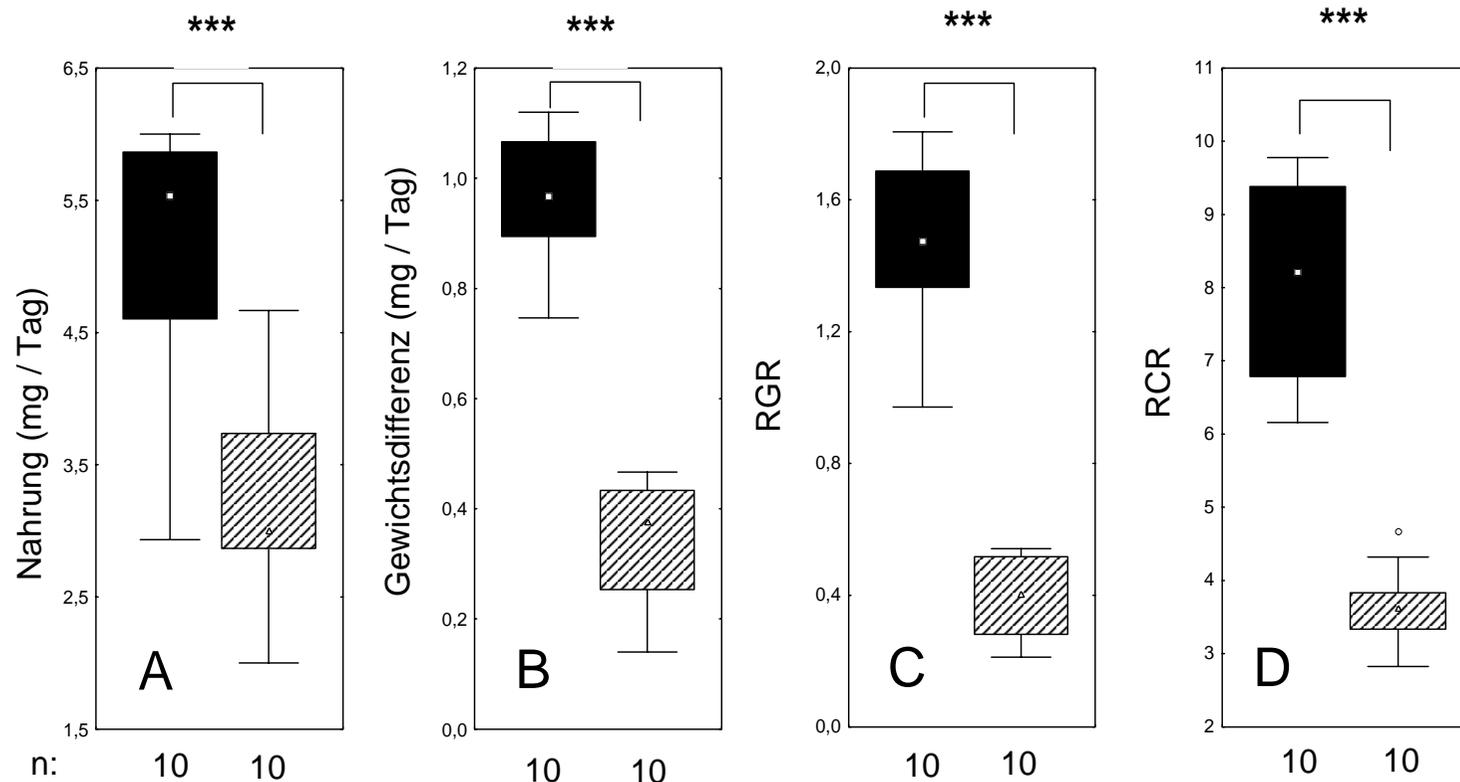


Abb. 12: Aufgenommene Nahrung (A), Gewichtsdiffrenz (B), Relative Growth Rate (RGR; C) und Relative Consumption Rate (RCR; D) unparasitierter 4 Tage alter *Chilo partellus*-Larven (Gewicht: ca. 1 mg) in Kontrolle (schwarz) und *B.t.*-Gruppe (gestreift) auf Kontrollmaisblättern bei einer effektiven Konzentration von 2,5 μg Mais pro mg Nahrung. Zur graphischen Darstellung siehe Abb. 3.

Nahrung: $t = 4,62$; $p = 0,0002$.

Gewichtsdiffrenz: $t = 11,95$; $p < 0,0001$.

RGR: $U = 0$; $Z = 3,78$; $p < 0,0001$.

RCR: $D = 1$; $p < 0,001$.

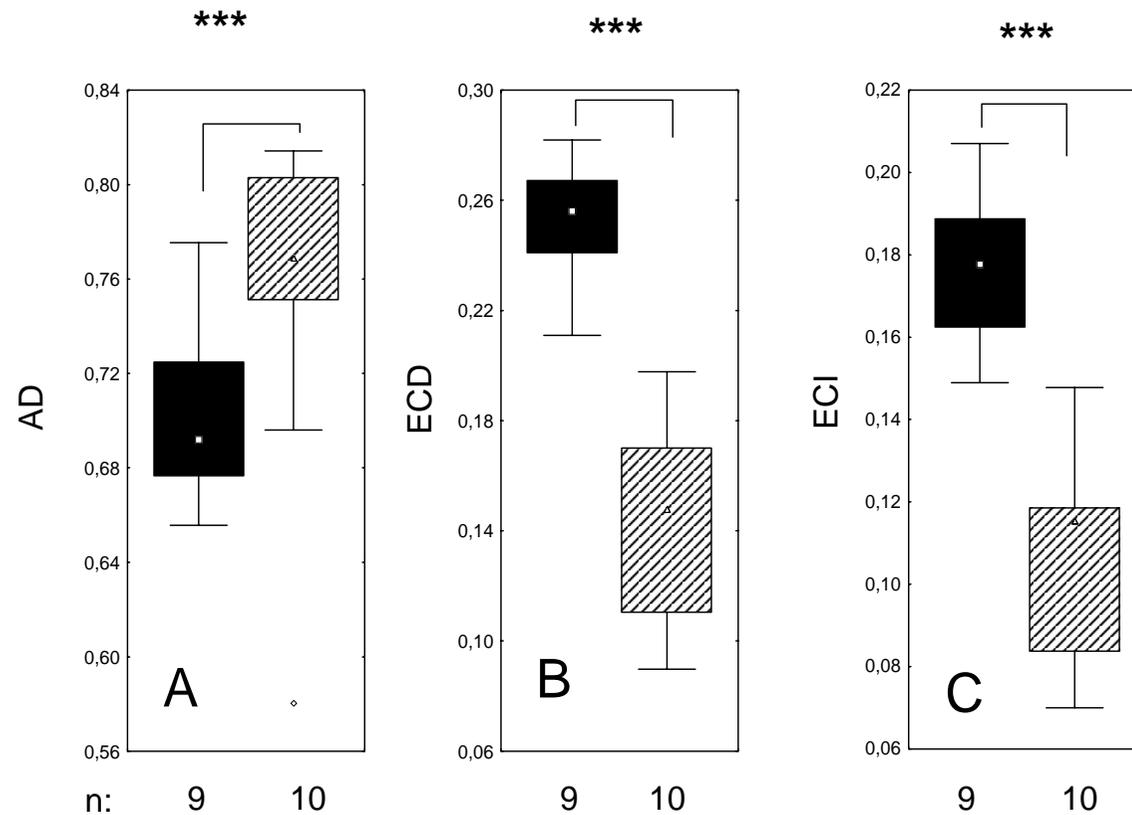


Abb. 13: Approximate Digestibility (AD; A), Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter (ECD; B) und Efficiency of Conversion of Ingested Food into Body Matter (ECI; C) unparasitierter 4 Tage alter *Chilo partellus*-Larven (Gewicht ca. 1mg) in Kontrolle (schwarz) und *B.t.*-Gruppe (gestreift) auf Kontrollmaisblättern bei einer effektiven Konzentration von 2,5 µg Mais pro mg Nahrung.

Zur graphischen Darstellung siehe Abb. 3. n = Größe des Datensatzes.

AD: $D = 1$; $p < 0,001$.

ECD: $t = 7,46$; $p < 0,0001$.

ECI: $t = 6,66$; $p < 0,0001$.

Efficiency of Conversion of Ingested Food into Body Matter (ECI, Grafik 13 C): Die Werte der Kontrolle (Median: 0,18) lagen signifikant höher als die Werte der *B.t.*-Gruppe (0,12).

3.1.4 Wirkung von Kontrollmaisstängeln mit verschiedenen stark konzentrierten *B.t.*-Maisblatt-Suspensionen auf ältere Larvalstadien von *C. partellus*

Mortalität (Tag 1-8)

Bei der Kontrolle betrug die Mortalität 0 / 10, bei einer Konzentration von 1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung betrug sie 1 / 10, und bei einer Konzentration von 14 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung lag sie bei 2 / 10. Die Unterschiede waren nicht signifikant (Fishers exakter Test).

Verpuppung (Tag 1-8)

In der Kontrolle verpuppte sich eine Larve, zwei weitere zeigten das kurz vor der Verpuppung charakteristisch weiße Abdomen. Bei der Konzentration von 1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung zeigten 2 Larven ein weißes Abdomen, bei der Konzentration von 14 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung zeigte eine Larve ein weißes Abdomen. Die Unterschiede in der Häufigkeit der Verpuppungen bzw. der Larven mit weißem Abdomen zwischen *B.t.*- und Kontrollgruppen waren nicht signifikant (Fishers exakter Test).

Verdauungsparameter

Aufgenommene Nahrung (Abb. 14 A): Die Nahrungsaufnahme war an Tag 1-4 bei einer Konzentration von 14 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung (Median: 81 mg / Tag) signifikant geringer als die Nahrungsaufnahme in der Kontrolle (234 mg / Tag) bzw. bei der niedrigeren *B.t.*-Mais-Konzentration (1,4 µg / mg Nahrung: 165 mg / Tag). Zwischen der Nahrungsaufnahme bei einer Konzentration von 1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung und der Kontrolle bestand kein signifikanter Unterschied. Dies änderte sich in der zweiten Hälfte des Experiments (Tag 5-8): Nun bestand ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrolle (Median 316 mg / Tag) und beiden *B.t.*-Konzentrationen (1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung: 150 mg / Tag; 14 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung: 10 mg / Tag). Dagegen war die aufgenommene Nahrung bei beiden *B.t.*-Konzentrationen nicht signifikant unterschiedlich.

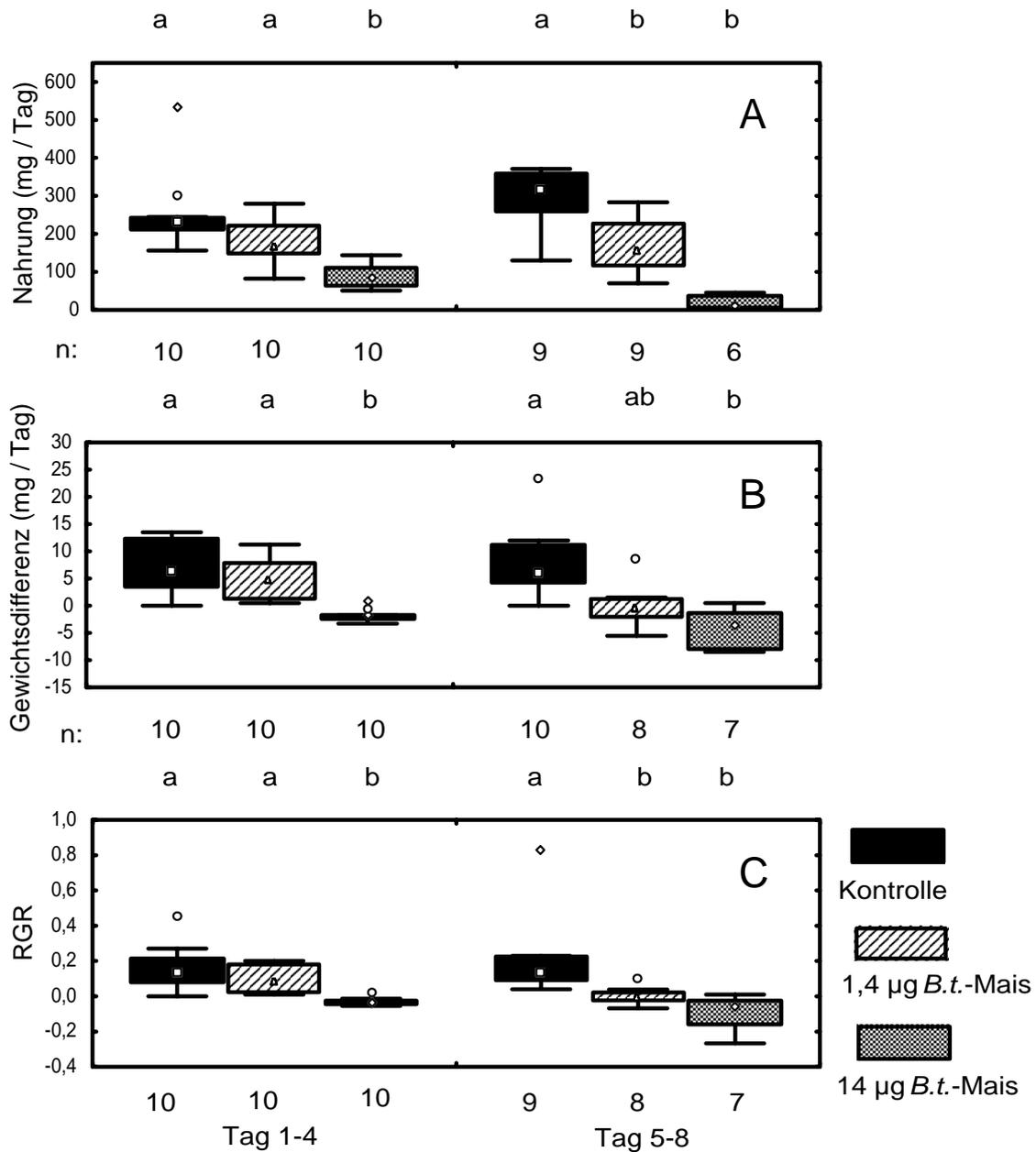


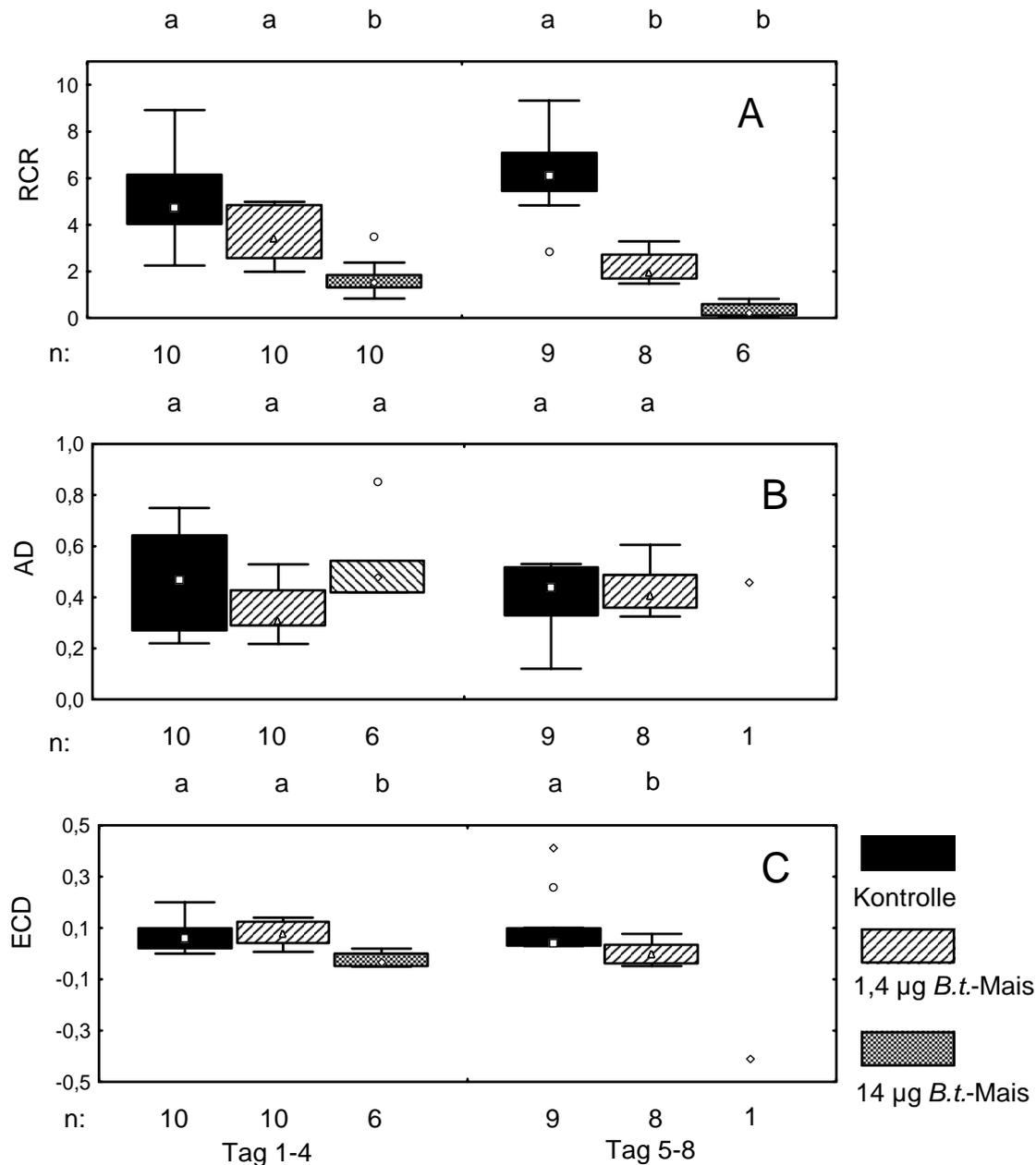
Abb. 14: Aufgenommene Nahrung (A), Gewichtsdiffrenz (B) und Relative Growth Rate (RGR; C) unparasitierter *Chilo partellus*-Larven (Alter: ca. 16 Tage; Gewicht: 40-70 mg), die mit Mais-Suspension präparierte Maisstängelstücke als Nahrung erhielten. Die Konzentration betrug in allen Gruppen 14 µg Mais / mg Futter und setzte sich zu verschiedenen Anteilen aus *B.t.*- bzw. Kontrollmais zusammen. Kontrolle: (14 µg Kontrollmais + 0 µg *B.t.*-Mais) / mg Futter; "1,4 µg *B.t.*-Mais": (12,6 µg Kontrollmais + 1,4 µg *B.t.*-Mais) / mg Futter; "14 µg *B.t.*-Mais": (0 µg Kontrollmais + 14 µg *B.t.*-Mais) / mg Futter. Zur Erläuterung der grafischen Darstellung siehe Abb. 3. Unterschiedliche Buchstaben über den Grafiken verweisen auf signifikante Unterschiede.
 Nahrung, Tag 1-4: H = 19,28; FG = 2, 27; p = 0,0001; Tag 5-8: H = 17,66; FG = 2, 21; p = 0,0001;
 Gewichtsdiffrenz, Tag 1-4: H = 19,07; FG = 2, 27; p = 0,0001; Tag 5-8: H = 11,73; FG = 2, 21; p = 0,0004;
 RGR, Tag 1-4: H = 18,76; FG = 2, 27; p = 0,0001; Tag 5-8: H = 17,26; FG = 2, 21; p = 0,0002

Gewichtsdifferenz (Abb. 14 B): An Tag 1-4 war die Gewichtsdifferenz bei der höchsten *B.t.*-Maiskonzentration (14 µg / mg Nahrung; Median: -1,9 mg / Tag) signifikant geringer als in den beiden anderen Gruppen (Kontrolle: 6,5 mg / Tag; 1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung: 4,5 mg / Tag). Zwischen der Kontrolle und der Konzentration von 1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung bestand jedoch kein signifikanter Unterschied. An Tag 5-8 blieb der signifikante Unterschied zwischen der Kontrolle und der höchsten *B.t.*-Mais-Konzentration bestehen (Kontroll-Median: 5,9 mg / Tag; 14 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung: -3,5 mg / Tag); bei einer *B.t.*-Mais-Konzentration von 1,4 µg / mg Nahrung (Median: -0,5 mg / Tag) war die Gewichtsdifferenz jedoch von den beiden anderen Gruppen nicht signifikant zu unterscheiden.

Relative Growth Rate (RGR; Abb. 14 C): Signifikante Unterschiede bestanden an Tag 1-4 zwischen der höchsten *B.t.*-Mais-Konzentration (Median: -0,03) und der Kontrolle (0,13) und zwischen beiden *B.t.*-Mais-Konzentrationen (Median bei 1,4 µg / mg Nahrung: 0,83). Zwischen der Kontrolle und der Konzentration von 1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung war jedoch kein signifikanter Unterschied erkennbar. In der zweiten Hälfte des Experiments verlagerten sich die Unterschiede: Nun war die RGR bei beiden *B.t.*-Mais-Konzentrationen nicht mehr signifikant zu unterscheiden (1,4 µg *B.t.*-Mais: -0,01; 14 µg *B.t.*-Mais: -0,06). Die Kontrollwerte lagen jedoch signifikant höher als die Werte bei beiden *B.t.*-Konzentrationen.

Relative Consumption Rate (RCR; Abb. 15 A): Die RCR war bei einer Konzentration von 14 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung (Median: 1,49) an Tag 1-4 signifikant geringer als bei den anderen Konzentrationen (Kontrolle: 4,76; 1,4 µg *B.t.*-Mais: 3,39). Zwischen der RCR bei einer Konzentration von 1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung und in der Kontrolle bestand kein signifikanter Unterschied. Dies änderte sich in der zweiten Hälfte des Experiments (Tag 5-8): Nun bestand ein signifikanter Unterschied zwischen der Kontrolle (Median 6,09) und beiden *B.t.*-Konzentrationen (1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung: 1,93; 14 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung: 0,22). Dagegen war die aufgenommene Nahrung bei beiden *B.t.*-Konzentrationen nicht signifikant unterschiedlich.

Approximate Digestibility (AD; Abb. 15 B): Weder an Tag 1-4 (Kontrolle-Mediane: 0,40; 1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung: 0,31; 14 µg / mg Nahrung: 0,48) noch an Tag 5-8 (Kontrolle: 0,44; 1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung: 0,40; 14 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung: 0,46) gab es signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen. An Tag 5-8 betrug die Größe der Stichprobe der höchsten *B.t.*-Mais-Konzentration nur 1, denn die stark geschwächten Tiere nahmen noch ein wenig Nahrung auf, gaben aber keine messbaren Mengen an Kot ab (siehe Abschnitt 2.3.2: Voraussetzungen für die korrekte Interpretation und Messung der



Grafik 15: Relative Consumption Rate (RCR; A), Approximate Digestibility (AD; B) und Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter (ECD; C) unparasitierter *Chilo partellus*-Larven (Gewicht: ca. 16 mg; Alter: 40-70 mg), die mit Mais-Suspension präparierte Maisstängelstücke als Nahrung erhielten. Die Konzentration betrug in allen Gruppen 14 µg / mg Futter und setzte sich zu verschiedenen Anteilen aus *B.t.*- bzw. Kontrollmais zusammen. Kontrolle: (14 µg Kontrollmais + 0 µg *B.t.*-Mais) / mg Futter; "1,4 µg *B.t.*-Mais": (12,6 µg Kontrollmais + 1,4 µg *B.t.*-Mais) / mg Futter; "14 µg *B.t.*-Mais": (0 µg Kontrollmais + 14 µg *B.t.*-Mais) / mg Futter. Zur Erläuterung der grafischen Darstellung siehe Abb. 3. Unterschiedliche Buchstaben über den Grafiken verweisen auf signifikante Unterschiede.

RCR, Tag 1-4: H = 18,00; FG = 2, 27; p = 0,0001; Tag 5-8: H = 19,04; FG = 2, 20; p = 0,0001;

AD, Tag 1-4: H = 3,04; FG = 2, 23; p = 0,22; Tag 5-8: F = 0,26; FG = 1, 15; p = 0,62;

ECD, Tag 1-4: F = 8,00; FG = 2, 23; p = 0,003; Tag 5-8: H = 6,30; FG = 1, 15; p = 0,012.

Verdauungsparameter AD und ECD). Deswegen konnten nur die beiden anderen Gruppen miteinander verglichen werden.

Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter (ECD; Abb. 15 C): An Tag 1-4 bestand ein signifikanter Unterschied zwischen der höchsten *B.t.*-Mais-Konzentration einerseits (Median: -0,04) und den beiden anderen Gruppen andererseits (Kontrolle: 0,06; 1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung: 0,07). An Tag 5-8 betrug die Größe der Stichprobe der höchsten *B.t.*-Mais-Konzentration nur 1, denn die stark geschwächten Tiere nahmen noch ein wenig Nahrung auf, gaben aber keine messbaren Mengen an Kot ab (siehe Abschnitt 2.3.2: Voraussetzungen für die korrekte Interpretation und Messung der Verdauungsparameter AD und ECD). Die Kontrollwerte (Median: 0,04) lagen signifikant höher als die Werte bei einer Konzentration von 1,4 µg / mg Nahrung (Median: 0,01).

Efficiency of Conversion of Ingested Food into Body Matter (Abb. 16): An Tag 1-4 war die ECI bei der höchsten *B.t.*-Maiskonzentration (14 µg / mg Nahrung; Median: -0,02) signifikant geringer als in den beiden anderen Gruppen (Kontrolle: 0,03; 1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung: 0,03). Zwischen der Kontrolle und der Konzentration von 1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung bestand jedoch kein signifikanter Unterschied. An Tag 5-8 blieb der signifikante Unterschied zwischen der Kontrolle und der höchsten *B.t.*-Mais-Konzentration bestehen (Kontroll-Median: 0,02; 14 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung: -0,23), die Nahrungsaufnahme war bei der *B.t.*-Mais-Konzentration von 1,4 µg / mg Nahrung (Median: 0,00) jedoch von den beiden anderen Gruppen nicht signifikant zu unterscheiden.

Korrelationen zwischen aufgenommener Nahrung, Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter (ECD) und Gewichts Differenz (Abb. 17): An Tag 1-4 war die Gewichts Differenz in der *B.t.*-Gruppe (1,4 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung) hochsignifikant positiv mit der Nahrungsaufnahme (Abb. 17 D) bzw. der ECD korreliert (Abb. 17 E). In der Kontrolle bestand eine signifikant positive Korrelation zwischen ECD und Gewichts Differenz (Abb. 17 B). An Tag 5-8 war die Korrelation zwischen ECD und Gewichts Differenz innerhalb der *B.t.*-Gruppe hochsignifikant positiv (Abb. 17 F). Das Bestimmtheitsmaß r^2 betrug bei allen signifikanten Korrelationen mindestens 0,74. Der Spearman-Rho-Koeffizient R lag bei 0,82 oder höher. Bei der zehnfach höheren *B.t.*-Konzentration ergaben sich keine signifikanten Korrelationen zwischen Nahrung, ECD und Gewichts Differenz. In keiner Gruppe waren Nahrung und ECD signifikant miteinander korreliert.

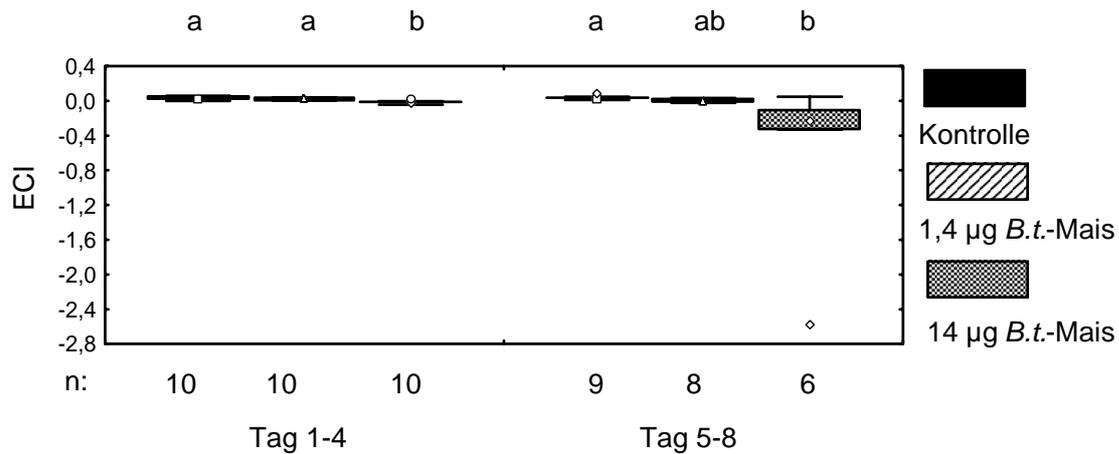


Abb. 16: Efficiency of Conversion of Ingested Food into Body Matter (ECI) unparasitierter *Chilo partellus*-Larven (Alter: ca. 16 Tage; Gewicht: 40-70 mg), die mit Mais-Suspension präparierte Maisstängelstücke als Nahrung erhielten.

Die Konzentration der Suspension betrug in allen Gruppen 14 µg / mg Futter und setzte sich zu verschiedenen Anteilen aus *B.t.*- bzw. Kontrollmais zusammen. Kontrolle: (14 µg Kontrollmais + 0 µg *B.t.*-Mais) / mg Futter; "1,4 µg *B.t.*-Mais": (12,6 µg Kontrollmais + 1,4 µg *B.t.*-Mais) / mg Futter; "14 µg *B.t.*-Mais": (0 µg Kontrollmais + 14 µg *B.t.*-Mais) / mg Futter.

Zur Erläuterung der grafischen Darstellung siehe Abb. 3. Unterschiedliche Buchstaben über den Grafiken verweisen auf signifikante Unterschiede.

ECI: F = 26,40; FG = 2, 27; p < 0,0001; Tag 5-8: H = 9,81; FG = 2, 20; p = 0,0074.

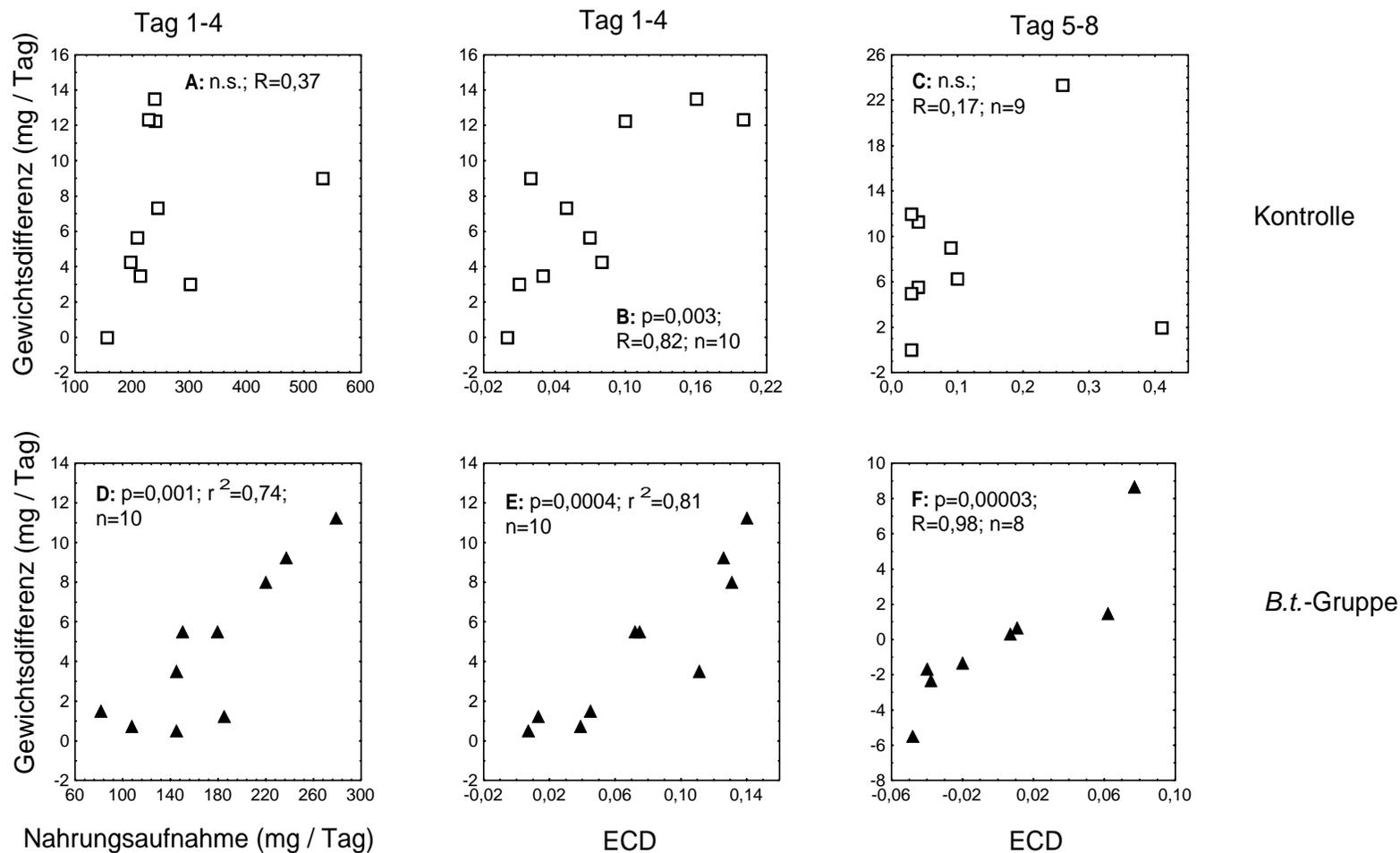


Abb. 17: Korrelationen zwischen der gefressenen Nahrungsmenge, der Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter (ECD) und der Gewichtsdifferenz von *Chilo partellus*-Larven auf Stängelfutter an Tag 1-4 bzw. 5-8 in Kontrolle und *B.t.*-Gruppe. In der *B.t.*-Gruppe betrug die *B.t.*-Mais-Konzentration 1,4 $\mu\text{g} / \text{mg}$ Nahrung. "R" = Spearman-Rho-Koeffizient; "r" = Pearsons r. A: p = 0,29; C: p = 0,68.

3.1.5 Vergleich der Verdauungsparameter 1 mg schwerer, 15-33 mg schwerer und 40-70 mg schwerer *C. partellus*-Larven in der Kontrolle

Tabelle 2 zeigt die Kontrollmediane ca. 1 mg schwerer Larven (Alter: 4 Tage) auf Blattfutter im Vergleich mit denjenigen 15-33 mg schwerer Larven (Alter: 14 Tage) auf Blattfutter und denjenigen 40-70 mg schwerer Larven (Alter ca. 16 Tage) auf Stängelfutter. Dabei wird deutlich, dass mit Ausnahme von Nahrungsaufnahme und Gewichts Differenz alle anderen Verdauungsparameter der 15-33 mg schweren bzw. 40-70 mg schweren Larven deutlich niedriger lagen als die entsprechenden Parameter der 1 mg schweren Larven. Die Kontrollmediane von 15-33 mg schweren Larven auf Blattfutter lagen im Fall der AD, ECD und ECI an Tag 1-4 und 5-8 über den Werten der 40-70 mg schweren Larven. Die RGR-Werte der 15-33 mg schweren Larven lagen jedoch nur in der ersten Versuchshälfte über denjenigen der 40-70 mg schweren Larven; in der zweiten Versuchshälfte dagegen unter den entsprechenden Werten der 40-70 mg schweren Larven. Die RCR-Werte der 15-33 mg schweren Larven lagen dagegen sowohl an Tag 1-4 als auch an Tag 5-8 unter den entsprechenden Werten der 40-70 mg schweren Larven.

Tabelle 2: Aufgenommene Nahrungsmenge („Nahrung“), Gewichtsdifferenz, relative growth rate (RGR), relative consumption rate (RCR), approximate digestibility (AD), efficiency of conversion of digested food into body matter (ECD) und efficiency of conversion of ingested food into body matter (ECI) von *Chilo partellus*-Raupen verschiedener Alters- und Gewichtsklassen: 4 Tage (ca. 1 mg); 14 Tage (15-33 mg); 15-17 Tage (40-70 mg). *C. partellus* wurde auf Kontrollmaisblättern („Blatt“) oder Kontrollmaisstängeln („Stängel“) mit Kontrollmais-Suspension gehalten. Die Verdauungsparameter beziehen sich auf Tag 1-2 des Experiments („Tag 1-2“), auf Tag 1-4 („Tag 1-4“), und auf Tag 5-8 („Tag 5-8“). Es werden das 1. Quartil / der Median / das 3. Quartil angegeben (Q1 / M / Q3). „Gewichtsdiff.“ = Gewichts-differenz.

Experiment	Nahrung (mg / Tag)			Gewichtsdiff. (mg / Tag)			RGR			RCR			AD			ECD			ECI		
	Q1	M	Q3	Q1	M	Q3	Q1	M	Q3	Q1	M	Q3	Q1	M	Q3	Q1	M	Q3	Q1	M	Q3
4 Tage, Blatt Gew.: ca. 1 mg; Tag 1-2	5	6	6	0,9	1,0	1,1	1,3	1,5	1,7	6,8	8,2	9,4	0,68	0,69	0,72	0,24	0,26	0,27	0,16	0,18	0,19
14 Tage, Blatt, Gew.: 15-33 mg Tag 1-4	30	34	38	2,6	3,4	5,6	0,12	0,17	0,23	1,4	1,6	1,7	0,57	0,58	0,66	0,15	0,16	0,26	0,09	0,11	0,14
14 Tage, Blatt, Gew.: 15-33 mg Tag 5-8	26	31	33	1,7	2,3	3,8	0,05	0,07	0,12	0,8	0,9	1,0	0,49	0,59	0,65	0,10	0,17	0,24	0,06	0,08	0,12
ca. 16 Tage; Stängel Gew.: 40-70 mg Tag 1-4	210	233	243	3,7	6,5	11,4	0,08	0,13	0,20	4,1	4,8	5,9	0,29	0,47	0,63	0,02	0,06	0,10	0,02	0,03	0,05
ca. 16 Tage; Stängel Gew.: 40-70 mg Tag 5-8	261	316	359	4,5	5,9	10,8	0,09	0,13	0,23	5,4	6,1	7,1	0,33	0,44	0,52	0,03	0,04	0,10	0,02	0,02	0,03

3.1.6 Vergleich der bei verschiedenen *B.t.*-Mais-Konzentrationen aufgenommenen *B.t.*-Mais-Mengen

Wurden Maisblattstückchen als Futter verwendet, so blieb die mit der Nahrung aufgenommene *B.t.*-Mais-Menge bis zu einer Konzentration von 12,5 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung im Median relativ konstant (Tabelle 3). An Tag 5-8 nahmen die Larven bei einer Konzentration von 2,5 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung um 5,6 mg mehr Nahrung auf als an Tag 1-4. Die Streuung war bei den Konzentrationen von 5 bzw. 12,5 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung allerdings bedeutend höher als bei 2,5 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung. Demgegenüber nahmen Raupen bei 12,5 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung nur noch 25 % der Nahrung auf, die sie bei 2,5 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung aufnahmen. Bei einer Konzentration von 50 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung stieg die aufgenommene *B.t.*-Mais-Menge sprunghaft an.

Wenn den Raupen Stängelfutter angeboten wurde, nahm die an Tag 1-4 mit der Nahrung aufgenommene Menge an *B.t.*-Mais zu, wenn die *B.t.*-Mais-Konzentration in der Nahrung erhöht wurde. An Tag 5-8 nahm die aufgenommene *B.t.*-Mais-Menge jedoch mit der Konzentration ab, denn die bei der höheren *B.t.*-Mais-Konzentration aufgenommene Nahrungsmenge betrug nur 7 % der bei der geringeren *B.t.*-Maiskonzentration aufgenommenen Nahrung.

Tabelle 3: Von *Chilo partellus*-Larven mit der Nahrung aufgenommene *B.t.*-Mais-Menge bei verschiedenen *B.t.*-Mais-Konzentrationen. Die Larven wurden auf Blattfutter (Raupenalter 14-21 Tage, Gewicht: 15-33 mg) oder auf Stängelfutter (Alter: 15-17 Tage, Gewicht: 40-70 mg) bei verschiedenen *B.t.*-Mais-Konzentrationen gehalten. Es werden die Ergebnisse an Tag 1-4 und an Tag 5-8 des Experimentes gezeigt. Q1 / M / Q3 = 1. Quartil / Median / 3. Quartil

Futter	<i>B.t.</i> -Mais-Konzentration (µg / mg Nahrung)	Tag	aufgenommene Menge an <i>B.t.</i> -Mais (µg / Tag)			aufgenommene Nahrungsmenge (mg / Tag)		
			Q1	M	Q3	Q1	M	Q3
Blatt	2,5	1-4	35	40	55	13,9	15,9	22,2
	2,5	5-8	48	54	71	19,0	21,5	28,4
	5,0	1-4	3	46	98	0,6	9,1	19,7
	12,5	1-2	6	37	61	2,6	3,9	5,9
	50	1-2	168	270	418	3,4	5,4	8,4
Stängel	1,4	1-4	204	231	296	145	165	211
	1,4	5-8	162	210	316	116	150	226
	14,0	1-4	914	1141	1554	65	82	110
	14,0	5-8	81	141	407	6	10	29

3.2 Biotest zum Einfluss des Futters (Kontrollmais-Stängel versus -Blätter) auf die Entwicklung parasitierter *Chilo partellus*-Larven und des Parasitoids *Cotesia flavipes*

In diesem Experiment wurde mit „unbehandelten“ Kontrollmais-Blatt- bzw. Kontrollmais-Stängelstückchen gearbeitet. Es wurden also keine Mais-Suspensionen eingesetzt.

Gewichte der Wirte (Abb. 18): In beiden Gruppen (15 bzw. 31 Tage) baute sich im Lauf des Versuchs ein Gewichtsunterschied auf: Alte bzw. junge Stängelfresser wogen ab dem 6. Tag signifikant mehr als gleichaltrige Blattfresser.

Nahrung der Wirte (Abb. 19): 31 Tage alte Larven fraßen signifikant häufiger an ihrer Nahrung, wenn ihnen Stängelfutter angeboten wurde, als wenn sie Blattfutter zu fressen bekamen (Abb. 19 A). Bei 15 Tage alten Wirten war dagegen kein Unterschied zu erkennen (Abb. 19 B).

Erfolgreiche Parasitierungen und Mortalität der Wirte: Alte Blatt- und Stängelfresser parasitierten 9 von 9 Wirten bzw. 8 von 9 Wirten erfolgreich (Abb. 20 A). Das war ein signifikant höherer Parasitierungserfolg als bei blattfressenden 15 Tage alten Larven (0 von 10 Wirte). Junge Stängelfresser nahmen eine Mittelstellung ein: Sie wurden in 5 von 10 Fällen erfolgreich parasitiert (Abb. 20 A). Alle Wirte, die nicht erfolgreich parasitiert wurden, starben, bevor die Parasitoidlarven das Wirtsintegument nach außen durchbrachen (Mortalität alter Stängelfresser: 1 / 9; junge Stängelfresser 5 / 10; junge Blattfresser 10 / 10).

Entwicklungszeit des Parasitoids (Abb. 20 B): Die Entwicklungszeit in 31 Tage alten Wirten (Mediane: Blattfutter 9 Tage; Stängelfutter 10 Tage) war signifikant kürzer als in 15 Tage alten Wirten (Median 12 Tage).

Gewicht aller Parasitoid-Kokons pro Wirt (Abb. 20 C): Das Gewicht aller Kokons pro Wirt war in allen drei Gruppen nicht signifikant zu unterscheiden (Mediane: Blattfutter/31 Tage 27 mg; Stängelfutter/ 31 Tage 46 mg; Stängelfutter/15 Tage 22 mg).

Anzahl Parasitoid-Kokons pro Wirt (Abb. 21 A): Es gab keinen signifikanten Unterschied in der Anzahl aller Kokons pro Wirt zwischen allen drei Gruppen (Median bei Blattfutter, 31 Tage: 37; Median bei Stängelfutter, 31 Tage: 43,5; Median bei Stängelfutter, 15 Tage: 22).

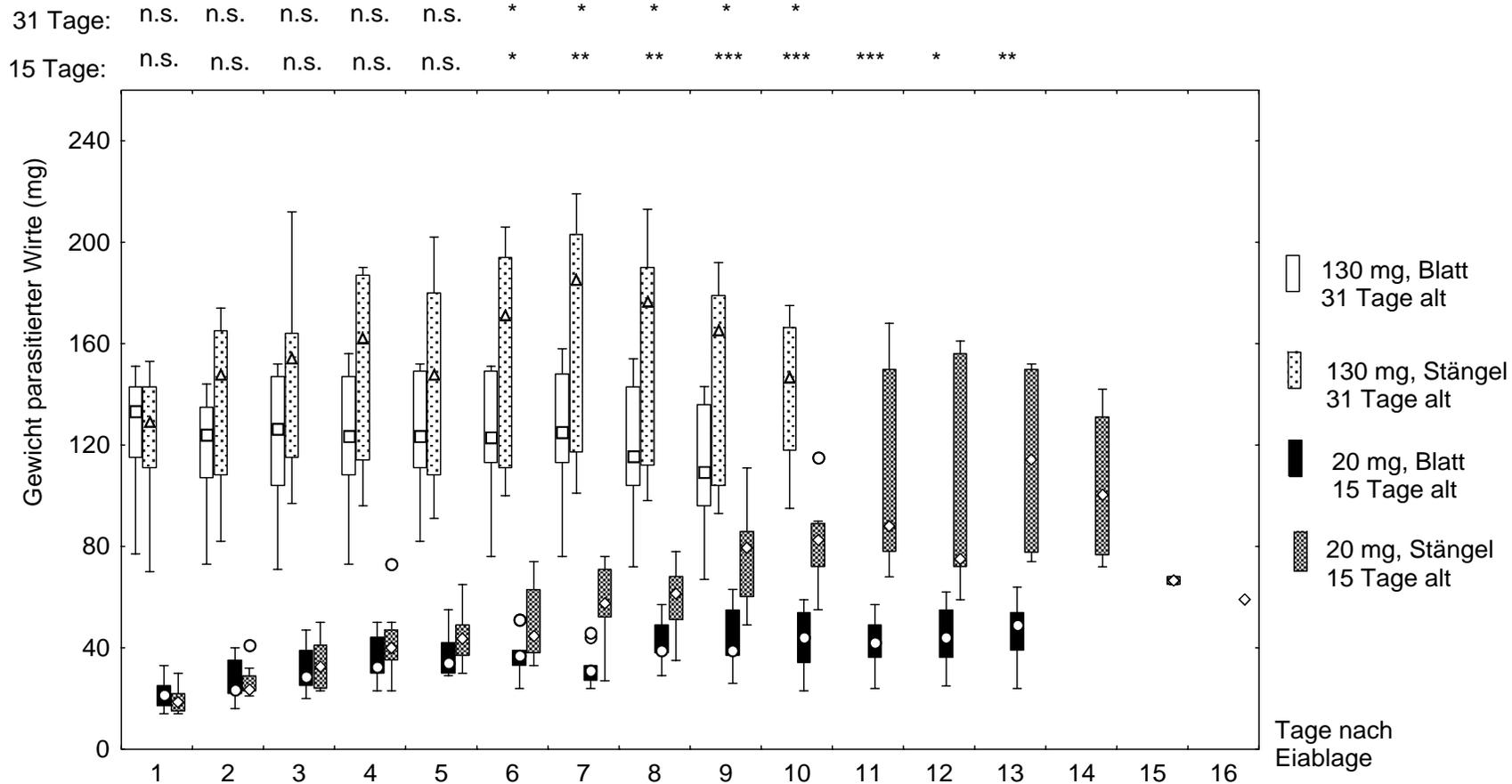


Abb. 18: Gewichte von *Cotesia flavipes* parasitierter *Chilo partellus*-Larven in Abhängigkeit vom Gewicht (130 mg vs. 20 mg) und von der Nahrung (Maisstängel vs. -blätter). Es wurde nur Kontrollmais eingesetzt. Zur Erläuterung der grafischen Darstellung siehe Abb. 3. Bei 130 mg schweren und bei 20 mg schweren Larven wurden an jedem Tag die Gewichte von Stängelfressern mit denjenigen von Blattfressern verglichen.

Alter 31 Tage ; Tag 1: $t = 0,14$; $p = 0,89$; Tag 2: $t = 1,41$; $p = 0,18$; Tag 3: $t = 1,76$; $p = 0,095$; Tag 4: $t = 1,88$; $p = 0,076$; Tag 5: $t = 1,60$; $p = 0,13$; Tag 6: $t = 2,44$; $p = 0,025$; Tag 7: $t = 2,69$; $p = 0,015$; Tag 8: $t = 2,83$; $p = 0,01$; Tag 9: $t = 2,73$; $p = 0,014$;

Alter 15 Tage ; Tag 1: $t = 1,04$; $p = 0,31$; Tag 2: $t = 0,21$; $p = 0,84$; Tag 3: $t = 0,81$; $p = 0,43$; Tag 4: $t = 0,81$; $p = 0,294$; Tag 5: $t = 1,61$; $p = 0,126$; Tag 6: $t = 2,28$; $p = 0,035$; Tag 7: $D = 0,8$; $p < 0,005$; Tag 8: $t = 3,46$; $p = 0,003$; Tag 9: $t = 4,43$; $p = 0,0004$; Tag 10: $t = 5,33$; $p < 0,0001$; Tag 11: $t = 4,45$; $p = 0,0008$; Tag 12: $D = 0,89$; $p < 0,025$; Tag 13: $D = 1$; $p < 0,01$. Tag 1-6: n (alle Gruppen) = 10; Tag 7-9: n (15 Tage, Blatt) = 9; n (andere Gruppen) = 10; Tag 10: n (31 Tage, Stängel) = 8; n (15 Tage, Blatt) = 9; n (15 Tage, Stängel) = 8; Tag 11-13: n (15 Tage, Stängel) = 9; n (15 Tage, Blatt) = 5.

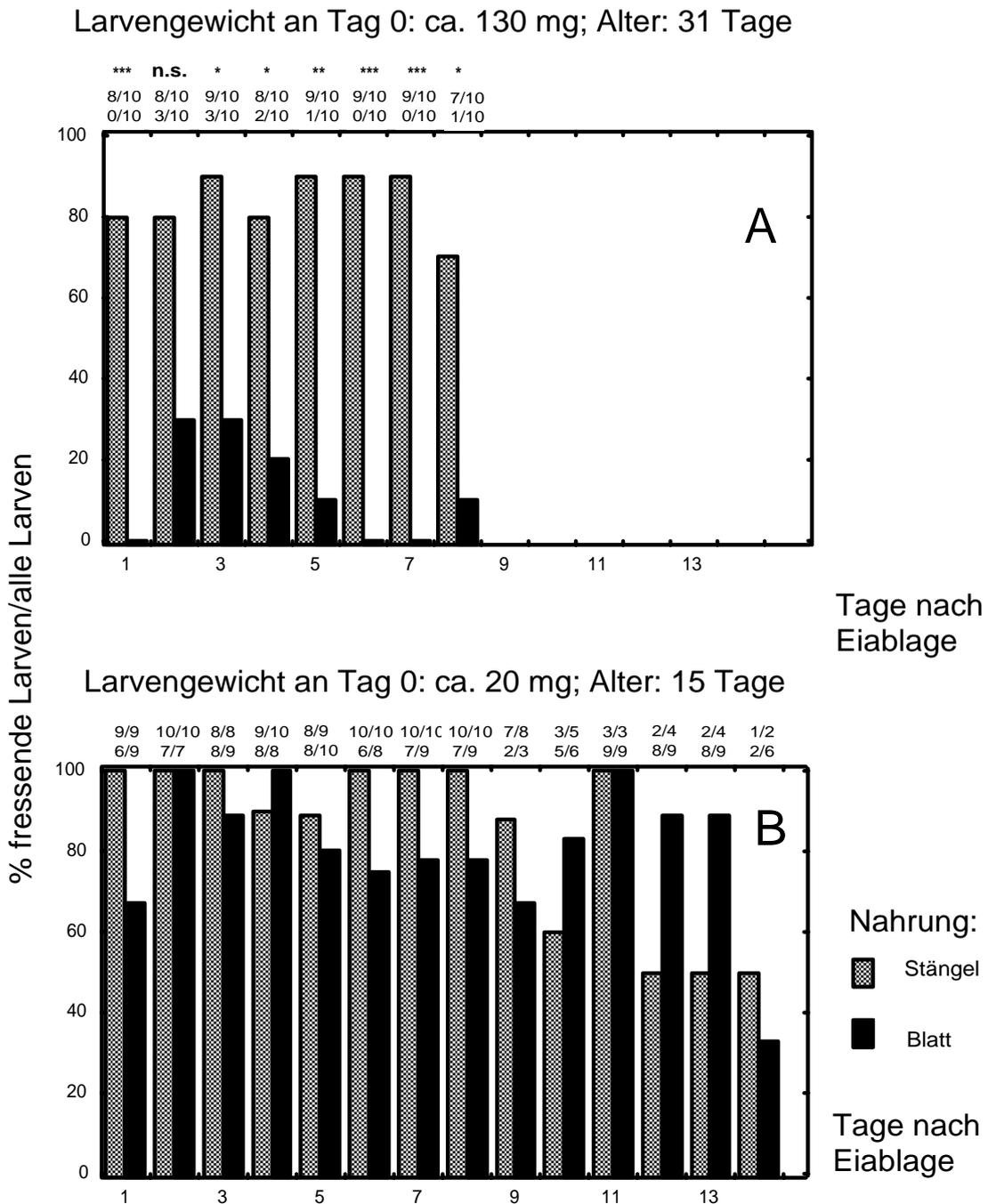


Abb. 19: Anteil fressender, von *Cotesia flavipes* parasitierter *Chilo partellus*-Larven an allen beobachteten Larven in Abhängigkeit vom Gewicht (A: 130 mg B: 20 mg) und von der Nahrung (Maisstängel vs. -blätter). Es wurde nur Kontrollmais eingesetzt. Für jeden Versuchstag wurden stängelfressende mit blattfressenden Larven über Fishers exakten Test verglichen. Die unmittelbar über jeder Grafik angegebenen Verhältnisse beziehen sich auf blattfressende Larven, die weiter oberhalb angegebenen Verhältnisse auf stengelfressende Larven. Bei 15 Tage alten Larven (unteres Diagramm) ergaben sich für keinen Tag signifikante Unterschiede.

Alter 31 Tage, Tag 1: $p = 0,0007$; Tag 2: $p = 0,07$; Tag 3: $p = 0,020$; Tag 4: $p = 0,023$; Tag 5: $p = 0,001$; Tag 6: $p = 0,0001$; Tag 7: $p = 0,0001$; Tag 8: $p = 0,020$;
 Alter 15 Tage, Tag 1: $p = 0,200$; Tag 2: n.s.; Tag 3: $p = 1,0$; Tag 4: $p = 1,0$; Tag 5: $p = 1,0$; Tag 6: $p = 0,183$; Tag 7: $p = 0,211$; Tag 8: $p = 0,211$; Tag 9: $p = 0,49$; Tag 10: $p = 0,55$; Tag 11: n.s.; Tag 12: $p = 0,201$; Tag 13: $p = 0,201$; Tag 14: $p = 1,0$.

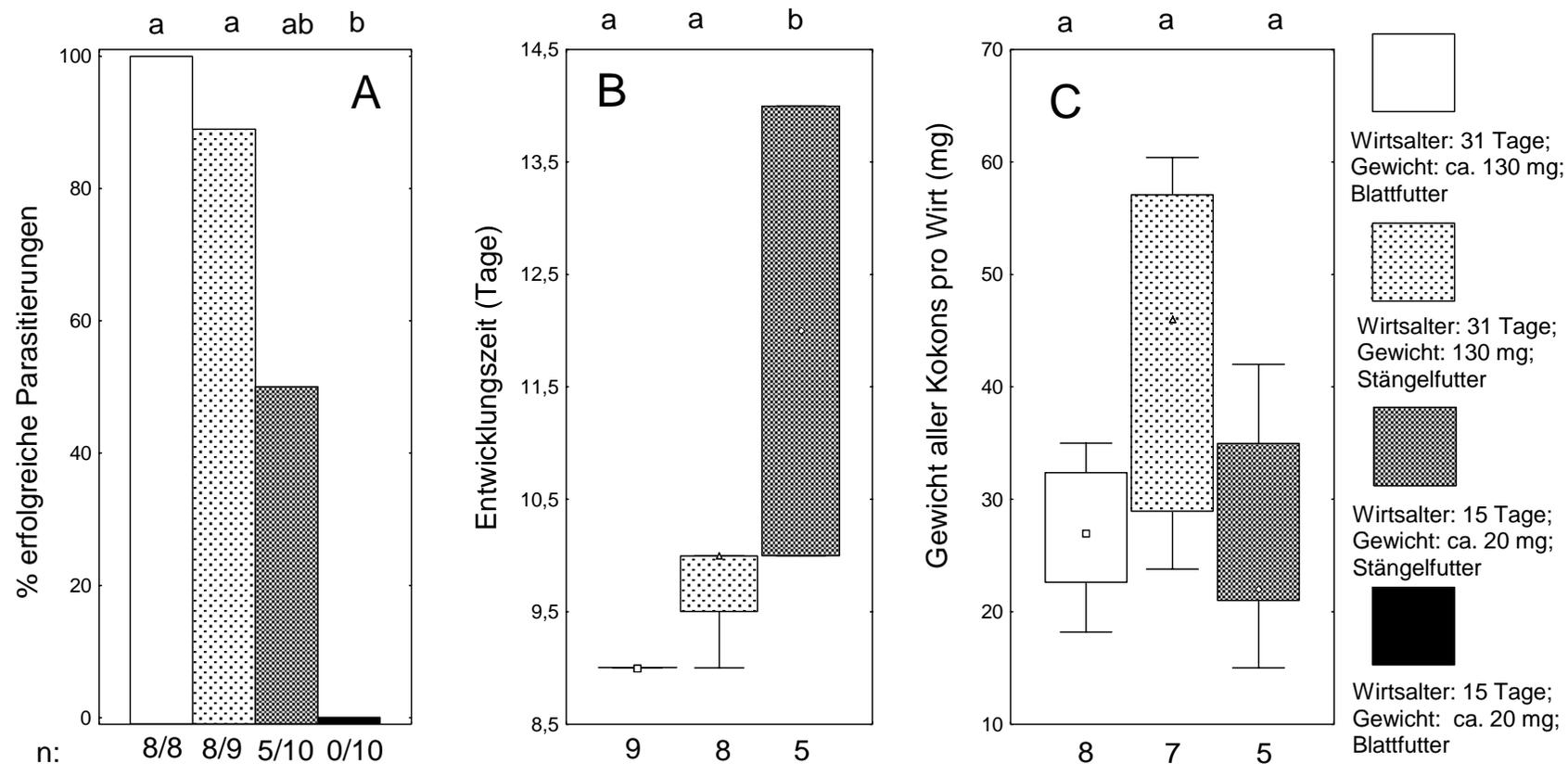


Abb. 20: Life history parameter des Parasitoids *Cotesia flavipes* in Abhängigkeit vom Gewicht (130 mg vs. 20 mg) und von der Nahrung (Maisblätter vs. Stängel) des Wirtes *Chilo partellus*. Es wurde nur Kontrollmais eingesetzt. Ermittelt wurde der Parasitierungserfolg (A), die Entwicklungszeit des Parasitoids (B) sowie das Frischgewicht aller Kokons pro Wirt (C). Zur Erläuterung der grafischen Darstellung in B und C siehe Abb. 3. Unterschiedliche Buchstaben über den Grafiken verweisen auf signifikante Unterschiede. **Erfolgreiche Parasitierung: Fishers exakter Test: "alt, Blatt" - "alt, Stängel": $p = 1,00$; "alt, Blatt" - "jung, Stängel": $p = 0,034$; Bonferroni-Korrektur: n.s.; "alt, Blatt" - "jung, Blatt": $p < 0,0001$; "alt, Stängel" - "jung, Stängel": $p = 0,14$; "alt, Stängel" - "jung, Blatt": $p = 0,0001$; "jung, Stängel" - "jung, Blatt": $p = 0,033$; Bonferroni-Korrektur: n.s. **Entwicklungszeit:** $H = 15,06$; $FG = 2, 19$; $p = 0,0005$. **Gewicht aller Kokons pro Wirt:** $H = 5,62$; $FG = 2, 18$; $p = 0,06$.**

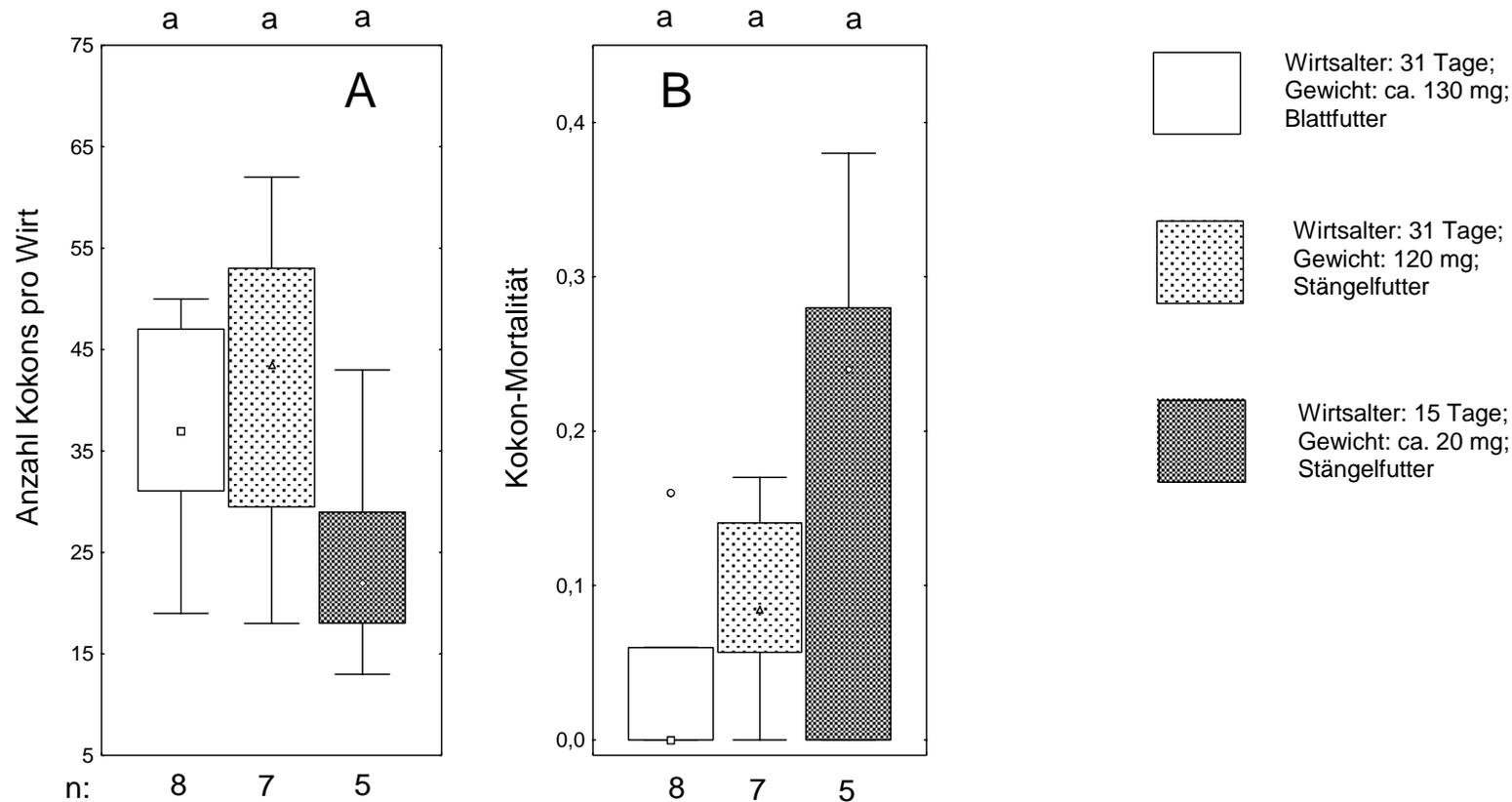


Abb. 21: Life history parameter des Parasitoiden *Cotesia flavipes* in Abhängigkeit vom Gewicht (130 mg vs. 20 mg) und von der Nahrung (Maisblätter vs. Stängel) des Wirtes *Chilo partellus*. Es wurde nur Kontrollmais eingesetzt. Ermittelt wurde die Anzahl aller Kokons pro Wirt (A) und der Anteil toter Kokons an allen Kokons (B).

Zur Erläuterung der grafischen Darstellung siehe Abb. 3.

Unterschiedliche Buchstaben über den Grafiken verweisen auf signifikante Unterschiede.

Anzahl Kokons pro Wirt: $F = 2,59$; $FG = 2, 17$; $p = 0,10$.

Kokon-Mortalität: $H = 4,03$; $FG = 2, 17$; $p = 0,133$.

Kokon-Mortalität (Abb. 21 B): Die Mortalität aller Kokons pro Wirt war in allen drei Gruppen nicht signifikant zu unterscheiden (Mediane: Blattfutter/31 Tage 0 %; Stängelfutter/31 Tage 8 %; Stängelfutter/15 Tage 24 %).

3.3 Biotests zur Wirkung von *B.t.*-Mais auf parasitierte *Chilo partellus*-Larven und *Cotesia flavipes*

Dieser Abschnitt beschreibt die Wirkung von *B.t.*-Mais-Suspension auf Kontrollmais-Blättern (3.3.1) bzw. in Kontrollmais-Stängeln (3.3.2) auf von *C. flavipes* parasitierte *C. partellus*-Larven und auf die Larven, Puppen bzw. Adulti von *C. flavipes*. Ferner werden Korrelationen zwischen dem Gewicht bzw. der Nahrungsaufnahme des Wirtes und life history Parametern des Parasitoids erläutert.

3.3.1 Biotests mit optimierter *B.t.*-Maisblatt-Suspension auf Kontrollmaisblättern, parasitierten *Chilo partellus*-Larven und *Cotesia flavipes*

Mortalität der Wirte an Tag 1-16: Die Mortalität der Kontrolle betrug 8 / 11, in der *B.t.*-Gruppe 8 / 10. Der Unterschied war nicht signifikant.

Verdauungsparameter (Tag 1-4; Tag 5-8; Tag 9-12; Tag 13-16):

Aufgenommene Nahrung (Abb. 22 A): Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontrolle und *B.t.*-Gruppe gefunden. Die folgenden Medianwerte (Kontrolle vs. *B.t.*-Gruppe) wurden ermittelt: 22 mg/Tag vs. 16 mg/Tag (Tag 1-4), 17 mg/Tag vs. 13 mg/Tag (Tag 5-8), 30 mg/Tag vs. 15 mg/Tag (Tag 9-12) und 20 mg/Tag vs. 7 mg/Tag (Tag 13-16).

Gewichtsdifferenz (Abb. 22 B): Keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontrolle und *B.t.*-Gruppe traten auf. Die Mediane (Kontrolle vs. *B.t.*-Gruppe) waren wie folgt: 2 mg/Tag vs. 0,25 mg/Tag (Tag 1-4), -1,33 mg/Tag vs. -2,00 mg/Tag (Tag 5-8), -0,17 mg/Tag vs. -0,5 mg/Tag (Tag 9-12) und -3,08 mg/Tag vs. -2,88 mg/Tag (Tag 13-16).

Relative Growth Rate (RGR, Abb. 22 C): Es bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontrolle und *B.t.*-Gruppe. Die Mediane (Kontrolle vs. *B.t.*-Gruppe) betragen 0,07 vs. 0,01 (Tag 1-4), -0,03 vs. -0,05 (Tag 5-8), 0,00 vs. -0,01 (Tag 9-12) und -0,07 vs. -0,09 (Tag 13-16).

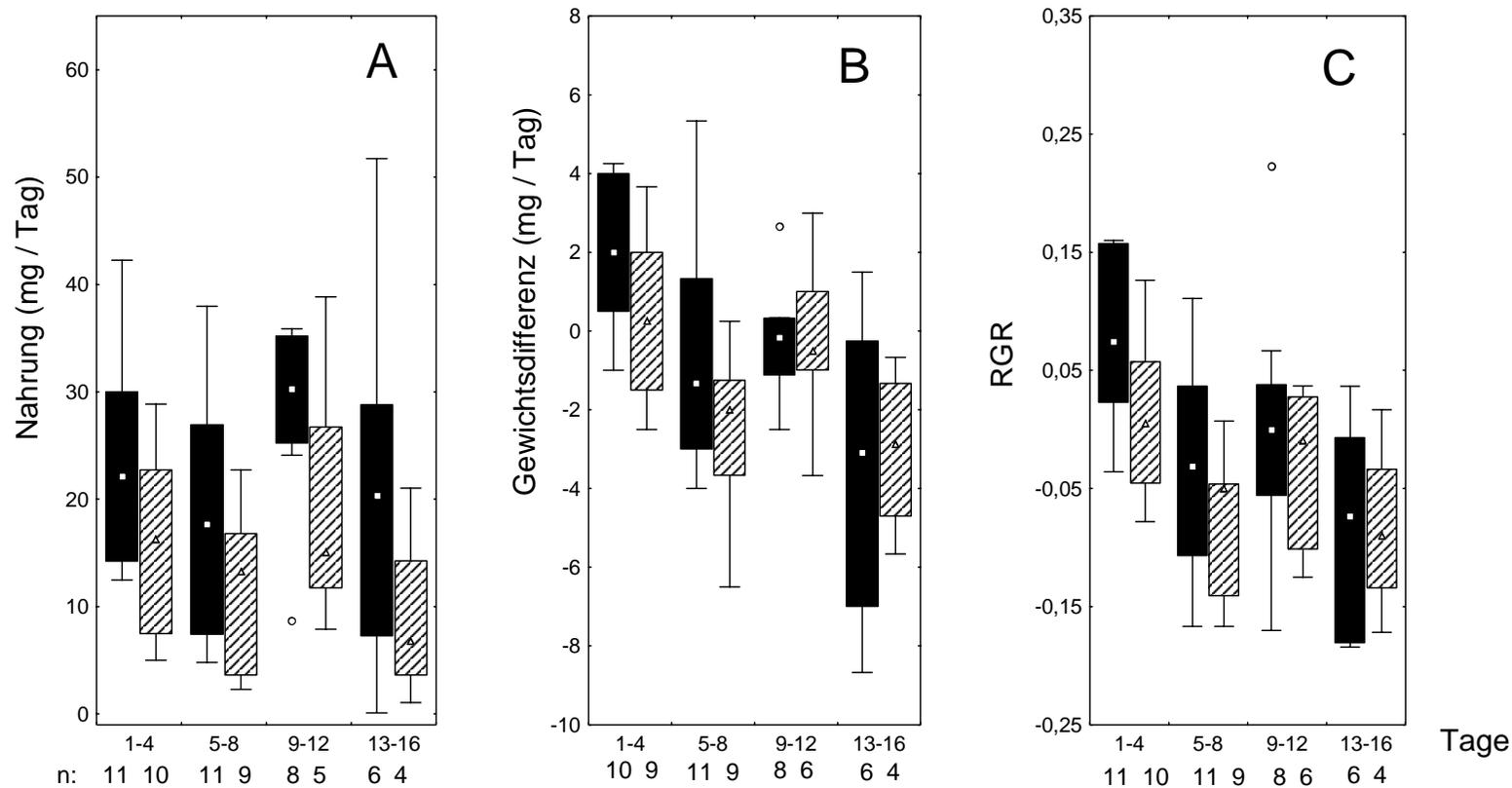


Abb. 22: Aufgenommene Nahrung (A), Gewichtsdifferenz (B) und Relative Growth Rate (RGR; C) von *Cotesia flavipes* parasitierter *Chilo partellus* -Larven (Alter: 14 Tage; Gewicht: 15-30 mg) in Kontrolle (schwarz) und B.t.-Gruppe (gestreift) auf Kontrollmais-Blättern. Die Konzentration der (B.t.- bzw. Kontrollmais)-Suspension betrug 2,5 µg Mais pro mg Nahrung. Zur grafischen Darstellung siehe Abb. 3. Kein einziger Unterschied zwischen Kontrolle und B.t.-Gruppe ist signifikant.

Nahrung, Tag 1-4: $t = 2,05$; $p = 0,054$; Tag 5-8: $t = 1,66$; $p = 0,11$; Tag 9-12: $t = 1,63$; $p = 0,13$; Tag 13-16: $U = 7$; $Z = 1,07$; $p = 0,29$. Gewichtsdifferenz, Tag 1-4: $t = 2,37$; $p = 0,029$; Bonferroni-Korrektur: n.s.; Tag 5-8: $t = 1,66$; $p = 0,11$. Tag 9-12: $t = 0,06$; $p = 0,95$; Tag 13-16: $t = 0,18$; $p = 0,86$. RGR, Tag 1-4: $t = 2,60$; $p = 0,018$; Bonferroni-Korrektur: n.s.; Tag 5-8: $t = 1,39$; $p = 0,18$. Tag 9-12: $D = 0,25$; $p > 0,10$. Tag 13-16: $D = 0,25$; $p > 0,10$.

Relative Consumption Rate (RCR, Abb. 23 A): Die Unterschiede zwischen *B.t.*-Gruppe und Kontrolle waren nicht signifikant. Die Mediane (Kontrolle vs. *B.t.*-Gruppe) lagen bei 0,86 vs. 0,49 (Tag 1-4), 0,42 vs. 0,35 (Tag 5-8), 0,72 vs. 0,68 (Tag 9-12) und 0,44 vs. 0,22 (Tag 13-16).

Approximate Digestibility (AD, Abb. 23 B): Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppe gefunden. Die Mediane (Kontrolle vs. *B.t.*-Gruppe) betragen 0,74 vs. 0,71 (Tag 1-4), 0,64 vs. 0,69 (Tag 5-8), 0,59 vs. 0,52 (Tag 9-12) und 0,51 vs. 0,56 (Tag 13-16).

Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter (ECD, Abb. 23 C): Es bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen *B.t.*-Gruppe und Kontrolle. Die Mediane lagen bei 0,12 vs. 0,02 (Tag 1-4), -0,13 vs. -0,19 (Tag 5-8), 0,02 vs. -0,03 (Tag 9-12) und -0,03 vs. -0,52 (Tag 13-16).

Efficiency of Conversion of Ingested Food into Body Matter (ECI, Abb. 24): Die Unterschiede zwischen *B.t.*-Gruppe und Kontrolle waren nicht signifikant. Die Mediane betragen 0,09 vs. 0,01 (Tag 1-4), -0,08 vs. -0,13 (Tag 5-8), 0,01 vs. -0,02 (Tag 9-12) und -0,02 vs. -0,32 (Tag 13-16).

Entwicklung des Parasitoids: Kein einziger Wirt wurde bis zum 16. Tag erfolgreich parasitiert. Danach wurde das Experiment abgebrochen.

Abb. 25 zeigt die **Parasitoidlänge** (jeder Wirt enthielt 20 – 55 Parasitoide) in Abhängigkeit vom durchschnittlichen Gewicht des Wirtes. Bei denjenigen Wirten, die in *B.t.*-Gruppe und Kontrolle ein ähnliches Durchschnittsgewicht aufwiesen (gepunkteter Kasten in Abb. 25), wurde die Parasitoidenlänge und die Anzahl an Parasitoiden beider Gruppen verglichen. Parasitoide der Kontrolle waren signifikant länger als in der *B.t.*-Gruppe: der Median der Kontrolle lag bei 0,81 mm, der Median der *B.t.*-Gruppe bei 0,63 mm (Abb. 26 A). Wirte mit ähnlichem Durchschnittsgewicht hatten in beiden Gruppen eine ähnliche Lebensdauer (Abb. 26 C). Die Mediane betragen 14,5 Tage (Kontrolle) bzw. 14 Tage (*B.t.*-Gruppe).

Parasitoidanzahl (Abb. 26 B): Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen Kontrolle und *B.t.*-Gruppe. Der Kontroll-Median betrug 40, der *B.t.*-Median 39.

Korrelationen zwischen durchschnittlichem Wirtsgewicht und Parasitoidlänge (Abb. 27): Nur in der Kontrolle bestand eine signifikant positive Korrelation zwischen dem durchschnittlichen Wirtsgewicht und der Parasitoidlänge (Abb 27 A). In der *B.t.*-Gruppe war der Zusammenhang nicht signifikant (Abb. 27 B).

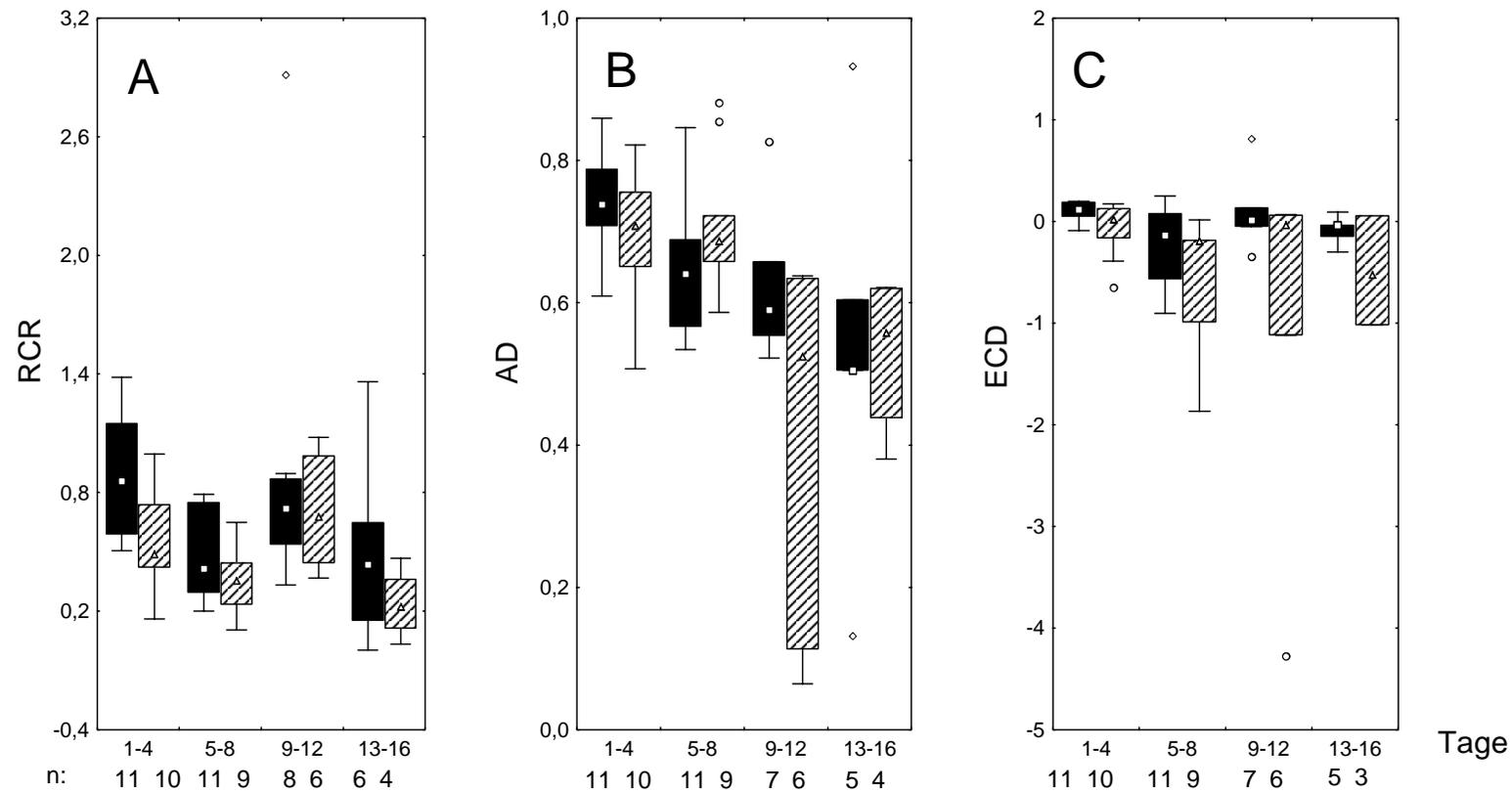


Abb. 23: Relative Consumption Rate (RCR; A), Approximate Digestibility (AD; B) und Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter (ECD; C) von *Cotesia flavipes* parasitierter *Chilo partellus*-Larven (Alter: 14 Tage; Gewicht: 15-30 mg) in Kontrolle (schwarz) und *B.t.*-Gruppe (gestreift) auf Kontrollmais-Blättern. Die Konzentration der (*B.t.*- bzw. Kontrollmais)-Suspension betrug 2,5 µg Mais pro mg Nahrung. Zur grafischen Darstellung siehe Abb. 3. Kein einziger Unterschied zwischen Kontrolle und *B.t.*-Gruppe ist signifikant.

RCR, Tag 1-4: $t = 2,70$; $p = 0,014$; Tag 5-8: $t = 1,65$; $p = 0,12$; Tag 9-12: $D = 0,21$; $p > 0,10$; Tag 13-16: $U = 7$; $Z = 1,07$; $p = 0,29$.

AD, Tag 1-4: $t = 1,32$; $p = 0,20$; Tag 5-8: $t = 1,60$; $p = 0,13$. Tag 9-12: $D = 0,52$; $p > 0,10$; Tag 13-16: $t = 1,06$; $p = 0,32$.

ECD, Tag 1-4: $D = 0,43$; $p > 0,1$; Tag 5-8: $U = 32$; $Z = 1,33$; $p = 0,18$. Tag 9-12: $D = 0,36$; $p > 0,10$. Tag 13-16: $D = 0,25$; $p > 0,10$.

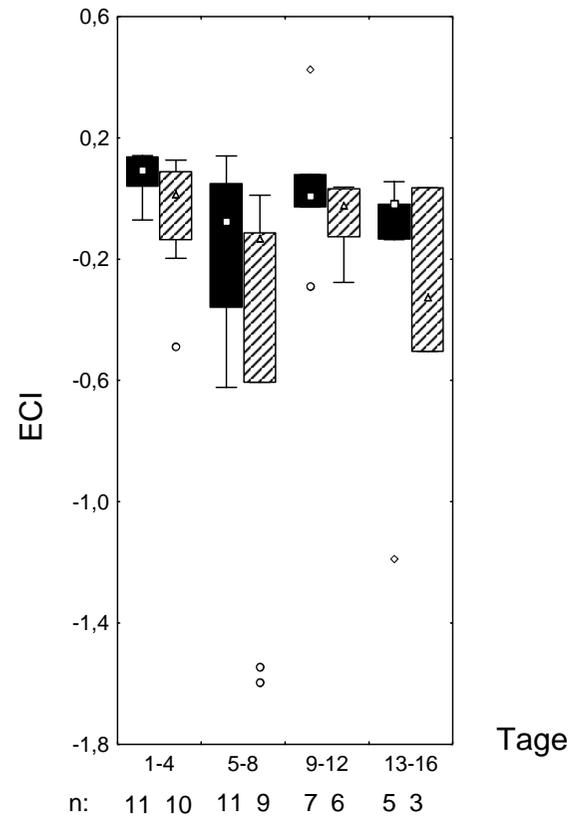


Abb. 24: Efficiency of Conversion of Ingested Food into Body Matter (ECI) von *Cotesia flavipes* parasitierter *Chilo partellus*-Larven (Alter: 14 Tage; Gewicht: 15-30 mg) in Kontrolle (schwarz) und *B.t.*-Gruppe (gestreift) auf Kontrollmais-Blättern. Die Konzentration der (*B.t.*- bzw. Kontrollmais)-Suspension betrug 2,5 µg Mais pro mg Nahrung. Zur grafischen Darstellung siehe Abb. 3. Kein einziger Unterschied zwischen Kontrolle und *B.t.*-Gruppe ist signifikant. ECI, Tag 1-4: U = 26; Z = 2,04; p = 0,041; Bonferroni-Korrektur: n.s.; Tag 5-8: U = 34; Z = 1,18; p = 0,24; Tag 9-12: D = 0,36; p > 0,10; Tag 13-16: D = 0,47; p > 0,1.

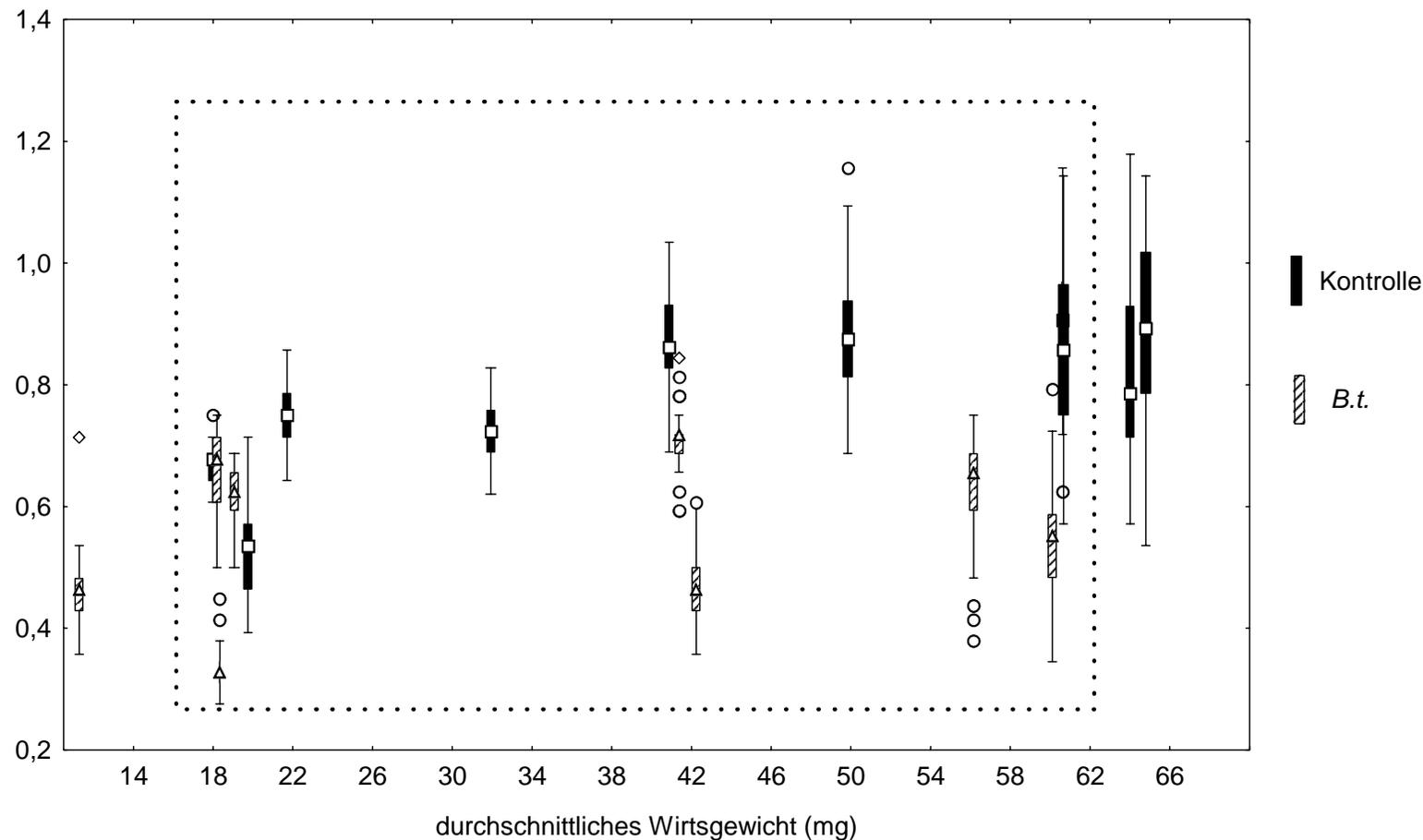


Abb. 25: Abhängigkeit der Länge der Parasitoidlarven (*Cotesia flavipes*) eines Wirtes (*Chilo partellus*) von dem durchschnittlichen Wirtsgewicht in Kontrolle (schwarz) und *B.t.*-Gruppe (gestreift). Die Wirte wurden auf Kontrollmaisblättern gehalten. Die Konzentration der (*B.t.*- bzw. Kontrollmais-)Suspension betrug $2,5 \mu\text{g} / \text{mg}$ Blattfutter. Zur grafischen Darstellung siehe Abb. 3. Es wurden die Mediane der Parasitoidlängen sowie die Parasitoidanzahl derjenigen Wirte in Kontrolle und *B.t.*-Gruppe verglichen, die ein ähnliches durchschnittliches Gewicht aufwiesen (gepunkteter Kasten). Ferner wurde die Lebensdauer dieser Wirte in Kontrolle und *B.t.*-Gruppe miteinander verglichen (siehe Grafik 24). n (Kontrolle, im Kasten) = 8; n (*B.t.*-Gruppe, im Kasten) = 7. n (Parasitoidlarven pro Wirt) = 20 - 55. Wirtsalter: 14 Tage, Wirtsgewicht: 15 - 30 mg an Tag 1.

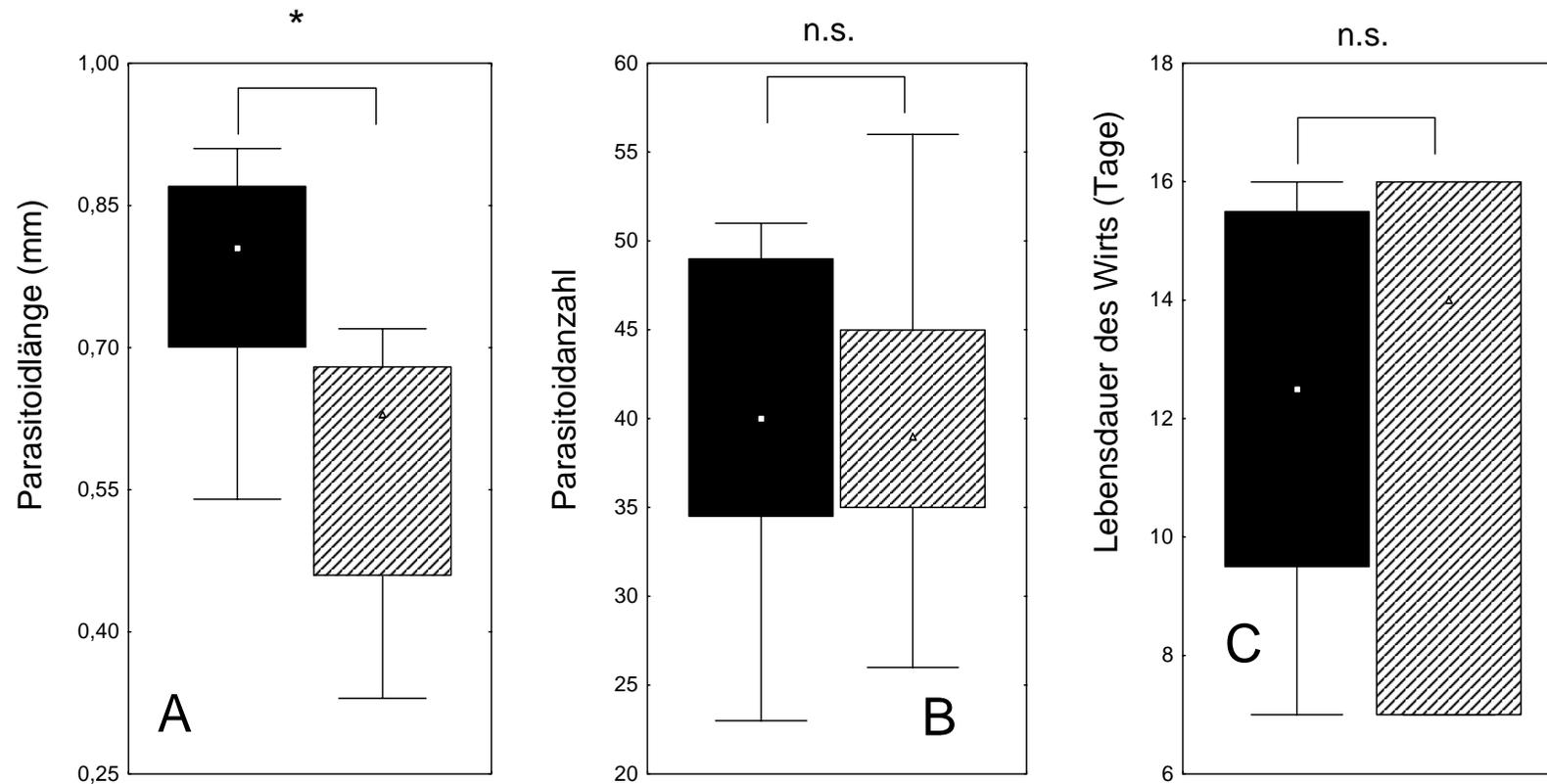


Abb. 26: Länge der Larven des Parasitoids *Cotesia flavipes* (Median aller Parasitoidlängen pro Wirt; **A**), Parasitoidanzahl pro Wirt (**B**) (*Chilo partellus*) und Lebensdauer des Wirtes (**C**) in Kontrolle (schwarz) und *B.t.*-Gruppe (gestreift) bei Wirten ähnlichen Gewichts (siehe Abb. 25). Die Wirte wurden auf Kontrollmaisblättern gehalten. Die Konzentration der (*B.t.*- bzw. Kontrollmais)-Suspension betrug 2,5 µg Mais / mg Nahrung. Wirtsalter: 14 Tage, Wirtsgewicht: 15 - 30 mg an Tag 1.
 n (Kontrolle) = 8; n (*B.t.*-Gruppe) = 7.
 Zur grafischen Darstellung siehe Abb. 3.
 Parasitoidlänge: $t = 2,90$; $p = 0,012$.
 Parasitoidanzahl: $t = 0,06$; $p = 0,957$.
 Lebensdauer des Wirtes: $t = 0,168$; $p = 0,869$.

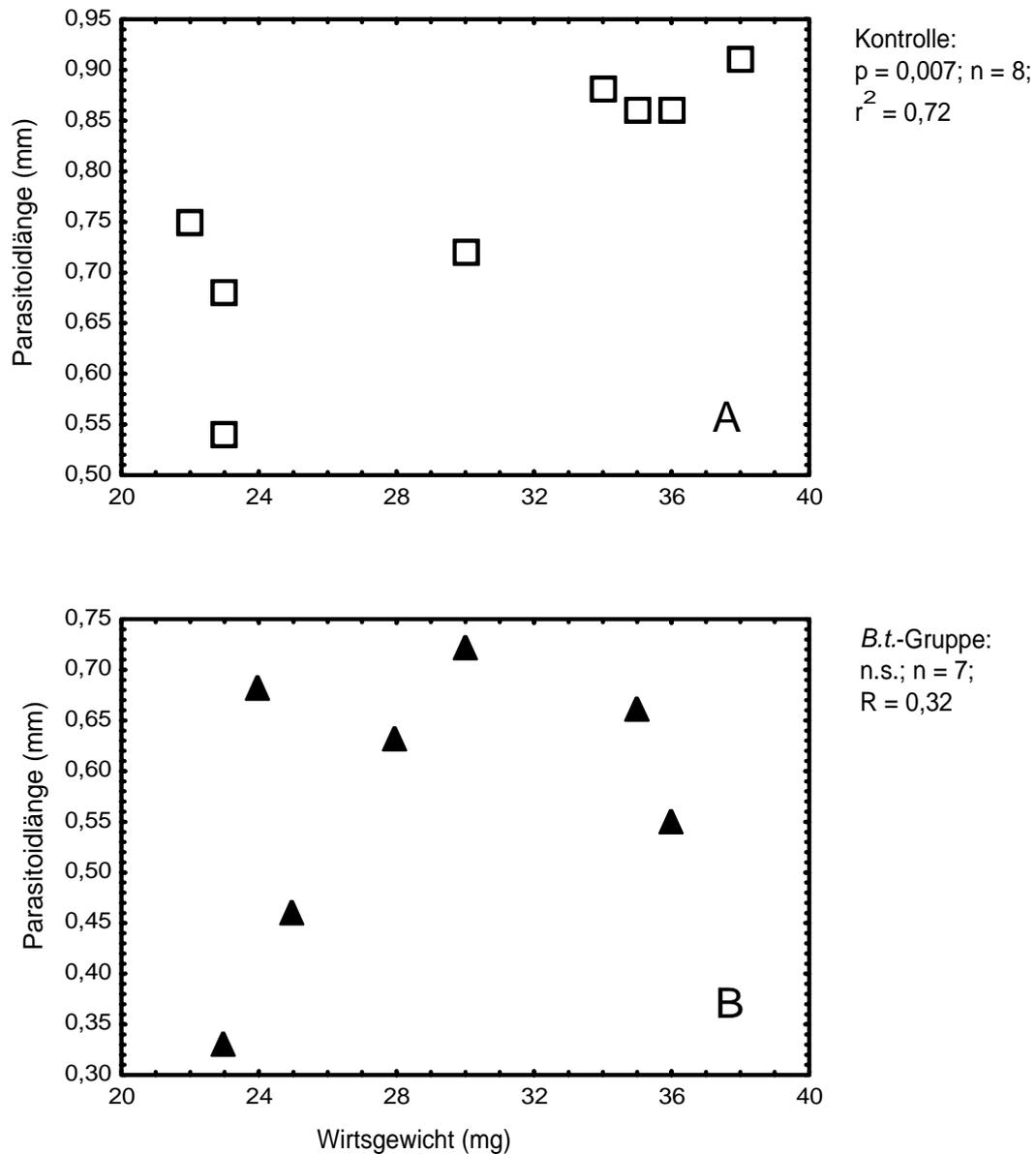


Abb. 27: Korrelationen zwischen dem mittleren Wirtsgewicht (*Chilo partellus*) und der Länge der Larven (Median der Längen aller Larven pro Wirt) des Parasitoids *Cotesia flavipes* in Kontrolle (A) und B.t.-Gruppe (B) bei Wirten ähnlichen Gewichts (siehe Abb. 25) auf Kontrollmaisblättern. Die Konzentration der (B.t.- bzw. Kontrollmais-)Suspension betrug 2,5 μg pro mg Nahrung. Wirtsalter: 14 Tage, Gewicht: 15 - 30 mg an Tag 1. B.t.-Gruppe: $p = 0,48$.

3.3.2 Biotest mit *B.t.*-Maisblatt-Suspension in Kontrollmais-Stängeln, parasitierten *Chilo partellus*-Larven und *Cotesia flavipes*

3.3.2.1 *Chilo partellus*

Ausreisser: Abb. 28 zeigt Histogramme der von Tag 1 bis Tag 8 gefressenen Nahrungsmenge und der beobachteten Gewichtsänderung (Gewicht an Tag 8 – Gewicht an Tag 1) parasitierter *C. partellus*-Larven aus *B.t.*- und Kontrollgruppe. Es ist zu erkennen, dass in der *B.t.*-Mais-Gruppe die Gewichtsveränderung einer Raupe (+78 mg) diejenige der anderen Tiere derselben Versuchsgruppe um ein Vielfaches übersteigt (Abb. 28B). Dieser Wert ist vom Mittelwert der Verteilung (Mittelwert $m = +1,72$ mg) um mehr als fünf Standardabweichungen (Standardabweichung $s = 15,13$ mg) entfernt. Somit kann er nach der „4-Sigma-Regel“ als Ausreißer angesehen werden (SACHS 1999). Die Wahrscheinlichkeit, aus derselben Grundgesamtheit zu stammen wie die anderen Werte, beträgt für beliebige Verteilungen $\leq 0,04$, für symmetrisch eingipfelige Verteilungen $\leq 0,017$. Der letztere Wert ist für die nicht normalverteilten Gewichtsänderungen der *B.t.*-Mais-Gruppe anzuwenden. Dieselbe Raupe hat ebenfalls eine im Vergleich zu den anderen stark erhöhte Nahrungsaufnahme (1970 mg): diese ist um mehr als 3 Standardabweichungen ($s = 350$ mg) vom Mittelwert ($m = 652$ mg) entfernt. Die Hypothese der Normalverteilung konnte für diesen Datensatz nicht zurückgewiesen werden. Somit beträgt die Wahrscheinlichkeit, dass der erhöhte Wert aus derselben Grundgesamtheit stammt wie die anderen Werte, nach der Ungleichung von GAUß 0,3 %. Beide Werte – Nahrungsaufnahme und Gewichtsänderung – liegen ebenfalls um mehr als eine Standardabweichung höher als die Mittelwerte der entsprechenden Kontrollen (Kontrolle: $m_{\text{Nahrung}} \pm s_{\text{Nahrung}} = 1266 \text{ mg} \pm 400 \text{ mg}$; $m_{\text{Gewichtsänderung}} \pm s_{\text{Gewichtsänderung}} = +49 \text{ mg} \pm 29 \text{ mg}$).

Alle Daten der oben beschriebenen Lepidopteren-Larve wurden als Ausreißer behandelt. Alle Analysen wurden mit und ohne Ausreißer durchgeführt. Sofern der Ausreißer die Ergebnisse merklich änderte, wurde dies in den entsprechenden Abschnitten des Ergebnisteils vermerkt (siehe auch Abschnitt 4.6.1.1).

Mortalität und Verpuppung der Wirte: In der *B.t.*-Gruppe starben 70% aller Wirte, bevor die Parasitoidlarven ihre Entwicklung vollenden konnten (76 / 109), während in der Kontrolle nur 14% aller Wirte starben (4 / 29). Der Unterschied zwischen beiden Gruppen ist hochsignifikant (Fishers exakter Test: $p = 0,001$). In beiden Gruppen war die Verpuppungsrate des Wirts gering (Kontrolle: $1 / 29 = 3 \%$; *B.t.*-Gruppe: $1 / 109 = 1 \%$; Fishers exakter Test: $p = 0,39$). In der *B.t.*-Gruppe waren 6 % aller Wirte (6 / 109) nach 16

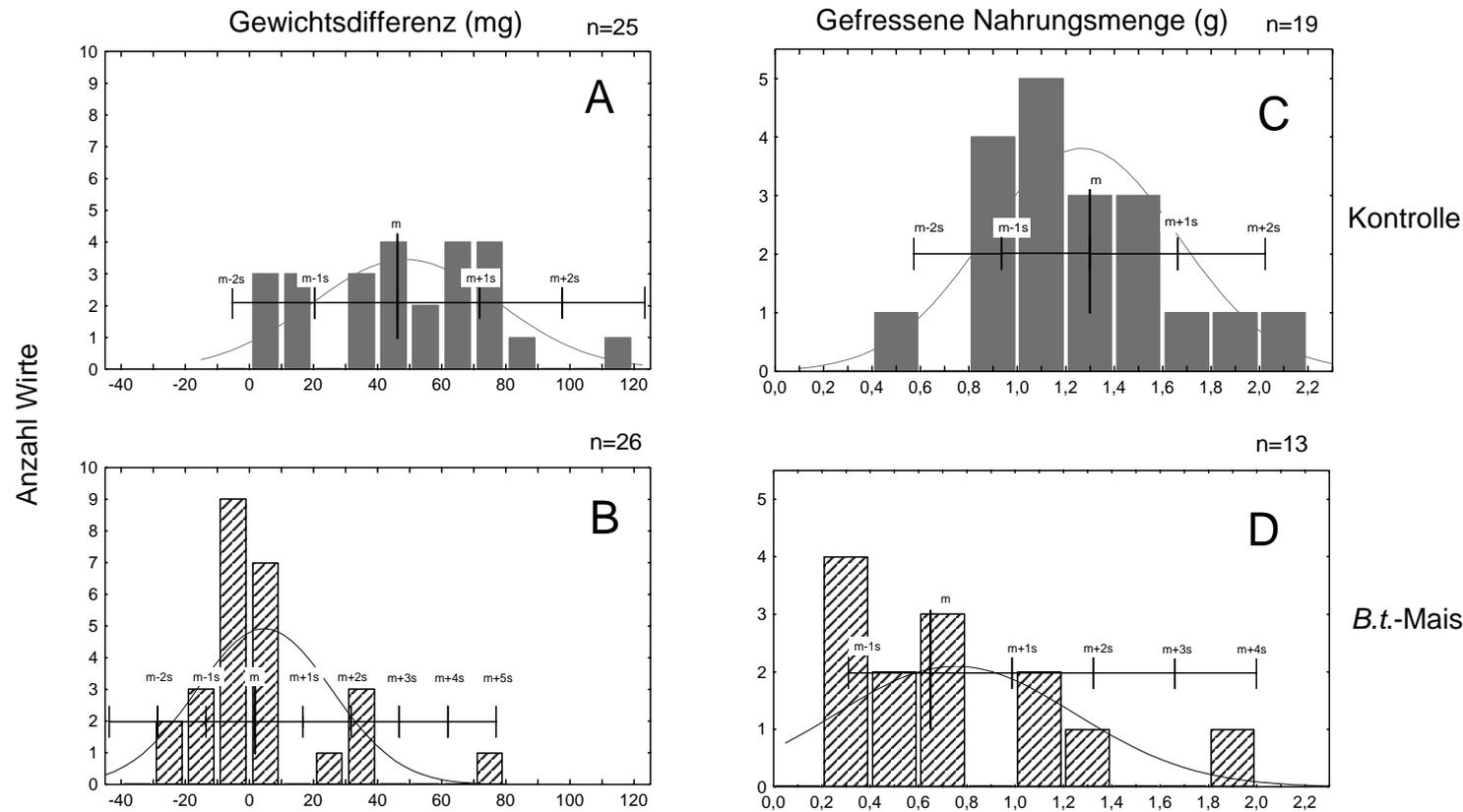


Abb. 28: Histogramme der Gewichtsdifferenz (A, B) und der gefressenen Nahrungsmenge (C, D) von *Cotesia flavipes* parasitierter *Chilo partellus*-Raupen (Gewicht: 40-80 mg, Alter: 14-21 Tage an Tag 1). *C. partellus* wurde mit Kontrollmais-Stängeln gefüttert, die entweder mit Kontroll-Mais-Suspension (graue Balken) oder mit *B.t.*-Mais-Suspension (gestrichelte Balken) präpariert waren. Die Konzentration betrug 0 μg *B.t.*-Mais (Kontrolle) bzw. 1,4 μg *B.t.*-Mais / mg Nahrung (*B.t.*-Gruppe). Gewichtsdifferenz = Gewicht an Tag 8 - Gewicht an Tag 1. Nahrungsmenge = die während des gesamten Versuches gefressene Nahrungsmenge. m = Mittelwert; s = Standardabweichung.

Tagen weder verpuppt noch tot, in der Kontrolle kein einziger Wirt (0 / 29). Der Unterschied ist nicht signifikant (Fishers exakter Test: $p = 0,34$).

Verdauungsparameter

Gewicht (Abb. 29): Die Gewichte der erfolgreich parasitierten Raupen waren zu Beginn in *B.t.*- und Kontroll-Mais-Gruppe sehr ähnlich (Kontroll-Median: 61 mg; *B.t.*-Gruppe 68 mg).

Vergleich der aufgenommenen Nahrung von nicht parasitierten und parasitierten Wirten (Abb. 30): In der Kontrolle und in der *B.t.*-Gruppe führte die Parasitierung zu einer ähnlichen Verringerung der aufgenommenen Nahrungsmenge. Kontroll-Raupen nahmen um 132 mg / Tag weniger Nahrung auf, wenn sie parasitiert wurden. *B.t.*-Raupen nahmen um 99 mg weniger Nahrung auf, wenn sie parasitiert wurden. Die Interaktion zwischen den Faktoren „Parasitierung“ und „*B.t.*-Mais“ war nicht signifikant.

Nahrungsaufnahme parasitierter Wirte (Abb. 31): Die Nahrungsaufnahme der Kontrollgruppe lag von Tag 1 bis 4 (Abb. 31 A) signifikant höher als in der *B.t.*-Mais-Gruppe (Median, Kontrolle: 191 mg / Tag; *B.t.*-Mais: 110 mg / Tag), der Unterschied wurde jedoch in der zweiten Hälfte des Versuchs nicht signifikant, weil die Kontrollwerte gegenüber Tag 1-4 leicht abnahmen, während der Quartilsabstand der *B.t.*-Mais-Gruppe deutlich zunahm (Kontrolle: 139 mg / Tag; *B.t.*-Gruppe: 95 mg / Tag; Abb. 31 B).

Relative Consumption Rate (RCR, Abb. 32): An Tag 1-4 war die RCR in der Kontrollgruppe signifikant höher als in der *B.t.*-Mais-Gruppe (Abb. 32 A; Kontroll-Median: 2,77; *B.t.*-Mais: 1,66); der Unterschied war in der zweiten Versuchshälfte nicht signifikant (Abb. 32 B; Kontroll-Median: 1,65; *B.t.*-Gruppe: 1,29).

Approximate Digestibility (AD, Abb. 33): Weder in der ersten noch in der zweiten Versuchshälfte ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen (Tag 1-4, Kontroll-Median: 0,38; *B.t.*-Mais: 0,43; Tag 5-8, Kontrolle: 0,36; *B.t.*-Gruppe: 0,41).

Schwankungen der aufgenommenen Nahrungsmenge, RCR und AD in Experiment 1-4:

Die Werte von aufgenommener Nahrungsmenge, RCR und AD schwankten in beiden Gruppen von Experiment zu Experiment beträchtlich. Beispielsweise betrug die RCR innerhalb der Kontrollgruppe an Tag 1-4 in Experiment 1 mehr als das Doppelte von Experiment 2 und 3 (Abb. 32). Zumindest an Tag 1-4 war der Trend im Falle der Nahrungsaufnahme und der RCR in *B.t.*- und Kontrollgruppe ähnlich: Die Werte beider

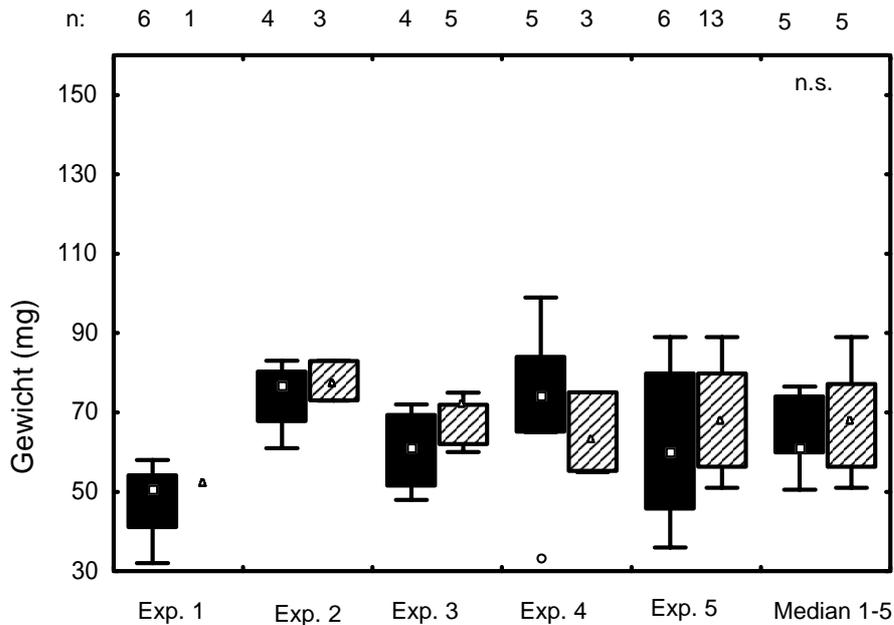


Abb. 29: Gewicht von parasitierten *Chilo partellus*-Larven (Alter: 14-21 Tage; Gewicht: 40-80 mg) zu Beginn des Experiments. *C. partellus* wurde mit Kontrollmais-Stängeln gefüttert, die entweder mit Kontroll-Mais-Suspension (schwarz) oder mit *B.t.*-Mais-Suspension (gestrichelt) präpariert waren. Als Parasitoid diente *Cotesia flavipes*. Die *B.t.*-Mais-Konzentration betrug $0 \mu\text{g} / \text{mg}$ Nahrung in der Kontrolle und $1,4 \mu\text{g} / \text{mg}$ Nahrung in der *B.t.*-Gruppe. $t=-0,93$, $p=0,39$. Zu weiteren Erläuterung siehe Abb. 3 bzw. Abschnitt 2.4.

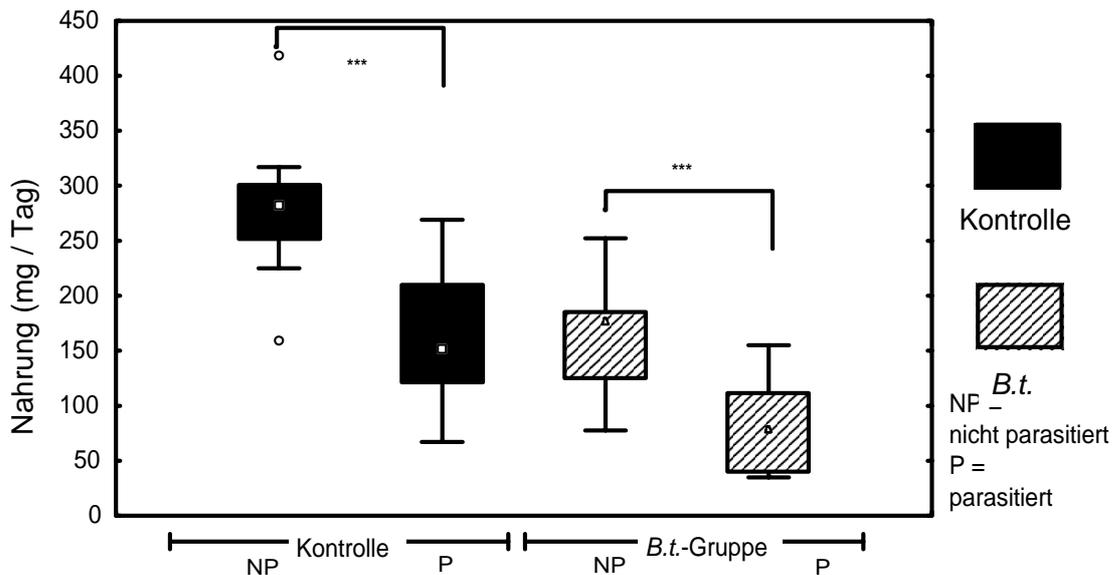


Abb. 30: Durchschnittlichen Menge der von *Chilo partellus*-Larven an Tag 1-8 gefressenen Nahrung in Abhängigkeit von der Parasitierung durch *Cotesia flavipes* in *B.t.*- und Kontrollgruppe. Als Nahrung dienten mit *B.t.*- bzw. Kontrollmais-Suspension präparierte Maisstängel. Zur weiteren Erläuterung siehe Abb. 3 bzw. Abb. 29. Die *B.t.*-Mais-Konzentration betrug $0 \mu\text{g} / \text{mg}$ Nahrung in der Kontrolle und $1,4 \mu\text{g}$ in der *B.t.*-Gruppe. Kontrolle, nicht parasitiert - parasitiert: $F = 40,21$; $FG = 1, 47$; $p < 0,0001$; *B.t.*-Gruppe, nicht parasitiert - parasitiert: $F = 38,59$; $FG = 1, 47$; $p < 0,0001$; Interaktion zwischen den Faktoren "nicht parasitiert - parasitiert" und "Kontrolle - *B.t.*": $F = 0,99$; $FG = 1, 47$; $p = 0,32$. n (*B.t.*, nicht parasitiert) = n (Kontrolle, nicht parasitiert) = 10; n (Kontrolle, parasitiert) = 19; n (*B.t.*, parasitiert) = 12.

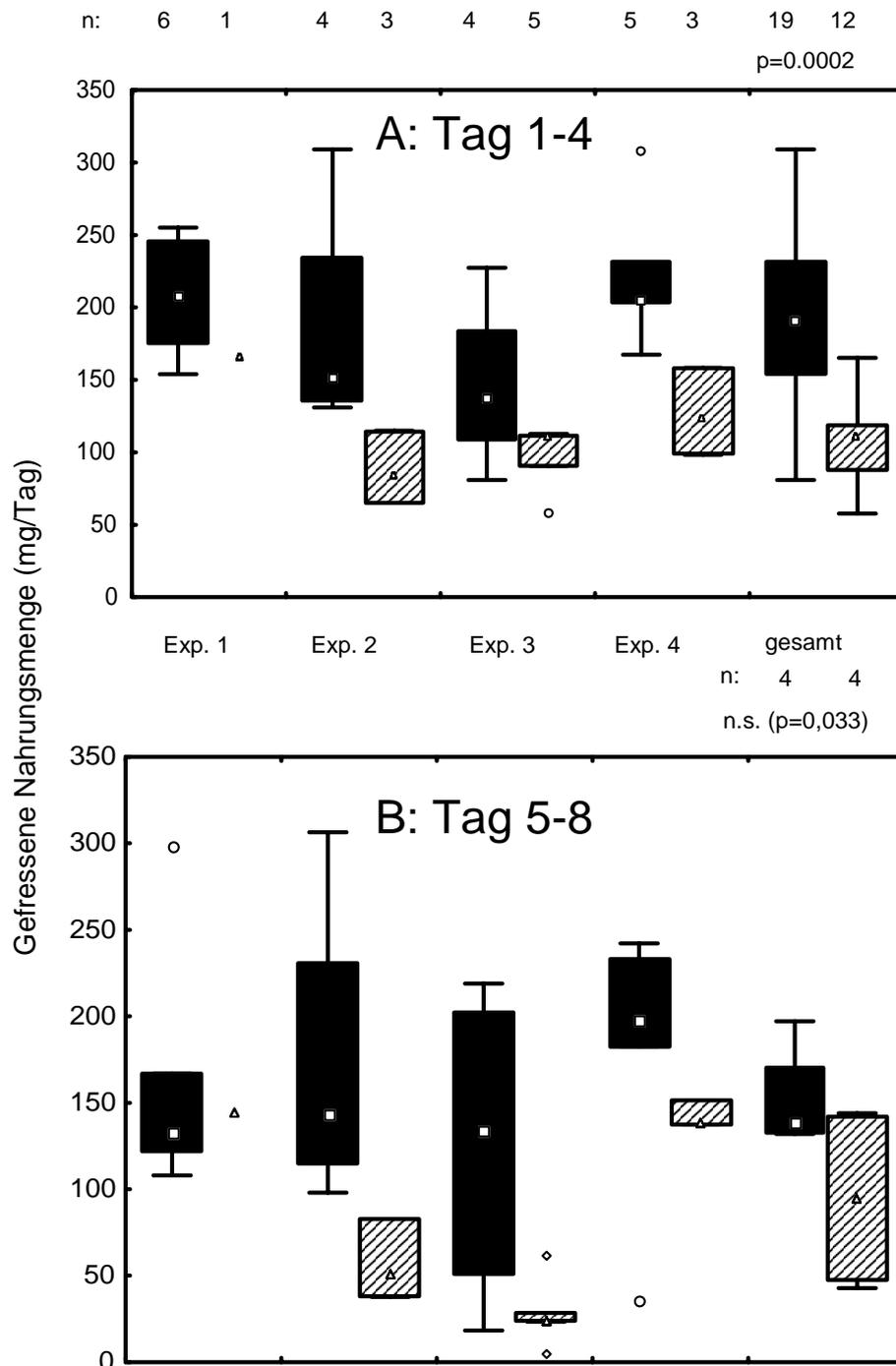


Abb. 31: Gefessene Nahrungsmenge von parasitierten *Chilo partellus*-Larven (Alter: 14-21 Tage; Gewicht: 40-80 mg) an Tag 1-4 (A) und 5-8 (B). *C. partellus* wurde mit Kontrollmais-Stängeln gefüttert, die entweder mit Kontroll-Mais-Suspension (schwarze Boxen) oder mit *B.t.*-Mais-Suspension (gestrichelte Boxen) präpariert waren. Die *B.t.*-Mais-Konzentration betrug 0 µg / mg in der Kontrolle bzw. 1,4 µg in der *B.t.*-Gruppe. Als Parasitoid diente *Cotesia flavipes*. Zur Erläuterung der grafischen Darstellung siehe Abb. 3, zur Erläuterung der Auswertung siehe Abschnitt 2.4.. n = Größe des Datensatzes.

A: U=21, Z=3,77.

B: t=2,91; p=0,033, Bonferroni-Korrektur: n.s..

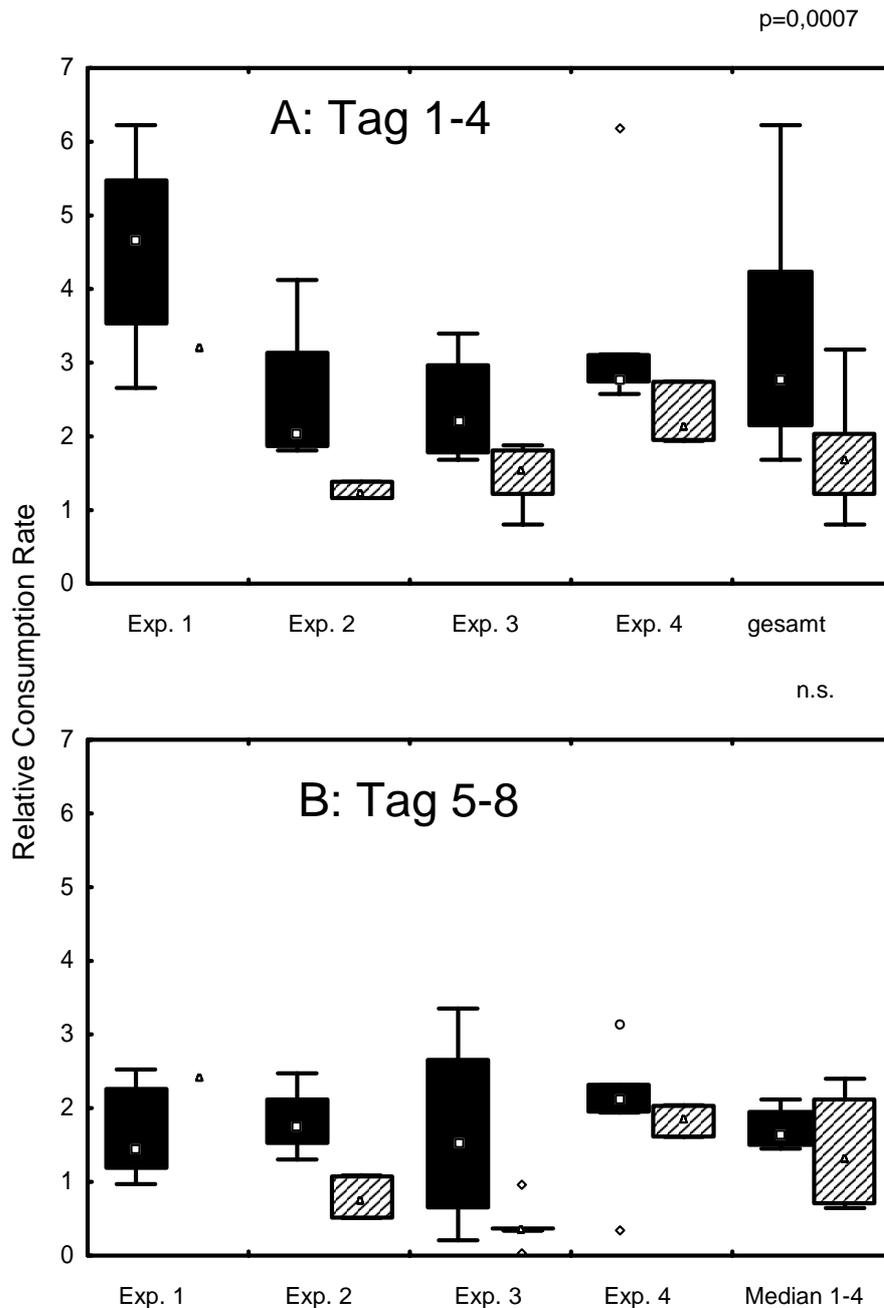


Abb. 32: Relative Consumption Rate (RCR) von parasitierten *Chilo partellus*-Larven (Alter: 14-21 Tage; Gewicht: 40-80 mg) an Tag 1-4 (A) und 5-8 (B). *C. partellus* wurde mit Kontrollmais-Stängeln gefüttert, die entweder mit Kontroll-Mais-Suspension (schwarze Boxen) oder mit *B.t.*-Mais-Suspension (gestrichelte Boxen) präpariert waren. Die *B.t.*-Mais-Konzentration betrug 0 µg / mg Nahrung in der Kontrolle bzw. 1,4 µg in der *B.t.*-Gruppe. Als Parasitoid diente *Cotesia flavipes*. Zur Erläuterung der grafischen Darstellung siehe Abb. 3, zur Erläuterung der Auswertung siehe Abschnitt 2.4, zur Größe der Datensätze siehe Grafik 31.

A: U=30, Z=3,41.

B: U=3, Z=1,06, p=0.29.

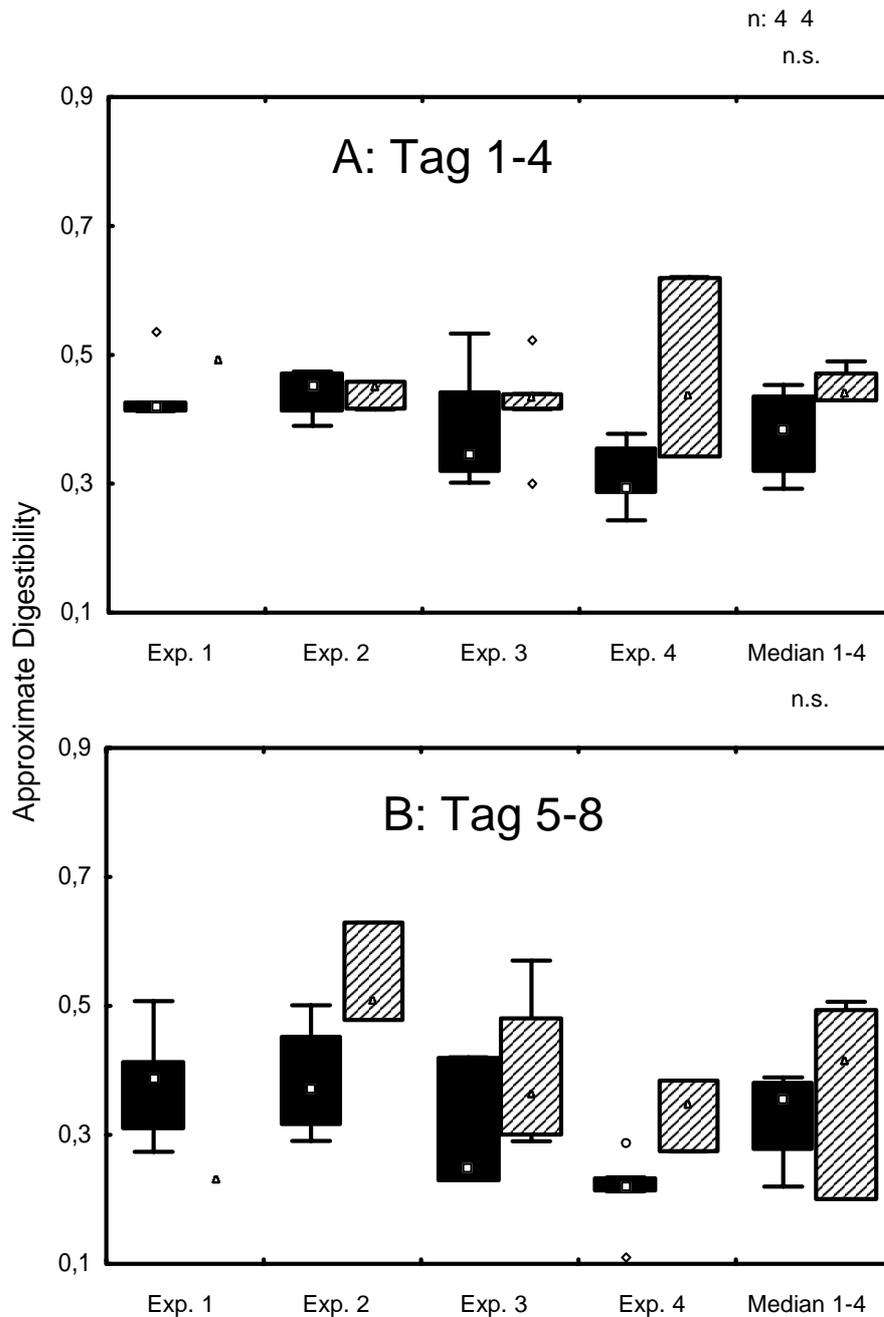


Abb. 33: Approximate Digestibility von parasitierten *Chilo partellus*-Larven (Alter: 14-21 Tage; Gewicht: 40-80 mg) an Tag 1-4 (A) bzw. 5-8 (B). *C. partellus* wurde mit Kontrollmais-Stängeln gefüttert, die entweder mit Kontroll-Mais-Suspension (schwarze Boxen) oder mit *B.t.*-Mais-Suspension (gestrichelte Boxen) präpariert waren. Die *B.t.*-Mais-Konzentration betrug 0 μg / mg Nahrung in der Kontrolle bzw. 1,4 μg in der *B.t.*-Gruppe. Als Parasitoid diente *Cotesia flavipes*. Zur Erläuterung der grafischen Darstellung siehe Abb. 3, zur Erläuterung der Auswertung siehe Abschnitt 2.4, zur Größe der Datensätze siehe Abb. 31.

A: $t=-1,42$, $p=0,22$.
B: $t=-1,16$, $p=0,30$.

Gruppen sanken von Experiment 1 nach Experiment 2, blieben in Experiment 3 auf einem ähnlichen Niveau, um schließlich wieder anzusteigen (Experiment 4)

3.3.2.2 „Life history“ Parameter des Parasitoids *Cotesia flavipes*

Parasitierungserfolg (Abb. 34 A): Der Parasitierungserfolg war in der *B.t.*-Maisgruppe gegenüber der Kontrolle drastisch reduziert. Da ein Datenpunkt der *B.t.*-Gruppe als Ausreißer gewertet wurde (siehe Abschnitt 3.3.2.1 und 4.6.1.1), ergaben sich für die *B.t.*-Gruppe je nach Experiment 12 - 37 % erfolgreich parasitierte Wirte, während in der Kontrolle je nach Experiment 75 - 100 % erfolgreich parasitiert wurden. Der Unterschied war in Experiment 2 – 5 signifikant.

Entwicklungszeit (Abb. 34 B): Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Entwicklungszeiten der Parasitoide beider Gruppen (Kontroll-Median: 10 Tage; *B.t.*-Gruppe: 9 Tage).

Gewicht aller Kokons pro Wirt (Abb. 34 C): Die Summe aller Kokons wog pro Wirt in der Kontrollgruppe mit im Median 27,5 mg signifikant mehr als in der *B.t.*-Mais-Gruppe mit 15,5 mg (prozentuale Verringerung auf 56% des Kontrollgewichts).

Anzahl aller Kokons pro Wirt (Grafik 35 A): Die Anzahl aller Kokons pro Wirt war in beiden Gruppen nicht signifikant zu unterscheiden (Kontroll-Median: 36; *B.t.*-Gruppe: 25).

Gewicht eines Kokons pro Wirt (Abb. 35 B): Ein „Kontroll-Kokon“ (Median 0,85 mg) war signifikant schwerer als ein „*B.t.*-Mais-Kokon“ (0,63 mg).

Gewicht der Spinnseide: Die Kokon-Spinnseide war in der Kontrolle signifikant schwerer als in der *B.t.*-Gruppe ($D = 0,55$; $n = 22$). Kontroll-Spinnseide wog im Median 0,10 mg (1. Quartil: 0,09 mg; 3. Quartil: 0,10 mg), in der *B.t.*-Gruppe hingegen nur 0,07 mg (1. Quartil: 0,06 mg; 3. Quartil: 0,09 mg).

Gewicht der Parasitoid-Puppen: Eine „Kontroll-Puppe“ war signifikant schwerer als eine „*B.t.*-Puppe“ ($D = 0,55$; $n = 22$). In der Kontrolle wog sie im Median 0,76 mg (1. Quartil: 0,69 mg; 3. Quartil: 0,92 mg), in der *B.t.*-Gruppe hingegen nur 0,56 mg (1. Quartil: 0,44 mg; 3. Quartil: 0,74 mg).

Mortalität (Abb. 35 C): Die Mortalität verpuppter Parasitoide betrug im Median 2% (Kontrolle) bzw. 7% (*B.t.*-Mais). Die Werte schwankten jedoch von Experiment zu Experiment, und der Unterschied zwischen beiden Gruppen war nicht signifikant.

Gefriergetrocknete Weibchen (bzw. Männchen) (Abb. 36 A bzw. B) der Kontrolle wogen im Median 0,09 mg (0,11 mg), der *B.t.*-Mais-Gruppe hingegen 0,06 mg (0,075 mg). Die Gewichte der *B.t.*-Mais-Gruppe betrug demnach etwa 67% (Weibchen) bzw. 68% (Männchen) des durchschnittlichen Kontrollgewichts. Die Unterschiede waren signifikant.

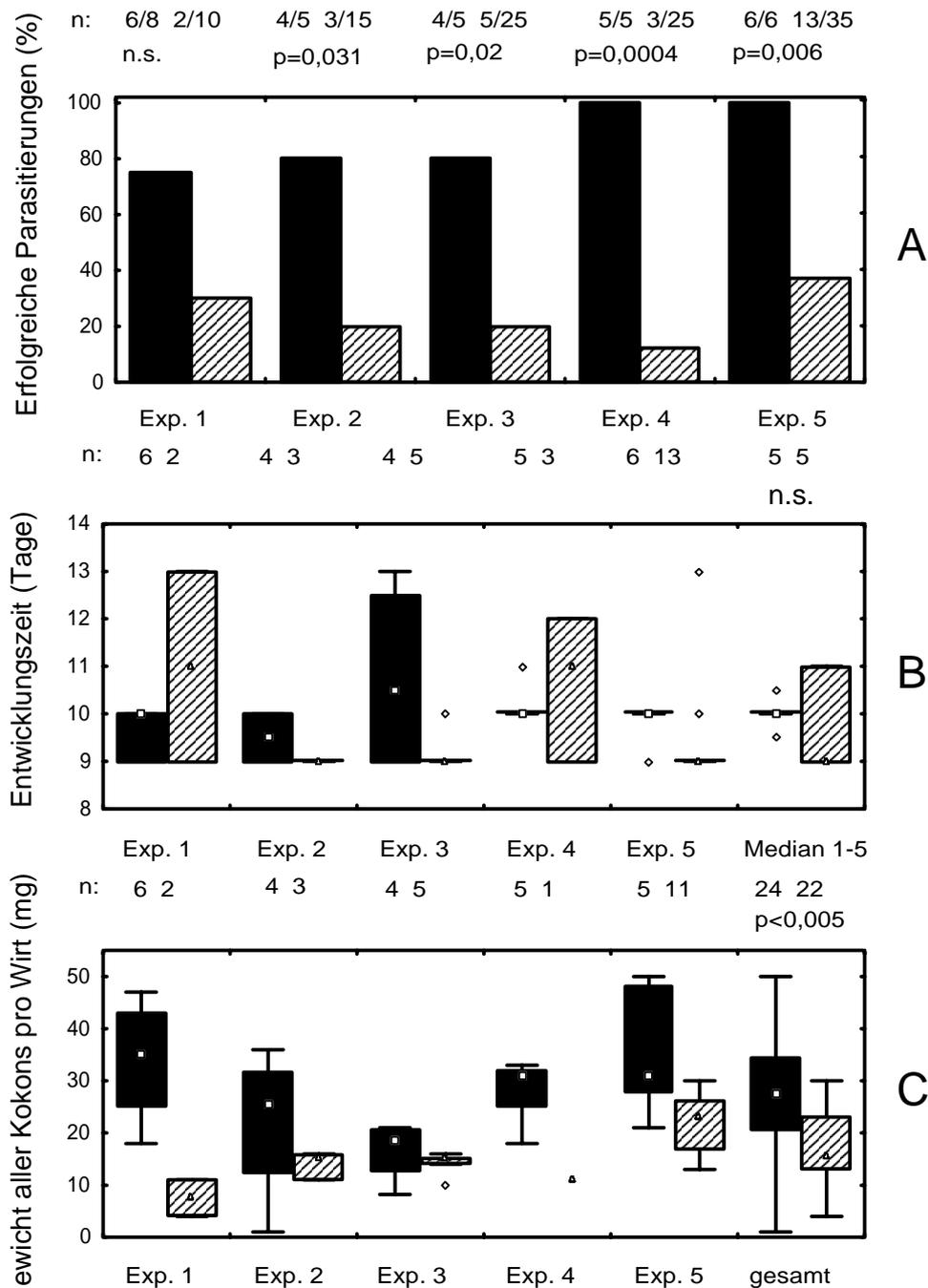


Abb. 34: Verschiedene Entwicklungsparameter des Parasitoiden *Cotesia flavipes*: der Anteil erfolgreich parasitierter Wirte (A), die Entwicklungsdauer (B) und das Gewicht aller Parasitoidenkokons eines Wirtes (C). Der Wirt (*Chilo partellus*; Alter: 14-21 Tage; Gewicht: 40-80 mg) wurde mit Kontrollmais-Stängeln gefüttert, die entweder mit Kontrollmais-Suspension (schwarze Boxen) oder mit *B.t.*-Mais-Suspension (gestrichelte Boxen) präpariert waren. Die *B.t.*-Mais-Konzentration betrug 0 µg / mg Nahrung in der Kontrolle bzw. 1,4 µg in der *B.t.*-Gruppe. Zur Erläuterung der grafischen Darstellung siehe Abb. 3, zur Erläuterung der Auswertung siehe Abschnitt 2.4

A: Fishers exakter Test; B: D=0,75, p>0,1; C: D=0,51.

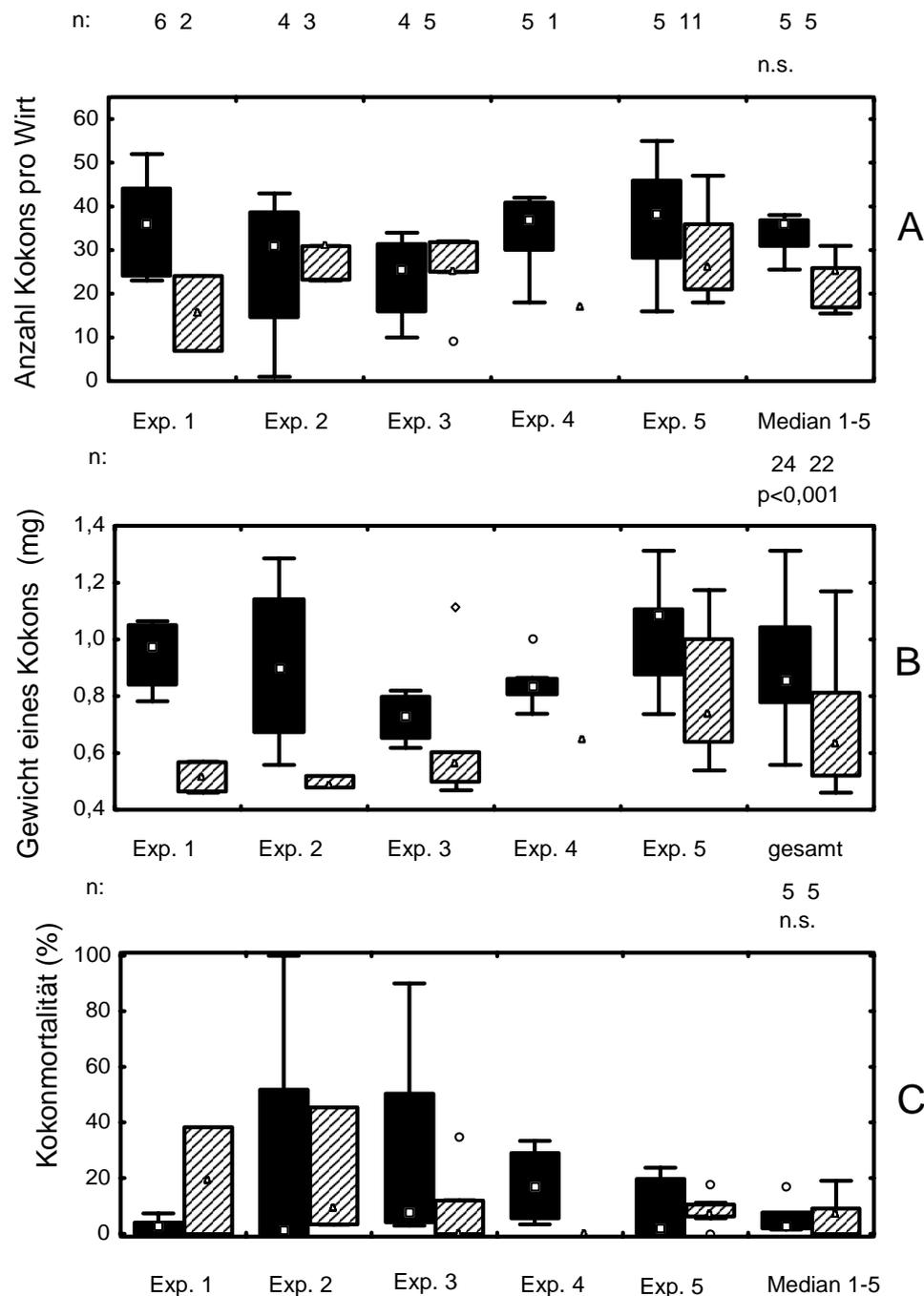


Abb. 35: Verschiedene Entwicklungsparameter des Parasitoids *Cotesia flavipes*: die Anzahl Kokons pro Wirt (A), das Durchschnittsgewicht eines Kokons pro Wirt (B) und der Anteil abgestorbener Kokons an allen Kokons (C). Der Wirt (*Chilo partellus*; Alter: 14-21 Tage; Gewicht: 40-80 mg) wurde mit Kontrollmais-Stängeln gefüttert, die entweder mit Kontrollmais-Suspension (schwarze Boxen) oder mit *B.t.*-Mais-Suspension (gestrichelte Boxen) präpariert waren. Die *B.t.*-Mais-Konzentration betrug $0 \mu\text{g} / \text{mg}$ Nahrung in der Kontrolle bzw. $1,4 \mu\text{g}$ in der *B.t.*-Gruppe. Zur Erläuterung der grafischen Darstellung siehe Abb. 3, zur Erläuterung der Auswertung siehe Abschnitt 2.4. A: $U=5$, $Z=1,22$; B: $D=0,60$; C: $t=0,56$, $p=0,59$.

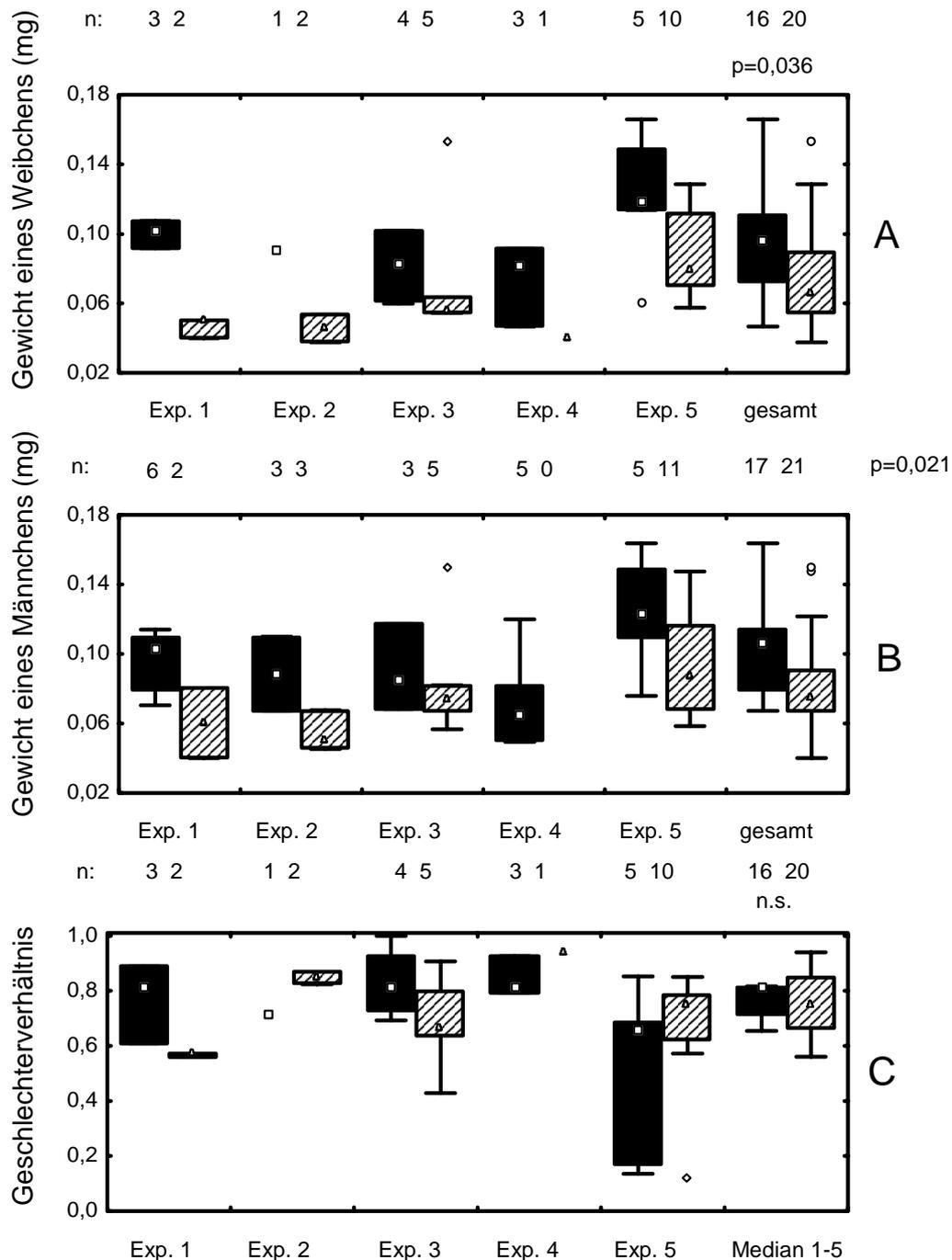


Abb. 36: Verschiedene Entwicklungsparameter des Parasitoiden *Cotesia flavipes*: das Durchschnittsgewicht eines Weibchens pro Wirt (A), das Durchschnittsgewicht eines Männchens pro Wirt (B) und das Geschlechterverhältnis(C). Der Wirt (*Chilo partellus*; Alter: 14-21 Tage; Gewicht: 40-80 mg) wurde mit Kontrollmais-Stängeln gefüttert, die entweder mit Kontrollmais-Suspension (schwarze Boxen) oder mit *B.t.*-Mais-Suspension (gestrichelte Boxen) präpariert waren. Die *B.t.*-Mais-Konzentration betrug $0 \mu\text{g} / \text{mg}$ Nahrung in der Kontrolle bzw. $1,4 \mu\text{g}$ in der *B.t.*-Gruppe. Zur Erläuterung der grafischen Darstellung siehe Abb. 3, zur Erläuterung der Auswertung siehe Abschnitt 2.4.

A: U=94, Z=2,10; B: U=100, Z=2,30; C: D=-0,50; $p > 0,10$.

Geschlechterverhältnis (Grafik 36 C): Das Geschlechterverhältnis geschlüpfter Adulti war in beiden Gruppen ähnlich: im Median 81% Weibchen (Kontrolle) bzw. 75% Weibchen (*B.t.*-Mais). Die Unterschiede waren nicht signifikant.

3.3.2.3 Korrelationen zwischen Nahrungsaufnahme des Herbivoren und Entwicklungsparametern der Parasitoide.

***B.t.*-Mais-Gruppe:** Die von Tag 1-8 vom Wirt aufgenommene Nahrungsmenge war negativ korreliert mit der Anzahl und dem Gewicht aller Parasitoidkokons pro Wirt (Abb. 37 A, B) und positiv mit der Entwicklungsdauer des Parasitoids (Dauer von der Eiablage bis zum Verlassen des Wirtes; Grafik 38 A). Alle Befunde waren hochsignifikant. Wurde der Ausreißer (siehe Abschnitt 3.3.2.1 bzw. 4.6.1.1) in die Ergebnisse einbezogen, waren die Korrelationen „gefressene Nahrung – Gewicht aller Kokons“ bzw. „gefressene Nahrung - Anzahl aller Kokons“ nicht signifikant. Im Falle der Anzahl aller Parasitoiden lag die Irrtumswahrscheinlichkeit dann bei 0,02 und damit über dem nach der Hochberg-Modifikation der Bonferroni-Korrektur geforderten p von 0,008. Die Korrelation zwischen Nahrung und Entwicklungszeit war dagegen auch dann signifikant, wenn der Ausreißer in die Ergebnisse einbezogen wurde.

Es bestand keine signifikante Korrelation zwischen der aufgenommenen Nahrungsmenge und dem Durchschnittsgewicht eines Parasitoid-Kokons (Abb. 37 C).

Kontroll-Gruppe: Es gab keine signifikanten Korrelationen zwischen einerseits vom Wirt aufgenommener Nahrungsmenge und andererseits dem Gewicht aller Parasitoid-Kokons, der Anzahl aller Parasitoid-Kokons, dem Durchschnittsgewicht eines Parasitoid-Kokons und der Entwicklungszeit des Parasitoids (Abb. 37 D, E, F und 38 B). Die Irrtumswahrscheinlichkeit der Korrelation zwischen Nahrungsaufnahme durch den Wirt und der Entwicklungszeit des Parasitoids lag bei 0,033 und befand sich damit deutlich über der nach der Bonferroni-Korrektur geforderten Wahrscheinlichkeit von 0,007.

Es gab keine signifikanten Korrelationen zwischen der Approximate Digestibility und den oben erwähnten Parasitoidparametern, weder in der Kontrolle noch in der *B.t.*-Mais-Gruppe.

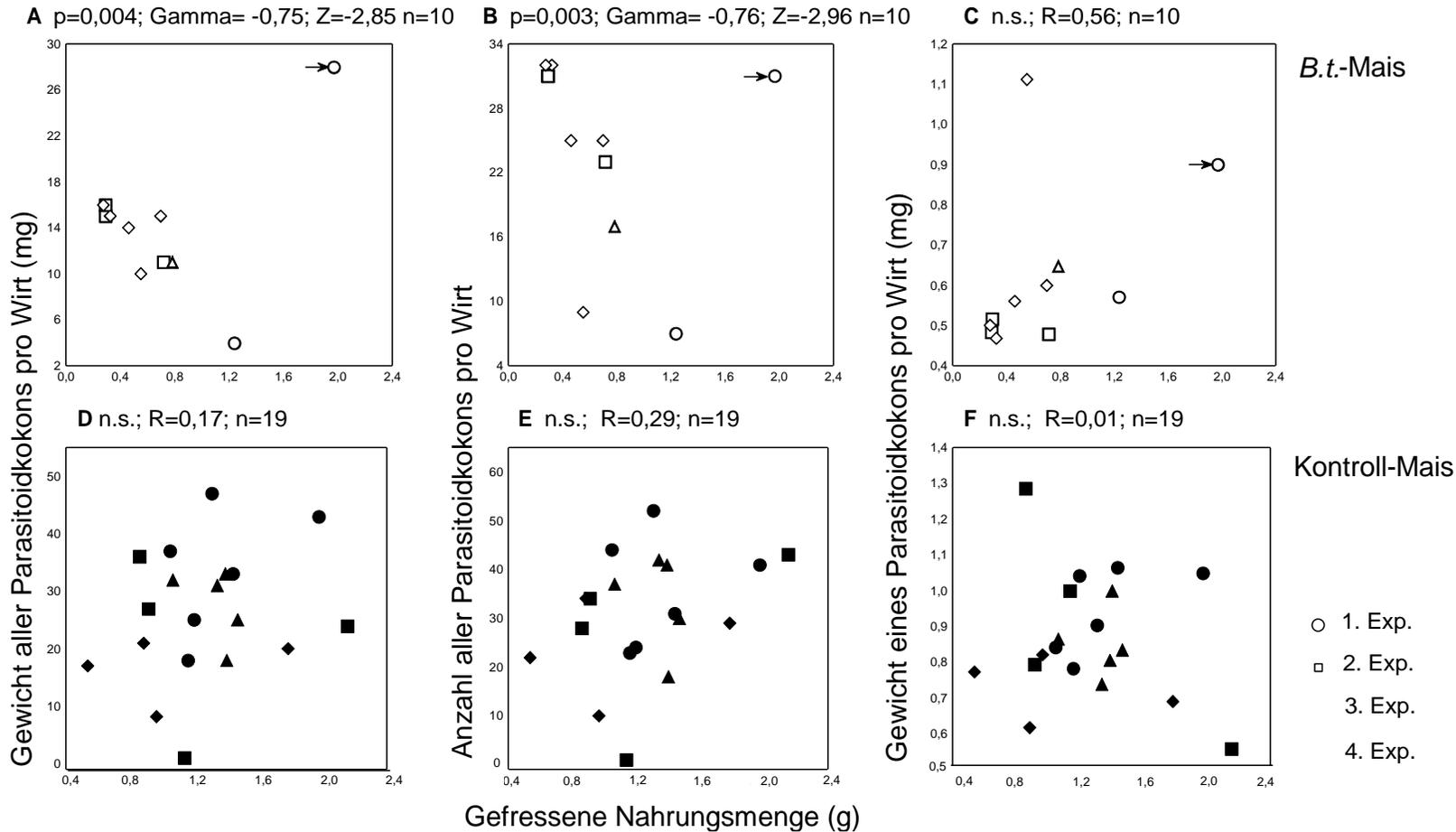


Abb. 37: Korrelationen zwischen der vom Wirt *Chilo partellus* (Alter: 14-21 Tage; Gewicht: 40-80 mg) gefressenen Nahrungsmenge und 3 Parasitoidenparametern: dem Gewicht aller Kokons pro Wirt (A, D), der Anzahl an Kokons pro Wirt (B, E) und dem Durchschnittsgewicht eines Kokons pro Wirt (C, F). *C. partellus* wurde mit Kontrollmais-Stängeln gefüttert, die entweder mit Kontrollmais-Suspension (D-F) oder mit *B.t.*-Mais-Suspension (A-C) präpariert waren. Die Legendensymbole zeigen, in welchem Experiment welche Daten gewonnen wurden. In A - C wurde der Datenpunkt "1970 mg" (mit Pfeil markiert) als Ausreißer gewertet und nicht in die Auswertung einbezogen. Die *B.t.*-Konzentration betrug $0 \mu\text{g} / \text{mg}$ Nahrung in der Kontrolle bzw. $1,4 \mu\text{g}$ in der *B.t.*-Gruppe. C: $p=0,07$; D: $p=0,48$; E: $p=0,23$; F: $p=0,07$.

4 DISKUSSION

Nach einer Diskussion der angewandten Methoden und der dabei aufgetretenen Probleme (Abschnitt 4.1 und 4.2) wird zunächst die Wirkung von *B.t.*-Mais-Suspension auf nicht parasitierte *C. partellus*-Larven erörtert (Abschnitt 4.3). Abschnitt 4.4. interpretiert die Ergebnisse zum Einfluss des Futters (Kontrollmais-Stängel versus -Blätter) auf die Entwicklung von parasitierten *C. partellus*-Larven und von *Cotesia flavipes*. Die Wirkung von *B.t.*-Mais-Suspension auf Kontrollmais-Blättern bzw. in Kontrollmais-Stängeln auf parasitierte *C. partellus*-Larven und auf *C. flavipes* wird in den Abschnitten 4.5 bzw. 4.6 diskutiert. *B.t.*-Mais könnte eine direkte oder indirekte Wirkung auf die Entwicklung von *C. flavipes* ausüben (Abschnitt 4.7.). Die Untersuchung tritrophischer Systeme mit *B.t.*-Pflanzen ist von Bedeutung, denn von der Wirkung der seit langem eingesetzten mikrobiellen *B.t.*-Präparate kann nicht auf die Wirkung transgener *B.t.*-Pflanzen geschlossen werden (Abschnitt 4.8). In Abschnitt 4.9 werden wichtige, noch offene Fragen zur Wirkung von *B.t.*-Mais auf Parasitoide angesprochen. Auch wenn die Freilandrelevanz der vorliegenden Studie gering ist (Abschnitt 4.10), so können die dabei eingesetzten Methoden zukünftigen Studien als Grundlage dienen, um die Wirkung von verschiedenen transgenen, insektenresistenten Pflanzen auf Herbivore, deren Prädatoren und Parasitoide zu erfassen (4.11).

4.1 Messung von Frisch- versus Trockengewichten

In der vorliegenden Arbeit wurden mit Ausnahme des Gewichts adulter Parasitoide nur Frischgewichte gemessen. Dies ist unüblich, denn pflanzliche und tierische Gewebe verlieren laufend Wasser, und dieser Gewichtsverlust ist meist nur schwer zu bestimmen (SLANSKY und SCRIBER 1985; SCHOONHOVEN et al. 1998). Über die WALDBAUERSche Verdunstungsformel wurde der Gewichtsverlust der Nahrung so genau wie möglich errechnet (WALDBAUER 1968). Die Messung von Trockengewichten ist jedoch ebenfalls mit Fehlern behaftet. So muss das Trockengewicht des Tieres bzw. der Nahrung zu Beginn des Experimentes geschätzt werden (WALDBAUER 1968).

Darüber hinaus werden viele Verdauungsparameter auf der Basis von Trockengewichten bestimmt (z.B. Waldbauer 1968; SLANSKY und SCRIBER 1985). Verdauungsparameter, die auf Frischgewichten basieren, sind mit diesen Werten nicht direkt zu vergleichen, weil der Wassergehalt von verschiedenen tierischen und pflanzlichen Geweben unterschiedlich sein kann (WALDBAUER 1968).

Die Messung von Frischgewichten erscheint dennoch sinnvoll, denn Dehydratisierung von Insekten ist eine Folge der Aufnahme von *B.t.*- δ -Endotoxinen. So wurden Erbrechen und Diarrhö und damit verbunden Gewichtsverlust und eine charakteristische Turgorabnahme („Schlaffsucht“) beobachtet (KRIEG 1986; TANADA und KAYA 1993; LÜTHY und WOLFERSBERGER 2000). Würden Gewichtsdaten basierend auf Trockengewichten ermittelt, so könnte der durch die *B.t.*-Wirkung verursachte Wasserverlust nicht dokumentiert werden.

Ferner sollte das Larvalgewicht von *C. partellus* mehrmals im Verlauf des Versuchs gemessen werden. Damit wurde der zeitliche Verlauf der Verdauungsparameter parasitierter und nicht parasitierter *C. partellus*-Larven erfasst. Darüber hinaus wäre eine Messung des Adultgewichts des Parasitoids *C. flavipes* bei Trocknung der parasitierten Wirte vor dem Schlupf der Parasitoide natürlich nicht möglich.

Es bleibt ein Problem, dass die auf Frischgewichten basierenden Verdauungsparameter mit den in der Literatur meist üblichen Werten nicht direkt verglichen werden können, da letztere auf Trockengewichten beruhen. Das Hauptziel der vorliegenden Arbeit lag jedoch in einem Vergleich zwischen *B.t.*-Gruppe und Kontrolle und nicht in einer Messung der absoluten Höhe der Werte von *C. partellus* nach Aufnahme von Maisblättern oder –stängeln.

4.2 Methodische Probleme bei der Messung der Verdauungsparameter

Bei der Bestimmung des Larvalgewichts, des abgegebenen Kots, der aufgenommenen Nahrung und der Approximate Digestibility (AD) traten die folgenden Probleme auf:

Bestimmung des Larvalgewichts: Der Darminhalt von Lepidopteren-Larven kann so viel wiegen wie der Rest des Körpers (WIGHTMAN 1981). Da Larven der Kontrolle und der *B.t.*-Gruppe Nahrung aufnahmen, waren die gemessenen Larvalgewichte die Summe der Gewichte von aufgenommener Nahrung und der Körpermasse der Larve. Relative Growth Rate (RGR) und Relative Consumption Rate (RCR) enthielten im Nenner das Larvalgewicht zu Beginn der Messzeit (FARRAR et al. 1989). Es war bei der Bestimmung der Larvalgewichte für die RGR und RCR unklar, welcher Anteil des gemessenen Larvalgewichts in Kontrolle und in *B.t.*-Gruppe aus der Körpermasse der Larve und welcher Anteil aus der aufgenommenen Nahrung bestand.

Die Gewichtsunterschiede enthalten ebenfalls das Larvalgewicht. Die Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter (ECD) und die Efficiency of Conversion of Ingested Food into Body Matter (ECI) enthalten im Zähler die Gewichtsunterschiede. Daher sind auch diese Parameter von dem oben genannten Problem betroffen. Es handelt sich dabei jedoch um einen systematischen Fehler, der sowohl für die Kontrolle als auch für die *B.t.*-Gruppe gilt. Das Ziel dieser Studie lag nicht in der möglichst genauen Messung der absoluten Höhe der Verdauungsparameter, sondern in der Untersuchung der Unterschiede zwischen Kontrolle und *B.t.*-Gruppe.

Bestimmung des Kotgewichts: Die Ausscheidungen an Harnsäure und das Gewicht von peritrophischen Membranen, ausgeschiedenen Mitteldarmepithelzellen und Enzymen wurde nicht berücksichtigt. Der Anteil von Harnsäure am Kot ist im Falle von Pflanzenfressern zu vernachlässigen. Der Harnsäuregehalt beträgt 0,24 % am Trockengewicht des Kots von *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae; WALDBAUER 1968). Da der gemessene Kot auch das Gewicht der peritrophischen Membranen u.ä. enthielt, waren die gemessenen Kotwerte zu hoch und damit die Differenz „Nahrung – Kot“ im Zähler der AD zu klein. Somit waren die ermittelten AD-Werte in *B.t.*-Gruppe und Kontrolle ebenfalls zu klein. Dieser wahrscheinlich geringfügige Fehler war jedoch in *B.t.*- und Kontrollgruppe ähnlich.

Der Gewichtsverlust des Kots durch Verdunstung konnte nicht verlässlich bestimmt werden, denn es war unmöglich, in kürzester Zeit eine für eine Messung ausreichend große Kotmenge zu erhalten, die praktisch noch kein Wasser verloren hatte und diese dann 24 h im Klimaschrank zu halten, um den Wasserverlust zu ermitteln.

Nach Gabe von Blattfutter war der Kot deutlich dunkler gefärbt als die Blattreste selbst. Dagegen bestand nach Gabe von Stängelfutter praktisch kein Unterschied zwischen der Kotfarbe und der Farbe von kleinen Stängelstückchen, die die Larve abgeraspelt hatte. Somit war die Trennung von Kot und Nahrungsresten in Experimenten mit Blattfutter exakter als in Experimenten mit Stängelfutter. Aus diesem Grunde war die Genauigkeit der Gewichtsbestimmung sowohl von Kot- als auch von Nahrungsresten nach der Gabe von Blattfutter sicherlich höher als nach der Gabe von Stängelfutter.

Der Fehler bei der Bestimmung der Kotmenge (wie bei der Bestimmung des Larvalgewichts) gilt sowohl für die *B.t.*-Gruppe als auch für die Kontrolle. Er ist daher für den Vergleich zwischen beiden Gruppen irrelevant.

Bestimmung der aufgenommenen Nahrungsmenge: Wie bei der Bestimmung des Kotgewichts erläutert, war die Bestimmung der aufgenommenen Nahrungsmenge nach der Gabe von Blattfutter genauer als nach der Gabe von Stängelfutter, weil im Blattfutter-Experiment der Kot besser von der Nahrung zu unterscheiden war.

In beiden Experimenten streute der Gewichtsverlust der Nahrung, möglicherweise aufgrund von unterschiedlichem Wassergehalt, von Photosynthese, Wachstum oder Atmung (WALDBAUER 1968; AXELSSON und AGREN 1979; WIGHTMAN 1981; KOGAN 1986; VAN LOON 1991). So betrug der durchschnittliche Gewichtsverlust der Nahrung im Blattfutter-Experiment bei einer Konzentration von 2,5 µg Mais / mg Nahrung im Durchschnitt 6,2 % innerhalb von 24 h, das Maximum betrug jedoch 9,7% und das Minimum 4,0 %. Im Stängelfutter-Experiment betrug der durchschnittliche Gewichtsverlust 2,7 %, das Minimum 1,6 % und das Maximum 3,8 %. Bei der Ermittlung der Trockengewichte von Nahrung und Kot können schon kleine Fehler bei der Bestimmung des Trockengewichtsanteils die Werte der Verdauungsparameter beträchtlich ändern (SCHMIDT und REESE 1986). In der vorliegenden Arbeit wurde immer nur der mittlere Gewichtsverlust der Nahrung zur Berechnung der tatsächlich aufgenommenen Nahrung verwendet. Aufgrund der Streuung des Gewichtsverlusts der Nahrung könnte es damit zu Fehlern bei der Berechnung der Verdauungsparameter gekommen sein.

Der Gewichtsverlust der Nahrung durch Verdunstung oder Atmung wurde ermittelt, indem Blattstückchen ohne *C. partellus*-Larven (bzw. mit Larven, die keine Nahrung aufnahmen, siehe Abschnitt 2.3.2) unter ansonsten identischen Bedingungen inkubiert wurden. Es wurde die Gewichtsdiﬀerenz zwischen Beginn und Ende der Messzeit berechnet. Dabei wurde nicht berücksichtigt, dass Blätter als Reaktion auf Fraßschaden durch die *C. partellus*-Larve ihre Atmung verändern könnten („Wundatmung“; VAN LOON 1991).

Der Fehler bei der Bestimmung der aufgenommenen Nahrungsmenge (wie bei der Bestimmung des Larvalgewichts und des Kotgewichts) gilt wahrscheinlich sowohl für die *B.t.*-

Gruppe als auch für die Kontrolle. Er ist daher für den Vergleich zwischen beiden Gruppen irrelevant.

Bestimmung der Approximate Digestibility (AD): Da am Ende des Messzeitraums noch Nahrung im Darm verblieb, war das ermittelte Kotgewicht zu klein und damit die AD zu groß. Zu Beginn des Messzeitraums enthielt der Darm schon Nahrung. Damit waren die zu Beginn des Messzeitraums gemessenen Kotgewichte zu groß und die AD zu klein. Möglicherweise glichen sich die anfangs zu niedrigen und am Ende zu hohen AD-Werte aus. Auch dieser Fehler gilt sowohl für die Kontrolle als auch für die *B.t.*-Gruppe und ist daher für das Hauptziel dieser Studie, den Vergleich von *B.t.*- und Kontrollwerten, irrelevant.

4.3 Nicht parasitierte *Chilo partellus*-Larven verschiedenen Alters auf Blatt- und Stängelfutter mit verschiedenen *B.t.*-Mais-Konzentrationen

Die Wirkung von *B.t.*-Mais-Suspension auf verschiedene Verdauungsparameter von unparasitierten *Chilo partellus*-Larven wird diskutiert (Abschnitte 4.3.2 – 4.3.6) und mit anderen Studien verglichen (Abschnitt 4.3.8). Abschnitt 4.3.7 verweist auf die Problematik bei der Interpretation von Korrelationen zwischen den Verdauungsparametern. Bei Gabe von Blattfutter verringerten sich die Werte einiger Verdauungsparameter bei älteren Larvalstadien von Tag 1-4 nach Tag 5-8 in der Kontrolle. In Abschnitt 4.3.9 wird ein Versuch unternommen, diesen Befund zu erklären. Abschnitt 4.3.10 diskutiert den möglichen Einfluss des Wasserverlusts der Nahrung auf die Verdauungsparameter. Die Beobachtung, dass sich die Werte der Verdauungsparameter im Lauf der Larvalentwicklung bei verschiedenen Insekten-Ordnungen häufig in ähnlicher Weise ändern, wird anhand der Approximate Digestibility (AD) und der Relative Consumption Rate (RCR) exemplarisch erläutert (Abschnitt 4.3.11). Schließlich werden die bei unterschiedlichen Konzentrationen der *B.t.*-Mais-Suspension aufgenommenen *B.t.*-Mais-Mengen miteinander verglichen (4.3.12) und die wesentlichen Diskussionspunkte dieses Abschnitts zusammengefasst (4.3.13).

4.3.1 Mortalität nicht parasitierter *C. partellus*-Larven

Die Mortalität nicht parasitierter *C. partellus*-Larven betrug in der Kontrolle 0 bis 11 %, in der *B.t.*-Gruppe 0 bis 30 %. Die *B.t.*-Konzentration war damit in den meisten Versuchen so eingestellt, dass hauptsächlich subletale Effekte gemessen wurden.

4.3.2 Gegenüber der Kontrolle verringerte Nahrungsaufnahme und „Relative Consumption Rate“ (RCR) in der *B.t.*-Gruppe bei Stängel- und Blattfutter

Chilo partellus-Larven nahmen in der *B.t.*-Gruppe unter verschiedenen Bedingungen weniger Nahrung auf als in der Kontrolle. Ferner war die auf das Anfangsgewicht bezogene Nahrungsaufnahme (Relative Consumption Rate, RCR) ebenfalls geringer als in der Kontrolle.

Die Nahrungsaufnahme von Lepidopteren-Larven besteht pro Fressperiode aus zwei Komponenten: aus dem Zeitintervall, in dem Nahrungsaufnahme stattfindet und aus der Geschwindigkeit, mit der einzelne Nahrungspartikel innerhalb dieses Zeitintervalls abgebissen und aufgenommen werden (SLANSKY 1993). *Helicoverpa zea*-Larven und *Spodoptera exigua*-Larven (beide Lepidoptera: Noctuidae) verringerten das Zeitintervall ihrer Nahrungsaufnahme um so mehr, je höher die *B.t.*-Konzentration war, der sie ausgesetzt wurden (AVÉ 1995). Möglicherweise wurde auch bei *C. partellus* das Zeitintervall verringert, in dem Nahrung aufgenommen wurde, und damit auch die Menge an aufgenommener Nahrung, bzw. die RCR.

Hohe δ -Endotoxin-Konzentrationen führen zu einem Fraßstopp (z.B. KRIEG 1986; BOUCIAS und PENDLAND 1998). Dies wurde in der vorliegenden Arbeit nicht beobachtet, weil in allen Experimenten mit *B.t.*-Mais-Konzentrationen von nur 1,4 μg *B.t.*-Mais / mg Nahrung bis 50 μg *B.t.*-Mais / mg Nahrung gearbeitet wurde.

Die Verringerung der aufgenommenen Nahrung kann als Anpassungsreaktion der Larve auf das mit der Nahrung aufgenommene *B.t.*-Toxin interpretiert werden. Indem sie die aufgenommene Nahrungsmenge verringert, vermeidet sie schwerwiegendere Schädigungen durch das Toxin. Andererseits kann das Toxin Stoffwechselprozesse wie Verdauung und Absorption der Nahrung stören, wodurch wiederum die Nahrungsaufnahme der Larve verringert werden könnte (SLANSKY und SCRIBER 1985).

Der Befund, dass zumindest im Experiment mit Blattfutter bei den Konzentrationen von 2,5 μg , 5 μg und 12,5 μg *B.t.*-Mais / mg Nahrung die Menge an aufgenommenem *B.t.*-Mais im Median relativ konstant blieb, während sich die Menge an aufgenommener Nahrung verringerte, könnte dafür sprechen, dass die Raupe bei diesen Konzentrationen die Menge an aufgenommenem δ -Endotoxin über eine Verringerung der Nahrungsaufnahme reguliert. Allerdings wurde die Menge an δ -Endotoxin im Mitteldarm nicht bestimmt. Die Alternativhypothese, die verringerte Nahrungsaufnahme beruhe auf der Beeinträchtigung von Stoffwechselprozessen, wird durch folgende Argumente untermauert: δ -Endotoxin kann

eine Lähmung des Mitteldarms bewirken (z.B. TANADA und KAYA 1993) und führt unter anderem zu histopathologischen Veränderungen des Mitteldarmepithels (z.B. KRIEG 1986, BOUCIAS und PENDLAND 1998). Das Mitteldarmepithel ist unter anderem für Enzymsekretion und Nahrungsresorption wichtig (BOUCIAS und PENDLAND 1998). Inwieweit diese Prozesse auch bei den eingesetzten geringen *B.t.*-Mais-Konzentrationen ablaufen, ist allerdings unklar. Bei subletalen *B.t.*-Konzentrationen sind Insektenlarven in der Lage, das Mitteldarmepithel zu regenerieren, indem beschädigte Epithelzellen durch Stammzellen ersetzt werden (LÜTHY und WOLFERSBERGER 2000). Es ist denkbar, dass geringere δ -Endotoxin-Konzentrationen den Mitteldarm nicht lähmen, sondern zu einer Verlangsamung der Darmpassage führen und damit die aufgenommene Nahrungsmenge verringern.

4.3.3 Gegenüber der Kontrolle verringerte Gewichts­differenz und „Relative Growth Rate“ (RGR) in der *B.t.*-Gruppe bei Stängel- und Blattfutter

Chilo partellus-Larven der *B.t.*-Gruppe nahmen unter verschiedenen Bedingungen weniger an Gewicht zu als in der Kontrolle. Ferner war die auf das Anfangsgewicht bezogene Gewichts­differenz (Relative Growth Rate, RGR) ebenfalls geringer als in der Kontrolle.

Dieser Befund geht mit einer ebenfalls verringerten Nahrungsaufnahme einher. Deswegen könnte man annehmen, die gegenüber der Kontrolle verringerten RGR- und Gewichts­differenz-Werte beruhten auf einer verringerten Nahrungsaufnahme. Nahrungsaufnahme und Gewichts­differenz sind in der *B.t.*-Gruppe zumindest im Stängel-Experiment bei einer Konzentration von 1,4 μg *B.t.*-Mais / mg Nahrung und im Blattexperiment bei einer Konzentration von 5 μg / mg Nahrung an Tag 1-4 positiv miteinander korreliert. Ferner besteht eine signifikant positive Korrelation zwischen Nahrungsmenge und Gewichts­differenz in der Kontrolle des Blattexperiments bei einer Konzentration von 2,5 μg Mais / mg Nahrung.

Das Wachstum herbivorer Insekten ist jedoch eher durch einzelne Nahrungsbestandteile begrenzt, und zwar oft durch Wasser und Stickstoff, als durch die insgesamt aufgenommene Nahrungsmenge (MARTIN und VAN'T HOF 1988; VAN LOON 1991; APPEL 1994).

Möglicherweise ist im Falle einer *B.t.*-Intoxikation also Wasser der wachstums­limitierende Faktor, denn Dehydratisierung von Insekten ist eine Folge der Aufnahme von *B.t.*- δ -Endotoxinen (KRIEG 1986; TANADA und KAYA 1993; LÜTHY und WOLFERSBERGER 2000).

Wasserverlust über Diarrhö oder Erbrechen kann ferner auch unmittelbar das Gewicht verringern. Jedoch wurden in keinem Experiment dieser Arbeit Reste von Erbrochenem bemerkt. Die Konsistenzen des Kots von *B.t.*-Gruppe und Kontrolle schienen sich auch nicht

zu unterscheiden. Zur Überprüfung des Wassergehalts wäre Trocknung des Kots in beiden Gruppen ratsam.

Schließlich könnte auch Stickstoff der wachstumslimitierende Faktor sein, denn *B.t.*- δ -Endotoxin blockiert die Absorption von Aminosäuren im Mitteldarm (GRINGORTEN 2001).

4.3.4 Gegenüber der Kontrolle verringerte „Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter“ (ECD) in der *B.t.*-Gruppe bei Stängel- und Blattfutter

Chilo partellus-Larven wandelten in der *B.t.*-Gruppe unter verschiedenen Bedingungen einen geringeren Anteil der verdauten Nahrung in Körpermasse um als in der Kontrolle. Ein Grund dafür könnte in dem gegenüber der Kontrolle erhöhten energetischen Aufwand für die Regeneration des Mitteldarmepithels liegen. Möglicherweise wurden in den *B.t.*-Gruppen vom Toxin geschädigte Mitteldarmepithelzellen laufend durch Stammzellen ersetzt (LÜTHY und WOLFERSBERGER 2000).

Die verringerte ECD hat ihre Ursache möglicherweise auch darin, dass die Larven das *B.t.*-Toxin meiden (GOULD et al. 1991; FARRAR und RIDGEWAY 1995; STAPEL et al. 1998). Eine damit einhergehende gesteigerte lokomotorische Aktivität könnte zu einer Intensivierung des Betriebsstoffwechsels und damit verbunden zu einer Verringerung des Umsatzes von verdauter Nahrung in körpereigene Gewebe führen. Zumindest im Stängelfutter-Experiment hielten sich die *C. partellus*-Larven der *B.t.*-Gruppe jedoch eher in den Stängelstückchen auf. Die verringerte ECD kann eine der Ursachen für eine ebenfalls gegenüber der Kontrolle verringerte Gewichtszunahme sein, denn ECD und Gewichtsdiﬀerenz waren in der *B.t.*-Gruppe bei Gabe von Blattfutter und einer Konzentration von 2,5 μg *B.t.*-Mais / mg Nahrung an Tag 1-4 positiv miteinander korreliert. Auch bei Stängelfutter und einer Konzentration von 1,4 μg *B.t.*-Mais / mg Nahrung traten positive Korrelationen auf.

4.3.5 „Approximate Digestibility“ (AD): unterschiedliches Verhalten je nach *B.t.*-Konzentration und Futterart

Es ist erstaunlich, dass die AD in keinem Falle in der *B.t.*-Gruppe geringer war als in der Kontrolle. *B.t.*- δ -Endotoxin führt zu histopathologischen Änderungen des Mitteldarmepithels, dessen Zellen für die Enzymsekretion und Nahrungsresorption wichtig sind (BOUCIAS und PENDLAND 1998). Deswegen wurde eine gegenüber der Kontrolle verringerte AD erwartet.

Bei ca. 1 mg schweren Larven auf Blattfutter (effektive *B.t.*-Mais-Konzentration: 2,5 µg / mg Nahrung) und bei 15-33 mg schweren Larven auf Blattfutter (*B.t.*-Mais-Konzentration: 2,5 µg / mg Nahrung) wurde jedoch an Tag 1-4 eine hochsignifikant höhere AD in der *B.t.*-Gruppe gefunden. Unter allen anderen Bedingungen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen. Dieser Umstand kann auf verschiedene Weise interpretiert werden: Möglicherweise verblieb in der *B.t.*-Gruppe ein Teil der Nahrung für einen gewissen Zeitraum im Darm, ohne verdaut oder ausgeschieden zu werden. Die Differenz „Nahrung – Kot“ im Zähler der AD ergäbe dann einen zu hohen Wert, und damit auch die AD selbst.

Alternativ kann spekuliert werden, dass die Nahrung vollständiger verdaut wurde, weil gegenüber der Kontrolle geringere Nahrungsmengen aufgenommen wurden. Es konnte im Falle von Wanderheuschrecken (*Schistocerca gregaria*; Orthoptera: Acrididae) gezeigt werden, dass unter Hungerbedingungen Wasser und Ionen in Richtung Caeca zurückströmten, so dass Enzyme und Nährstoffe im ektoperitrophen Raum nach vorne strömten und besser ausgenutzt wurden als bei gut genährten Tieren (PETERS 2003). Ein derartiger Rückstrom erscheint jedoch bei Lepidopteren-Larven als unwahrscheinlich (APPEL 1994). Außerdem würde dadurch nicht erklärt werden, warum eine erhöhte AD nur in einigen Experimenten gemessen wurde.

Die Beziehungen zwischen Nahrungsaufnahme und AD sind nicht einheitlich; beide Parameter können positiv, negativ oder gar nicht miteinander korreliert sein (SLANSKY 1993). Bei Gabe von Blattfutter ergab sich in der vorliegenden Studie für keine Maiskonzentration eine signifikante Korrelation zwischen diesen Parametern.

Zudem traten signifikante Schwankungen der AD innerhalb der Kontrollgruppen bei Gabe von Blattfutter auf. Da diese keinen einheitlichen Trend in Abhängigkeit von der Kontrollmais-Konzentration aufwiesen, hingen sie wahrscheinlich von anderen, im Experiment nicht kontrollierten Faktoren ab. Die im Experiment eingesetzten Maispflanzen wurden im S1-Gewächshaus gezogen und waren sicherlich Schwankungen in der Lichtintensität, der Luftfeuchte und Temperatur ausgesetzt, die auch bei Regulierung von Temperatur und Sonnenbestrahlung nicht vollkommen ausgeglichen werden konnten. Der Wassergehalt von Blättern kann täglich um 10% schwanken (SLANSKY 1993). Schwankungen im Wassergehalt sind häufig korreliert mit dem Stickstoffanteil am Trockengewicht. Wasser- und Stickstoffgehalt sind positiv mit der AD und anderen Verdauungsparametern korreliert (MATTSON und SCRIBER 1987).

4.3.6 Gegenüber der Kontrolle verringerte „Efficiency of Conversion of Ingested Food into Body Matter“ (ECI) in der *B.t.*-Gruppe bei Stängel- und Blattfutter

Die ECI war in der *B.t.*-Gruppe unter den meisten Bedingungen niedriger als in der Kontrolle. Sie ist das Produkt aus AD und ECD. Da die Verringerung der ECD offenbar stärker war als die Zunahme der AD, lagen auch die ECI-Werte meist signifikant niedriger als in der Kontrolle.

4.3.7 Problematik der Interpretation der vorliegenden Korrelationen zwischen Nahrungsaufnahme, „Efficiency of Conversion of Digested Food into Body Matter“ (ECD) und Gewichtsdiﬀerenz

Die beiden Parameter ECD und Gewichtsdiﬀerenz sind nicht vollkommen voneinander unabhängig, denn die Gewichtsdiﬀerenz ist im Zähler der ECD enthalten. Aus diesem Grunde besteht die Gefahr einer nichtkausalen Beziehung, in diesem Fall einer formalen Korrelation. Dies wird jedoch dadurch widerlegt, dass die Korrelation zwischen diesen Parametern von den experimentellen Bedingungen abhing: So waren diese Parameter bei Gabe von Stängelfutter in der Kontrolle an Tag 5-8 nicht signifikant miteinander korreliert.

Es war bei den vorliegenden Korrelationen problematisch, zwischen Ursachen und Wirkungen zu unterscheiden. So konnte anhand des vorliegenden Datenmaterials nicht geklärt werden, ob die Gewichtsdiﬀerenz von der ECD beeinflusst wurde oder ob sowohl Gewichtsdiﬀerenz als auch ECD beide durch einen anderen Faktor, beispielsweise durch Dehydratisierung der Larven oder einen Mangel an Proteinen bedingt wurden. Wäre die letztere Hypothese zutreffend, so wäre die Beziehung zwischen ECD und Gewichtsdiﬀerenz eine Gemeinsamkeitskorrelation.

Ferner bestanden Korrelationen zwischen ECD und Gewichtsdiﬀerenz bzw. zwischen Nahrung und Gewichtsdiﬀerenz nicht bei allen *B.t.*-Konzentrationen. Falls eine Korrelation der Normalfall ist, könnten diese Abweichungen dadurch bedingt gewesen sein, dass bei den beiden höchsten Konzentrationen im Blattfutter-Experiment der Messzeitraum nur 2 Tage betrug (bei den beiden geringeren Konzentrationen betrug er 4 Tage); darüber hinaus waren die Datensätze teilweise ziemlich klein (z.B. $n = 6$ im Falle von $5 \mu\text{g } B.t.$ -Mais / mg Nahrung für die Korrelation ECD – Gewichtsdiﬀerenz bei Gabe von Blattfutter). Für statistisch besser abgesicherte bzw. vergleichbare Korrelationen sind größere Datensätze und identische Messzeiträume notwendig. Möglicherweise verändern sich jedoch die Beziehungen

zwischen den genannten Parametern tatsächlich in Abhängigkeit von der *B.t.*-Mais-Konzentration.

Aufgrund der angesprochenen Probleme wurde bewusst darauf verzichtet, die Beziehungen zwischen den Parametern über multiple Regression genauer zu untersuchen, denn dafür wäre es notwendig gewesen zu entscheiden, welche(r) Parameter als Ursache und welche als Wirkung anzusehen sind.

4.3.8 Vergleich mit anderen Studien

In mehreren Studien bewirkte die Applikation von *B.t.*-Kristallen und/oder -Sporen eine Verringerung verschiedener Verdauungsparameter von Lepidopteren-Larven gegenüber der Kontrolle.

So waren RCR- und RGR-Werte nach Aufnahme von mikrobiellen *B.t.*-Präparaten mit der Nahrung gegenüber der Kontrolle reduziert (Navon et al. 1992; NAVON et al. 1993; FARRAR und RIDGEWAY 1995; DEML et al. 1998; BAUCE et al. 2002). Mit Ausnahme von DEML et al. (1998) wurden in allen Studien Trockengewichte ermittelt. Die in der vorliegenden Arbeit beschriebene Verringerung von auf Frischgewichten beruhenden RGR-Werten ist demnach nicht ausschließlich auf Wasserverlust der *C. partellus*-Larven zurückzuführen. Ferner wurden gegenüber der Kontrolle verringerte ECD- und ECI-Werte gefunden (DEML et al. 1998). BAUCE et al. 2002 fanden verringerte ECD- bzw. ECI-Werte bei *Choristoneura fumiferana*-Larven (Lepidoptera: Tortricidae) im L6-Stadium, jedoch nicht im L4-Stadium. Gegenüber der Kontrolle reduzierte ECD- bzw. ECI-Werte wurden auch in der vorliegenden Arbeit gefunden. FARRAR und RIDGEWAY (1995) beobachteten, dass RGR-, RCR- und ECI-Werte mit steigender *B.t.*-Konzentration abnahmen. Ähnliche Dose-Response-Kurven zwischen *B.t.*-Mais-Konzentration und Nahrungsaufnahme, Gewichts Differenz, RGR, RCR, ECD und ECI ergaben sich auch in dieser Studie. Larven verschiedener Lepidopteren-Arten wiesen nach Aufnahme von *B.t.* eine gegenüber der Kontrolle erhöhte AD auf (DEML et al. 1998). Diese Ergebnisse bestätigen den erstaunlichen, in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Befund, dass *C. partellus*-Larven unter bestimmten Bedingungen in der *B.t.*-Gruppe eine gegenüber der Kontrolle signifikant erhöhte AD hatten.

SCRIBER (2001) untersuchte die Wirkung von *B.t.*-Toxin-haltigem *B.t.*-Mais-Pollen auf RGR, RCR und ECI verschiedener Lepidopteren-Larven, konnte jedoch keine Unterschiede zwischen der Kontrolle und der *B.t.*-Gruppe finden.

Im Kontrast zur vorliegenden Arbeit und den oben genannten Studien wurde von SAREEN et al. (1983) eine Erhöhung der ECD- und ECI-Werte bei Larven von *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) nach Aufnahme von *B.t.*-Sporen beschrieben. Dieser Befund ist möglicherweise nicht auf die *B.t.*-Wirkung selbst zurückzuführen, denn die Larven wurden

dem *B.t.*-Toxin (verschiedene Konzentrationen an *B.t.*-Sporen) nur für etwa 2 Tage ausgesetzt. Anschließend wurden sie für mindestens 13 Tage auf Kontrollfutter gehalten. Die ECD- und ECI-Werte wurden jedoch für die gesamte Zeitdauer des Experiments ermittelt. Also könnten die Ergebnisse von SAREEN et al. (1983) ebenso auf einen Kompensationsmechanismus der *S. litura*-Larven zurückzuführen sein (SIMSPON und SIMSPON 1990).

4.3.9 Verdauungsparameter älterer Larvalstadien auf Blatt- und Stängelfutter an Tag 5-8 in der Kontrolle

Es ist auffällig, dass sich die Werte der aufgenommenen Nahrung und der Gewichts Differenz in der Kontrolle an Tag 5-8 gegenüber Tag 1-4 verringerten, wenn Blattfutter eingesetzt wurde. Auf Stängelfutter nahm die Menge an aufgenommener Nahrung bzw. die Gewichts Differenz von *C. partellus*-Larven in der Kontrolle von Tag 1-4 nach Tag 5-8 zu bzw. blieb konstant (siehe Abbildung 14).

Die RGR- und RCR-Werte der Kontrolle verringerten sich bei Gabe von Blattfutter ebenfalls gegenüber Tag 1-4. Eine Abnahme von RGR und RCR mit dem Larvalalter ist für verschiedene Lepidopteren-Larven beschrieben worden (SLANSKY und SCRIBER 1985; REAVEY 1993). Dadurch wird jedoch nicht erklärt, warum bei *C. partellus*-Larven ähnlichen Alters die Werte an Tag 5-8 bei Gabe von Blattfutter geringer waren als bei der Gabe von Stängelfutter (siehe Tabelle 2).

In einem weiteren Experiment wurden 31 Tage alte *C. partellus*-Larven parasitiert und dann entweder auf Stängel- oder auf Blattfutter überführt. Parasitierte *C. partellus*-Larven fraßen signifikant seltener an Blättern als an Stängeln (siehe Abbildung 19).

Diese Beobachtungen lassen den Schluss zu, dass Blätter von älteren Larvalstadien gemieden werden und möglicherweise nicht mehr optimal für deren Ernährung geeignet sind. Eine Erklärung für diesen Befund ist wahrscheinlich in der Lebensweise von *C. partellus*-Larven zu finden. Nach dem Schlupf ernähren sich *C. partellus*-Larven zunächst ektophytisch von den Blättern der Maispflanze. 1 bis 2 Wochen später bohren sie sich in den Stängel ein. Sie sind dann im L2-Stadium oder älter (BERGER 1992; 1994). Es ist auch von anderen Lepidopterenlarven bekannt, dass sie im Verlauf ihrer Entwicklung an verschiedenen Teilen derselben Futterpflanze fressen (GASTON et al. 1991; REAVEY 1993). Dadurch dass ältere *C. partellus*-Larven im Innern von Stängeln fressen, werden sie wahrscheinlich nur noch von wenigen Parasitoiden erreicht (HAWKINS 1994). Es kann spekuliert werden, dass *C. partellus*-Larven ein Meideverhalten gegenüber Blättern entwickeln, während sie ihre Ernährung von Blättern auf Stängel umstellen. Da sie im

Experiment an Tag 5-8 eine geringere Menge an Blattmaterial aufnehmen als an Tag 1-4 und dabei nicht an Gewicht abnehmen, sanken ebenfalls die RCR-Werte (die RCR enthält im Nenner das Larvalgewicht). Eine geringere Nahrungsaufnahme führte möglicherweise auch zu einer geringeren RGR.

Darüber hinaus könnten Blätter für ältere *C. partellus*-Stadien ernährungsphysiologisch ungeeignet sein. 7,7% des Trockengewichts von *Zea mays*-Stängeln bestehen aus Protein, jedoch nur 1,4% des Trockengewichts der Blätter von *Zea mays* subsp. *mexicana* (DUKE und ATCHLEY 1986). Das Wachstum herbivorer Insekten wird häufig von einzelnen Nahrungsbestandteilen begrenzt, und zwar oft von Wasser oder Stickstoff (VAN LOON 1991; APPEL 1994). Allerdings ist unklar, wie sich der Gewichtsanteil an Protein in Blatt und Stängel ändern würde, wenn er auf das Frischgewicht des Pflanzenmaterials bezogen würde. Möglicherweise ist der Wassergehalt im Stängel ein anderer als im Blatt. Angaben zum Wassergehalt waren nicht zu finden. Es ist auch unklar, ob der Proteingehalt in *Zea mays* subsp. *mexicana* dem Proteingehalt in *Zea mays* der untersuchten Unterart entspricht. Sollten die in der Literatur gefundenen Angaben auf den in der vorliegenden Studie eingesetzten Mais zutreffen, dann kann spekuliert werden, dass ältere Larvalstadien einen höheren Proteinanteil der Nahrung benötigen als jüngere Larven und daher bei Aufnahme von Blättern langsamer wachsen als bei Aufnahme von Stängeln.

SCHOONHOVEN et al. (1998) machen die folgende Bemerkung zum Wechsel des Fressverhaltens im Verlauf der Larvalentwicklung von Lepidopteren: "Some caterpillar species show a distinct switch to a different part of their host plant as they grow. The reasons for such switches are obscure."

4.3.10 Einfluss des Wasserverlusts der Nahrung auf die zeitlichen Änderungen der Verdauungsparameter älterer Larvalstadien von *C. partellus* auf Kontrollmaisblättern mit Kontrollmais-Suspension

Verschiedenene Verdauungsparameter (RCR, RGR, AD und andere) werden durch den Wassergehalt der Nahrung beeinflusst (z.B. SCRIBER und SLANSKY 1981; SLANSKY 1993). ELLSWORTH et al. (1989) stellten fest, dass der Wassergehalt von Maisstängeln konstant blieb, auch wenn sich der Wassergehalt des Bodens veränderte. Bei geringerem Wassergehalt des Bodens vertrockneten jedoch die Blätter der Maispflanzen. Daher werden *C. partellus*-Larven wahrscheinlich unter natürlichen Bedingungen kaum Schwankungen im Feuchtigkeitsgehalt des Pflanzengewebes ausgesetzt, wenn sie sich im Maisstängel

befinden. Der tägliche Gewichtsverlust von Stängelstückchen, die in der vorliegenden Studie verwendet wurden, betrug 2,7 % gegenüber 6,2% Gewichtsverlust von Maisblattstückchen. Wie in Abschnitt 4.3.9 erläutert, fressen jüngere *C. partellus*-Larven an Blättern, während sich ältere in den Stängel einbohren. Daher wurde vermutet, dass *C. partellus*-Larven der Kontrollgruppe an Tag 5-8 des Experiments bei Gabe von Blattfutter weniger Nahrung aufnahmen und daher langsamer wuchsen als an Tag 1-4 (siehe Abbildung 3, 4 bzw. 8), weil sie auf den Wasserverlust der Maisblätter empfindlicher reagierten als jüngere Larven, die sich noch von Blättern ernährten. Dagegen kann eingewandt werden, dass ältere Larven die Nahrungsaufnahme im Gegensatz zur obigen Vermutung erhöhen könnten, um den Wasserpegel auszugleichen. Erhöhte Nahrungsaufnahme bei erniedrigtem Wassergehalt der Nahrung ist allerdings bei Lepidopteren-Larven nicht nachgewiesen worden (SLANSKY 1993). An Tag 5-8 ergab sich jedoch kein einziger signifikanter Unterschied zwischen der Petrischalen- und der Eppendorf-Kontrolle. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die Verdunstung doch keine Rolle spielt, zumindest wenn sie zwischen 2,3 % / Tag (Eppendorfkontrolle) und 6,2 % / Tag (Petrischalen) beträgt.

Nur an Tag 1-4 war die AD der Petrischalen-Kontrolle signifikant höher als in der Eppendorf-Kontrolle. Die AD schwankte auch zwischen verschiedenen Kontrollen bei unterschiedlichen Konzentrationen an Kontrollmais-Suspensionen auf Blattfutter (siehe Abbildung 4). Die AD ist positiv mit dem Wasser- und Stickstoffgehalt der Nahrung korreliert (MATTSON und SCRIBER 1987). Da die Eppendorf-Kontrolle nicht simultan mit der Petrischalen-Kontrolle durchgeführt wurde, waren Wasser- und/oder Stickstoffgehalt der Pflanzen in den beiden Kontrollen möglicherweise unterschiedlich (siehe Abschnitt 4.3.5).

4.3.11 Vergleich der Verdauungsparameter 1 mg schwerer, 15-33 mg schwerer und 40-70 mg schwerer *C. partellus*-Larven in der Kontrolle

40-70 mg schwere Larven auf Stängelfutter hatten in der Kontrolle geringere RGR-, RCR-, AD-, ECD- und ECI-Werte als 1 mg schwere Larven auf Blattfutter. Die Tendenz, dass ältere Larvalstadien geringere RGR-, RCR- und AD-Werte als jüngere aufweisen, ist schon bei anderen Lepidopteren beobachtet worden (WALDBAUER 1968; SCRIBER and SLANSKY 1981; SLANSKY und SCRIBER 1985; REAVEY 1993). An dieser Stelle wird exemplarisch die Verringerung der AD und RCR während der Larvalentwicklung angesprochen.

AD: Jüngere Lepidopteren-Larven können selektiver Nahrung aufnehmen als ältere Larven. Letztere nehmen damit einen größeren Anteil unverdaulicher Pflanzenfasern auf. Ferner nehmen ältere Larvalstadien größere Nahrungspartikel auf, deren Oberfläche relativ zum Volumen kleiner ist als bei kleineren Nahrungspartikeln. Dadurch wird der enzymatische Aufschluß möglicherweise verringert (SLANSKY und SCRIBER 1985; REAVEY 1993). Mitunter wird argumentiert, die AD-Werte verringerten sich, da sich das Verhältnis Darmoberfläche zu Darmvolumen ebenfalls verringere (z.B. WALDBAUER 1968). Möglicherweise ist aber nicht nur die Oberfläche des Darms, sondern auch das Volumen der Darmepithelzellen wichtig für die Verdauung (REAVEY 1993). Das Verhältnis Volumen der Epithelzellen zu Darmvolumen kann mit dem Larvalalter wachsen (AHMAD 1986). Im Falle von *C. partellus* sind die AD-Werte basierend auf Trockengewichten bei L4-Larven ebenfalls geringer als bei L1-Larven (KUMAR 1995).

RCR: Diese Werte nehmen offenbar mit dem Larvalalter ab, weil bei älteren Larven ein höherer Anteil des Körpers aus weniger stoffwechselintensivem Fettgewebe besteht (SCRIBER and SLANSKY 1981; SLANSKY und SCRIBER 1985; REAVEY 1993).

4.3.12 Vergleich der aufgenommenen *B.t.*-Mais-Mengen bei verschiedenen *B.t.*-Mais-Konzentrationen

Es ist erstaunlich, dass die mit dem Blattfutter aufgenommene Menge an *B.t.*-Mais bei drei verschiedenen *B.t.*-Mais-Konzentrationen ähnlich war (Tabelle 3). Dies kann als eine Anpassungsreaktion der Raupen verstanden werden (SLANSKY und SCRIBER 1985). Möglicherweise waren sie in gewissem Maße dazu fähig, die mit der Nahrung aufgenommene Menge an *B.t.*-Toxin so zu begrenzen, dass schwerwiegendere Schädigungen durch das Toxin vermieden wurden. Um diese Hypothese zu untermauern,

wäre allerdings eine biochemische Analyse des δ -Endotoxin-Titers im Mitteldarm nötig. Gegen die Regulierung spricht, dass Raupen bei Gabe von Stängelfutter bei verschiedenen *B.t.*-Mais-Konzentrationen unterschiedliche Mengen an *B.t.*-Mais aufnahmen.

Es ist ebenfalls auffällig, dass es im Blattfutter-Experiment bei den drei geringeren *B.t.*-Mais-Konzentrationen zu einer graduellen Verringerung verschiedener Verdauungsparameter kam (siehe Abbildung 3 und 4), obwohl die Menge an aufgenommenen *B.t.*-Mais ähnlich blieb. Auch hier sind biochemische Analysen des δ -Endotoxin-Titers im Mitteldarm eventuell nützlich, um diesen Befund genauer zu verstehen.

4.3.13 Schlussbemerkung und Zusammenfassung: Messung von Verdauungsparametern bei *C. partellus* nach Aufnahme von *B.t.*-Mais

Bei den Messungen von aufgenommener Nahrung, abgegebenem Kot und den Gewichten der *C. partellus*-Larven traten methodische Schwierigkeiten auf (Abschnitt 4.2). Deswegen war es problematisch, die Werte der Verdauungsparameter genau zu bestimmen. Es war jedoch nicht das Ziel der vorliegenden Arbeit, die Verdauungsparameter möglichst genau zu quantifizieren, sondern zu erkennen, welche Unterschiede zwischen *B.t.*- und Kontrollgruppe bestanden. Anhand des experimentellen Designs wurden hochsignifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen bei der aufgenommenen Nahrung, der Gewichts Differenz, RGR, RCR, ECD und ECI gefunden. Die Ergebnisse wurden von den meisten anderen Studien bestätigt, die sich mit der Wirkung von mikrobiellen *B.t.*-Präparaten auf die Verdauungsparameter herbivorer Lepidopterenlarven befassten: *B.t.*-Mais verringerte die Menge an aufgenommener Nahrung bzw. die RCR. Die Ursache der verringerten Nahrungsaufnahme lag möglicherweise in einer gegenüber der Kontrolle verlangsamten Darmpassage der Nahrung. Auch die Gewichts Differenz bzw. die RGR war gegenüber der Kontrolle verringert. Das verringerte Wachstum könnte die Folge der verringerten Nahrungsaufnahme, eines Mangels an Wasser oder eines Mangels an Stickstoff sein. *B.t.*-Mais verringerte ebenfalls den Anteil der verdauten Nahrung, der in Körpermasse umgewandelt wurde. Ein Grund dafür könnte in dem gegenüber der Kontrolle erhöhten energetischen Aufwand für die Regeneration des Mitteldarmepithels liegen.

4.4 Biotest zum Einfluss des Futters (Kontrollmais-Stängel versus -Blätter) auf die Entwicklung parasitierter *Chilo partellus*-Larven und des Parasitoids *Cotesia flavipes*

Die gemessenen Gewichte von Blatt und Stängel fressenden *C. partellus*-Larven waren die Summe aus Wirts- und Parasitoidenbiomasse. Es ist dabei unklar, welcher Anteil an der insgesamt gemessenen Biomasse dem Wirtsgewicht und den Gewichten der Parasitoidlarven entsprach.

Anfangs 31 Tage alte Raupen fraßen signifikant häufiger an Stängeln als an Blättern. Wahrscheinlich nahmen 31 Tage alte Stängelfresser auch mehr Futter auf als 31 Tage alte Wirte, denen Blätter angeboten wurden. Es kam möglicherweise aus diesem Grunde zu einem gegenüber den Blattfressern erhöhten Gewichtszuwachs. Das Gewicht aller eingesponnen Parasitoidkokons betrug bei 31 Tage alten Stängelfressern im Median um 19 mg (70 %) mehr als bei gleichaltrigen Blattfressern, allerdings war der Unterschied nicht signifikant.

15 Tage alte Raupen fraßen etwa genauso häufig an Stängeln wie an Blättern. In einem anderen Experiment mit nicht parasitierten, anfangs 15 Tage alten *C. partellus*-Larven auf Blattfutter konnte jedoch gezeigt werden, dass sie weniger Blattfutter aufnahmen, wenn sie älter wurden (siehe Abbildung 3A bzw. 8A). Gleichaltrige nicht parasitierte Stängelfresser nahmen dagegen mehr Nahrung auf, wenn sie älter wurden (siehe Abbildung 14A). Hinzu kommt noch, dass Blattfutter für ältere *C. partellus*-Larven möglicherweise ernährungsphysiologisch weniger geeignet ist als Stängelfutter (siehe Abschnitt 4.3.9). Die Gewichtszunahme der anfangs 15 Tage alten Blattfresser war wahrscheinlich aus diesen Gründen geringer als bei gleichaltrigen Stängelfressern.

Der Parasitierungserfolg war bei 15 Tage alten Wirten auf Blattfutter signifikant geringer als bei 31 Tage alten Wirten. Ein erhöhter Parasitierungserfolg von *C. flavipes* bei älteren Larvalstadien des Wirts *Chilo partellus* wurde von NGI-SONG et al. (1995) beschrieben. Alle 15 Tage alten Wirte auf Blattfutter starben, bevor *C. flavipes* seine Larvalentwicklung beenden konnte. Da die ersten fünf Larvalstadien von *C. partellus* bei 26 °C durchschnittlich 4 Tage dauern (OCHIENG-ODERO et al. 1994), handelte es sich wahrscheinlich um das vierte oder fünfte Larvalstadium. Etwa 78 % - 79 % aller *Chilo partellus*-Larven im 4. bzw. 5. Stadium wurden von *C. flavipes* erfolgreich parasitiert, wenn der Wirt auf Kunstfutter gehalten wurde (NGI-SONG et al. 1995; Tabelle 4). Die Nahrungsquelle war also sicherlich die Ursache dafür, dass kein einziger Wirt erfolgreich parasitiert wurde, wenn ihm Blattfutter angeboten wurde.

Die Gewichtszunahme der 15 Tage alten Wirte auf Blattfutter reichte wahrscheinlich nicht für eine erfolgreiche Larvalentwicklung des Parasitoids aus (siehe Abschnitt 4.7 zur Diskussion der Ernährung von Parasitoidlarven in der Hämolymphe des Wirts). Mit 50% ist der Parasitierungserfolg bei 15 Tage alten ca. 20 mg schweren Wirten auf Stängelfutter gegenüber dem Literaturwert von 78 % bis 79 % relativ gering. Der Parasitierungserfolg wurde jedoch auf 77 % - 100 % erhöht, wenn 40 – 80 mg schwere 14 –21 Tage alte Wirte eingesetzt wurden (siehe Grafik 34A). Der Literaturwert von 78 % bis 79 % gilt demnach wahrscheinlich für Wirte, die ein größeres Gewicht hatten als die für das vorliegende Experiment ausgewählten Wirte.

Die Parasitoide hatten eine signifikant längere Entwicklungszeit in 15 Tage alten Wirten auf Stängelfutter als in 31 Tage alten Wirten auf Blatt- oder Stängelfutter. NGI-SONG et al. (1995) fanden ebenfalls eine mit der Größe des Wirtes *C. partellus* abnehmende Entwicklungszeit von *Cotesia flavipes*.

4.5 Biotests mit optimierter *B.t.*-Maisblatt-Suspension auf Kontrollmaisblättern, parasitierten *Chilo partellus*-Larven und *Cotesia flavipes*

Verdauungsparameter parasitierter *Chilo partellus*-Larven: In keinem Fall gab es signifikante Unterschiede zwischen Kontrolle und *B.t.*-Gruppe. Bei nicht parasitierten Wirten waren die Unterschiede für alle Parameter unter sonst ähnlichen Bedingungen zumindest an Tag 1-4 hochsignifikant (Abbildung 3-5). Im Falle der aufgenommenen Nahrung, der Gewichts Differenz, der RGR und RCR war jedoch zu erkennen, dass die Kontrollwerte parasitierter *Chilo partellus*-Larven an Tag 1-4 tendenziell – wenn auch nicht signifikant - höher waren als die entsprechenden *B.t.*-Werte. Der Biotest mit *B.t.*-Maisblatt-Suspension auf Kontrollmaisstängeln (Abschnitt 2.5.3.2) und von *Cotesia flavipes* parasitierten *Chilo partellus* führte zu einem ähnlichen Ergebnis: Die Kontrollwerte der aufgenommenen Nahrung und der RCR waren ebenfalls nicht signifikant höher als in der *B.t.*-Gruppe, allerdings erst ab Tag 5-8 (siehe Abbildungen 31B, 32B). Parasitoiden haben einen Einfluss auf die Nahrungsaufnahme und -verwertung ihres Wirtes (z.B. SLANSKY und SCRIBER 1985; SLANSKY 1986; QUICKE 1997; BECKAGE 1997). Der Einfluss des Parasitoids auf die Nahrungsaufnahme bzw. -verwertung des Wirtes *C. partellus* war offenbar in beiden Gruppen so stark, dass die *B.t.*-Wirkung praktisch nicht mehr erkennbar war.

Es fällt auf, dass die Werte fast aller Verdauungsparameter beider Gruppen einem synchronen „Zick-Zack-Kurs“ folgten. Dies könnte durch die Ei- bzw. Larvalentwicklung des Parasitoids bedingt sein.

Parasitierungsrate: Die Beobachtung, dass die Wirte in keinem einzigen Fall erfolgreich parasitiert wurden, könnte seine Ursache darin haben, dass ältere *C. partellus*-Larven Maisblätter meiden. Ferner sind Maisblätter möglicherweise ernährungsphysiologisch ungeeignet für ältere Larvalstadien. Die dadurch bedingte, nur geringe Gewichtszunahme des Wirts war nicht ausreichend für eine erfolgreiche Parasitierung durch *C. flavipes* (siehe Abschnitt 4.3.9).

Länge des Parasitoids: Das Gewicht der Parasitoidlarven war gegenüber dem Wirtsgewicht zu vernachlässigen. Die in die Auswertung einbezogenen Wirte wogen zwischen 18 und 60 mg, während das Gewicht einer Parasitoidlarve weniger als 10 µg betrug. Daher war das gemessene Gewicht der parasitierten Wirte praktisch mit der Wirtsbiomasse identisch.

Obwohl die Wirte aus *B.t.*- und Kontrollgruppe ein ähnliches Durchschnittsgewicht und eine ähnliche Lebensdauer hatten und von etwa derselben Anzahl an *C. flavipes*-Larven parasitiert wurden, waren die Parasitoidlarven in der Kontrolle signifikant länger als in der *B.t.*-Gruppe. Wahrscheinlich kann also die pro Parasitoidlarve zur Verfügung stehende Wirtsbiomasse als Ursache für diesen Unterschied ausgeschlossen werden.

Nur in der Kontrolle waren Wirtsgewicht und Länge der Parasitoidlarven positiv miteinander korreliert. Korrelationen zwischen der Größe des Wirts und der Größe des einzelnen Parasitoidnachkommens wurden auch von LE MASURIER (1987) für die Gattung *Apanteles* beobachtet. In der *B.t.*-Gruppe war die Länge der Parasitoidlarven wahrscheinlich durch andere Faktoren als die Wirtsgröße bedingt. Das *B.t.* δ -Endotoxin könnte die Entwicklung des Parasitoids in der Hämolymphe des Wirts auf direktem oder indirektem Weg beeinflussen, etwa über die Erhöhung des pH-Werts der Hämolymphe, über eine Verringerung des Titers an Trehalose bzw. Proteinen in der Hämolymphe oder direkt über die Bindung an membrangebundene Aminopeptidasen im Mitteldarm der Parasitoidlarven (siehe Abschnitt 4.7).

4.6 Biotest mit *B.t.*-Maisblatt-Suspension in Kontrollmais-Stängeln, parasitierten *Chilo partellus*-Larven und *Cotesia flavipes*

4.6.1 *Chilo partellus*

4.6.1.1 Ausreißer

Erhöhte Nahrungsaufnahme und erhöhtes Gewicht ist bei *B.t.*-resistenten Raupen beobachtet worden (GOULD et al. 1995; JOHNSON et al. 1997; SCHULER et al. 1999). HEAD et al. (2001) fanden bei Larven dreier Lepidopterenarten einen positiven Zusammenhang zwischen Menge an aufgenommenem *B.t.*-Toxin und Stärke der Resistenz gegenüber *B.t.*. Wahrscheinlich nehmen resistenter Larven mehr *B.t.*-haltige Nahrung und damit mehr *B.t.* auf. Die Messung der Nahrungsaufnahme wird zum Erkennen *B.t.*-resistenter Tiere eingesetzt (BAILEY-WOODWARD et al. 2001).

Die Frequenz p des Resistenzallels beträgt unter Freilandbedingungen für *Heliothis virescens* und *Ostrinia nubilalis* etwa 0.001 (GOULD et al. 1995; GOULD et al. 1997). Die *Chilo partellus*-Zucht am Lehrstuhl für Tierökologie II, Universität Bayreuth, wurde 1999 mit etwa 500 Tieren begonnen, die vom International Center of Insect Physiology and Ecology (ICIPE), Nairobi, Kenia, stammten. Somit ist die Wahrscheinlichkeit der Präsenz dieses Allels in dieser Lieferung 50%, sofern die Ausgangswahrscheinlichkeit auch für *C. partellus* zutrifft und er in Kenia keiner besonderen Selektion auf *B.t.*-Resistenz ausgesetzt war. Die Wahrscheinlichkeit, dass das Resistenzallel auch im Phänotyp zu beobachten ist, wäre p^2 , also 0.000001, sofern es sich um einen rein rezessiven Erbgang handelt. Resistenzen werden meist rezessiv oder partiell rezessiv vererbt (FERRÉ und VAN RIE 2002). Die *B.t.*-Toxin-Konzentration, bei der die Lepidopterenlarven auf Resistenz überprüft wurden, liegt allerdings um ein Vielfaches höher als im vorliegenden Versuch (GOULD et al. 1995: 150 ng / ml Nahrung; GOULD et al. 1997: 64 ng / ml; diese Studie: ca. 1 ng / Gramm Nahrung, sofern der Toxintiter 1 μg / g Frischgewicht beträgt, FEARING et al. 1997). Sofern eine negative Beziehung zwischen der Häufigkeit des Resistenz-Allels und der Höhe der *B.t.*-Konzentration vorliegt, mit der selektioniert wird, sollte die Frequenz des Allels in der Bayreuther Zucht höher liegen als 0.001. Die Wahrscheinlichkeit der phänotypischen Expression des Resistenzallels in der Laborpopulation ist letztlich aufgrund der vielen unbewiesenen Vorannahmen kaum zu bestimmen, die Anwesenheit des Allels in der Population jedoch relativ wahrscheinlich, das oben beschriebene Verhalten der einen Raupe der *B.t.*-Mais-Gruppe typisch für resistente Schmetterlingsraupen und statistisch von allen anderen

Raupen derselben Gruppe klar zu unterscheiden. Daher wurden alle Daten dieser Lepidopteren-Larve als Ausreißer behandelt. Alle Analysen wurden mit und ohne Ausreißer durchgeführt. Sofern der Ausreißer die Ergebnisse merklich änderte, wurde dies in den entsprechenden Abschnitten des Ergebnisteils beschrieben.

4.6.1.2 Verdauungsparameter des parasitierten Herbivoren

Es wurde bei der Auswertung der Ergebnisse dieses Versuchs darauf verzichtet, Verdauungsparameter anzugeben, die die Gewichtsdiﬀerenz des Wirts enthielten (RGR, ECD, ECI), denn es war unklar, zu welchen Anteilen die Gewichtsdiﬀerenz aus Änderungen in der Biomasse des Herbivoren oder des Parasitoids bestand.

Vergleich der aufgenommenen Nahrung von nicht parasitierten und parasitierten Wirten:

Die Parasitierung von *Chilo partellus* durch *Cotesia flavipes* verringerte die pro Tag aufgenommene Nahrungsaufnahme der Wirte. Nach SLANSKY (1986) steigt die Nahrungsaufnahme jedoch meist, wenn Wirte von gregären Parasitoiden befallen sind. SLANSKY und SCRIBER (1985) nennen 5 gregäre Parasitoiden, von denen jedoch nur 2 die vom Wirt aufgenommene Nahrungsmenge erhöhten. BECKAGE (1997) stellt fest, dass Parasitoiden die Nahrungsaufnahme des Wirts oft hemmen. Die verringerte Nahrungsaufnahme des Wirts führt offenbar zu einer Schwächung seines Immunsystems. Die gregären Parasitoiden *Cotesia congregata* (Hymenoptera: Braconidae), *Cotesia kariyai* und *Glyptapanteles muesebecki* (Hymenoptera: Braconidae) verringerten ebenfalls die gesamte Nahrungsmenge, die der Wirt während der Parasitierung aufnahm (ALLEYNE und BECKAGE 1997; DOETZER und FOERSTER 1998; NAKAMTSU et al. 2001). Dagegen erhöhte *Glyptapanteles liparidis* die Nahrungsmenge, die sein Wirt im 5. Larvalstadium aufnahm. Die Wirkung hing allerdings vom Zeitpunkt der Eiablage und vom Larvalstadium des Wirtes ab (SCHOPF und STEINBERGER 1996).

Die Ergebnisse zur Wirkung gregärer Parasitoide auf die Nahrungsaufnahme desselben Wirts hängen davon ab, welcher Parameter gemessen wird (SCHOPF und STEINBERGER 1996; DOETZER und FOERSTER 1998). Beispielsweise war die Nahrungsaufnahme / Tag des Wirtes *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae), der von *Cotesia flavipes* parasitiert wurde, geringer als von nicht parasitierten Wirten. Dagegen war die gesamte Nahrungsaufnahme von parasitierten und nicht parasitierten Wirten ähnlich, denn die Parasitierung verlängerte die larvale Entwicklungszeit des Wirtes und damit das Zeitintervall der Nahrungsaufnahme (BREWER und KING 1981).

Aufgenommene Nahrung und Relative Consumption Rate (RCR) bei parasitierten *C. partellus*-Larven: Wirte der *B.t.*-Gruppe nahmen weniger Nahrung auf und hatten eine

geringere RCR als in der Kontrolle. Ein ähnliches Ergebnis ergab sich für nicht parasitierte *C. partellus*-Larven (siehe beispielsweise Abbildung 4 bzw. 12). Allerdings war der Unterschied bei parasitierten *C. partellus*-Larven an Tag 5-8 nicht länger signifikant. Die Verringerung des Unterschieds könnte auf dem Schlupf der *Cotesia flavipes* L1-Larven an Tag 3-4 beruhen (KAJITA und DRAKE 1969). Der Einfluss des Parasitoids auf die gefressene Nahrungsmenge des Wirtes kann vom Entwicklungsstadium des Parasitoids abhängen (CLOUTIER und MACKAUER 1979). Möglicherweise wurde die aufgenommene Nahrungsmenge erst von den geschlüpften Parasitoidlarven in beiden Gruppen auf ähnliche Weise negativ beeinflusst.

Schwankungen der aufgenommenen Nahrungsmenge, RCR und AD in Experiment 1-4:

Der gleiche Trend der aufgenommenen Nahrungsmenge und RCR-Werte in *B.t.*- und Kontrollgruppe ist auffällig. Die Experimente 1-4 wurden zwischen Januar und Mai durchgeführt. Da die in den Experimenten verwendeten Maispflanzen im Gewächshaus gezogen wurden, waren sie unterschiedlicher Sonneneinstrahlung, Temperatur und Luftfeuchte ausgesetzt. Stickstoff- und Wassergehalt von Maispflanzen variieren mit der Jahreszeit (SCRIBER und SLANSKY 1981). Beide Parameter haben einen starken Einfluss auf die RCR und andere Verdauungsparameter (z.B. SLANSKY und SCRIBER 1985; SLANSKY 1993). Dieser Befund beeinträchtigt keinesfalls die Gültigkeit der Ergebnisse, denn in jedem Experiment waren die Werte der aufgenommenen Nahrungsmenge bzw. der RCR in der *B.t.*-Gruppe geringer als in der Kontrolle. Das Ziel der vorliegenden Studie bestand nicht in der möglichst exakten Bestimmung der absoluten Höhe beispielsweise von RCR und aufgenommener Nahrung, sondern im Vergleich der Werte verschiedener Parameter zwischen Kontrolle und *B.t.*-Gruppe.

4.6.2 „Life history Parameter“ von *C. flavipes*

4.6.2.1 Vergleich der „life history Parameter“ des Parasitoids in der Kontrollgruppe mit anderen Studien zur Entwicklung von *Cotesia flavipes* in *Chilo partellus*

Tabelle 4: Entwicklung des Parasitoids *Cotesia flavipes* auf *Chilo partellus* in verschiedenen Studien. Werte der vorliegenden Studie sind Medianwerte, der anderen Studien Mittelwerte. Die Parameter wurden teilweise aus den Ergebnissen anderer Studien errechnet.

Studie	MOHYUDDIN 1971		OVERHOLT 2002	Ngi-SONG et al. 1995		Vorliegende Studie
	L5	L6		L4	L5	
Getestete Larvalstadien						
Temp. (°C) ¹	24,5		28	25		27
Erfolgreiche Parasitierung				78,9%	77,5%	77-100%
Entwicklungs- dauer (d) ²			12,1			10
Mortalität ³	variiert mit Luftfeuchte Bei 70% r L: 6,7%			6,2%	8,5 %	2 %
Geschlechts- verhältnis ⁴				72,6%	75,2%	81%
Anzahl adulter Parasitoide / Wirt ⁵	15,7	29,7		37,8	37,6	35
Bemerkung	<i>C. partellus</i> auf Mais- u. Hirsestängel		Larvalstadium unklar	<i>C. partellus</i> auf Kunstoffutter; Eiablage beobachtet		<i>C. partellus</i> auf Maisstängeln; Eiablage beobachtet

¹ Temperatur, bei der *C. partellus* und *C. flavipes* gezüchtet wurden.

² Gemeint ist die Entwicklungsdauer von der Eiablage bis zur Vollendung der Larvalentwicklung (L3-Larven verlassen den Wirt, um sich einzuspinnen).

³ Unter Mortalität wird die Mortalität der Parasitoidlarven (die den Wirt schon verlassen haben) und Puppen verstanden, im Fall der vorliegenden Studie nur die Mortalität der Puppen. Würde die Mortalität der Larven hinzugezählt werden, würden sich die Werte nur geringfügig erhöhen.

⁴ „Geschlechtsverhältnis“ meint den Prozentanteil an Weibchen bezogen auf alle Nachkommen.

⁵ Im Falle der vorliegenden Studie wurde die Zahl der Kokons herangezogen. Da die Mortalität der Kokons gering war (2-7%), wäre die Anzahl der Adulti nur ein wenig geringer.

Das Alter der Wirte betrug in der vorliegenden Studie 14 bis 21 Tage, das Gewicht 40 bis 80 mg. Da die ersten fünf Larvalstadien bei 26 °C durchschnittlich jeweils 4 Tage dauern (OCHIENG-ODERO et al. 1994), handelte es sich wahrscheinlich um die Larvalstadien 4 und 5, mitunter auch um 6.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie stimmen gut überein (Tabelle 4) mit den Ergebnissen von NGI-SONG et al. (1995). Offenbar spielt die Art der Nahrung (natürliches Futter oder Kunstfutter) keine große Rolle für die Entwicklung von *C. flavipes*. Die Entwicklungszeit ist etwas kürzer als von OVERHOLT (2002) festgestellt. Möglicherweise gilt der Wert „12,1 Tage“ für ein jüngeres Larvalstadium des Wirts: Die Entwicklungszeit nimmt mit dem Alter des Wirtes ab (NGI-SONG et al. 1995). Die Ergebnisse von MOHYUDDIN (1971) weichen in der Anzahl der Parasitoide pro Wirt ab: Letztere sind deutlich geringer als in den anderen Studien. Dies könnte in einer erhöhten larvalen oder pupalen Mortalität des Parasitoids begründet sein. Ferner sinkt die Anzahl der gelegten Eier mit zunehmender Parasitoidendichte (KAJITA und DRAKE 1971) – auch hierin könnte eine Erklärung für die Abweichung liegen.

4.6.2.2 Unterschiedliche wirtsvermittelte Effekte auf Parasitoide in verschiedenen tritrophischen Systemen

Nahrungsaufnahme und –verwertung von *Chilo partellus* wurden durch die Aufnahme von *B.t.*-Pflanzenmaterial beeinträchtigt. Es war deswegen wahrscheinlich, dass *B.t.*-Pflanzenmaterial auch eine wirtsvermittelte Wirkung auf *Cotesia flavipes* haben würde. Untersuchungen an tritrophischen Systemen mit *B.t.*-Pflanzen, Herbivoren und Parasitoiden kamen zu unterschiedlichen Ergebnissen (Tabelle 5). Adulte *Aphidius nigripes* hatten ein gegenüber der Kontrolle geringeres Gewicht, wenn der Parasitoid sich in Wirten entwickelt hatte, die mit *B.t.*-Pflanzenmaterial gefüttert worden waren. Die Entwicklungsdauer des Parasitoids war jedoch gegenüber der Kontrolle unverändert (ASHOURI et al. 2001). Dagegen fanden BERNAL et al. (2002b) und BAUR und BOETHEL (2003) eine gegenüber der Kontrolle längere Entwicklungszeit des Parasitoids *Parallorhogas pyralophagus* und *Cotesia marginiventris* (beide Hymenoptera: Braconidae), jedoch keine Unterschiede in der Größe der adulten Parasitoiden (Tabelle 5). Bei anderen Parasitoiden (*Aphidius nigripes*; *Copidosoma floridanum*: Hymenoptera, Encyrtidae) ergaben sich gegenüber der Kontrolle keine Unterschiede in der Entwicklungszeit (Tabelle 5). Die Lebensdauer adulter Parasitoide war in zwei Fällen (*Parallorhogas pyralophagus*; *Cotesia marginiventris*) gegenüber der Kontrolle herabgesetzt (BERNAL et al. 2002b; BAUR und BOETHEL 2003). In keiner Publikation

wurde eine Änderung des Geschlechterverhältnisses beobachtet (Tabelle 5). In den Studien wurden die Herbivoren meist dem *B.t.*-Pflanzenmaterial ausgesetzt, bevor sie parasitiert wurden. Zum Zeitpunkt der Eiablage waren die *Eureuma loftini*-Larven der *B.t.*-Gruppe

Tabelle 5: Wirtsvermittelte Wirkungen von *B.t.*-Pflanzen auf Parasitoide in verschiedenen tritrophischen Systemen. „+ / - / 0“ bedeutet „Erhöhung / Verringerung / keine Veränderung“ des betreffenden Parameters gegenüber der Kontrolle.

Studie	SCHULER et al. 2001	ASHOURI et al. 2001b	BERNAL et al. 2002b	BAUR und BOETHEL 2003		Vorliegende Studie
Pflanze	<i>B.t.</i> -Raps	<i>B.t.</i> -Kartoffel	<i>B.t.</i> -Mais	<i>B.t.</i> -Baumwolle		<i>B.t.</i> -Mais
Toxin	Cry1Ac	CryIIa	Cry9c	Cry1A(c)		Cry1Ab
Herbivor	<i>Myzus persicae</i> (Homoptera: Aphididae)	<i>Macrosiphum euphorbiae</i> (Homoptera: Aphididae)	<i>Eureuma loftini</i> (Lepidoptera: Pyralidae)	<i>Pseudoplusia includens</i> (Lepidoptera: Noctuidae)		<i>Chilo partellus</i> (Lep.: Crambidae)
Wirkung ¹	keine	negativ	negativ	negativ		negativ
Exposition ²	Blattlaus auf intakter Pflanze	Blattlaus auf intakter Pflanze	zuerst ohne Futter, dann Stängelstück	Blätter	Blätter	siehe Abschnitt 2.2.3
Parasitoid	<i>Diaeretiella rapae</i> (Hymenopt.: Braconidae)	<i>Aphidius nigripes</i> (Hymenopt.: Braconidae)	<i>Parallorhogas pyralophagus</i> (Hymenoptera: Braconidae)	<i>Cotesia marginiventris</i> (Hym.: Bracon.)	<i>Copidosoma floridanum</i> (Hym.: Encyrtidae)	<i>Cotesia flavipes</i> (Hym.: Braconidae)
Lebensw. ³	Koinobionter solitärer larvaler Endoparas.	Koinobionter solitärer larvaler Endoparas.	Idiobionter gregärer larvaler Ektoparas.	Koinob. solitärer larvaler Endop.	Koinob. Ei-Pupal-Endop. Polyembryonie	Koinobionter gregärer larvaler Endoparas.
Exposition	Herbivor wird zuerst transgenem Material ausgesetzt, dann erfolgt die Parasitierung				zuerst Parasitierung	zuerst Parasitierung
Erfolgr. Parasitier. ⁴	0			0		—
Mortalität		+	+			0
Entw.-zeit		0	+	+	0	0
Anzahl ⁵			—		—? ⁶	0
Gewicht ein Kokon						—
Adulti ⁷		—	0	0		—
Geschl. ⁸	0	0	0	0		0
Lebensd. ⁹		0	— ¹⁰	—	0	
Anzahl Nachk. ¹¹		0	0	—		

¹ Wirkung des transgenen Pflanzenmaterials auf den nicht parasitierten Herbivoren

² Art der Verfütterung des transgenen Pflanzenmaterials an Herbivoren

³ Lebensweise des Parasitoids

⁴ Erfolgreiche Parasitierung: Anteil der Wirte, in denen die Parasitoiden ihre Entwicklung vollenden

⁵ Anzahl an Nachkommen pro Wirt (meist als Larven, Puppen oder Adulte gemessen) bei gregären Parasitoiden

⁶ in Experiment 2 nicht reproduzierbar ⁷ Trockengewicht oder Tibienlänge eines adulten Parasitoids

⁸ Anzahl Weibchen / alle Nachkommen ⁹ Lebensdauer eines adulten Parasitoids; ¹⁰ Gilt nur für Weibchen; ¹¹ Anzahl an Nachkommen oder Eiern eines Parasitoids, der sich in mit *B.t.*-Pflanzenmaterial gefütterten Wirten entwickelt hatte

(Lepidoptera: Pyralidae) deswegen kleiner als in der Kontrolle (BERNAL et al. 2002b). Möglicherweise wurden sie aus diesem Grund vom Ektoparasitoid *Parallorhogas pyralophagus* mit weniger Eiern belegt (LE MASURIER 1987). Die in dieser Studie festgestellte geringere Anzahl an Parasitoiden-Nachkommen in der *B.t.*-Gruppe ist daher unter Umständen auf ein geändertes Eiablageverhalten des Parasitoids zurückzuführen.

Da die Art der *B.t.*-Wirkung auf Parasitoide offenbar vom untersuchten tritrophischen System abhängt, wurden die life history-Parameter von *Cotesia flavipes* gemessen, um Genaueres über die wirtsvermittelte *B.t.*-Wirkung auf *C. flavipes* zu erfahren.

4.6.2.3 Gewicht erfolgreich parasitierter Wirte

Nach Aufnahme von *B.t.*-Toxin sind potentielle Wirte möglicherweise kleiner als die entsprechenden Kontrolltiere (siehe dazu Abbildung 4A und 14C). In diesem Fall könnte das Eiablage-Verhalten des Parasitoids in beiden Gruppen unterschiedlich ausfallen. So sind Wirtsgröße und Anzahl an Parasitoid-Nachkommen in der Gattung *Apanteles* (Hymenoptera: Braconidae) positiv miteinander korreliert (LE MASURIER 1987). Darüber hinaus hängt das primäre Geschlechterverhältnis bei idiobionten und mitunter auch bei koinobionten Parasitoiden ebenfalls von der Größe des Wirts ab (TANAKA et al. 1992; GODFRAY 1994; QUICKE 1997). Daher wurden die Wirte in der vorliegenden Studie zuerst parasitiert und dann in *B.t.*- und Kontrollgruppe aufgeteilt. Da das Anfangsgewicht erfolgreich parasitierter Wirte in beiden Gruppen ähnlich war, konnten wirtsvermittelte *B.t.*-Effekte auf die Eiablage des Parasitoids ausgeschlossen werden. Auch geschlechtsspezifische Mortalität der Parasitoidlarven im Wirt trat praktisch nicht auf, denn das sekundäre (Abb. 36 C) und wahrscheinlich auch das primäre Geschlechterverhältnis war in beiden Gruppen ähnlich. BERNAL et al. (2002b) und BRINK (2003) fanden geschlechtsspezifische *B.t.*-Wirkungen auf primäre und sekundäre Parasitoide.

4.6.2.4 Mortalität, Verpuppung und erfolgreiche Parasitierung der Wirte

In *B.t.*-Gruppe und Kontrolle war die Verpuppungsrate des Wirtes niedrig. Dieses Ergebnis verweist wahrscheinlich auf eine in den meisten Fällen erfolgreiche Eiablage des Parasitoids in den Wirt. Larvalparasitoide verhindern die Verpuppung ihres Wirtes (BECKAGE 1997). Demgegenüber konnten nur wenige Parasitoidlarven ihre Entwicklung im Wirt vollenden, wenn dieser *B.t.*-Mais-Material aufgenommen hatte (23%; Kontrolle: 83%). Dieser Befund ist auf eine erhöhte Mortalität der Wirte vor Schlupf der Parasitoidlarven in der *B.t.*-Gruppe zurückzuführen. Die in der *B.t.*-Gruppe beobachtete erhöhte Mortalität des Wirts ist wahrscheinlich eine Folge der Beeinträchtigung durch das *B.t.*-Toxin und die sich entwickelnden Parasitoidlarven. Ein gegenüber der Kontrolle geringerer Anteil an erfolgreich parasitierten Wirten, die mikrobielle *B.t.*-Präparate aufnahmen, wurde in verschiedenen

Studien beobachtet (TEMERAK 1980; SALAMA et al. 1982; ATWOOD et al. 1997; BLUMBERG et al. 1997).

4.6.2.5 Gewicht von Spinnseide, Puppen, Kokons und adulten Parasitoiden

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass *B.t.*-Mais über den Wirt *C. partellus* auf Larval-, Pupal- und Imaginalstadium von *C. flavipes* wirkte (PRÜTZ und DETTNER a *im Druck*; PRÜTZ und DETTNER b *im Druck*). Die *C. flavipes*-Larven, die aus „*B.t.*-Wirten“ herauspräpariert wurden, waren kürzer als in der Kontrolle (Abbildung 26 A). Möglicherweise hatten sie entsprechend kleinere Labialdrüsen als die „Kontroll-Parasitoidlarven“. Folglich war die Kokonspinnseide von Parasitoidlarven der *B.t.*-Gruppe leichter als in der Kontrolle. Die Kokonhülle von *Cotesia glomerata* (Hymenoptera: Braconidae) und *Acrolepiopsis assectella* (Lepidoptera: Acrolepiidae) fungiert als Verdunstungsschutz und verringert daher die Mortalität der Parasitoide bzw. erhöht die Eiproduktion gegenüber Puppen ohne Kokonhülle (NOWBAHARI und THIBOUT 1990; TAGAWA 1996). In der vorliegenden Studie wurde jedoch keine gegenüber der Kontrolle erhöhte Mortalität der Parasitoiden festgestellt. Die Lebensdauer bzw. Eiproduktion der *C. flavipes*-Weibchen wurde nicht gemessen.

Das Puppengewicht und das Kokongewicht von *C. flavipes* waren geringer als in der Kontrolle. Ein geringeres Kokongewicht bzw. eine geringere Kokonlänge von Parasitoiden wurde in mehreren Studien gefunden, in denen dem Wirt Futter angeboten wurde, das mikrobielle *B.t.*-Präparate enthielt (EL-MAGRABY et al. 1988; CHENOT und RAFFA 1998; ERB et al. 2001).

Das Trockengewicht adulter Parasitoide der *B.t.*-Gruppe war gegenüber der Kontrolle reduziert. VARLEZ et al. (1993) maßen eine gegenüber der Kontrolle verringerte Kopfkapselbreite von adulten Parasitoiden, deren Wirte ein mikrobielles *B.t.*-Präparat aufgenommen hatten. ASHOURI et al. (2001) fanden ebenfalls ein geringeres Gewicht von Parasitoiden, deren Wirte an *B.t.*-Kartoffelpflanzen gefressen hatten (siehe Tabelle 5). Da größere Parasitoidweibchen oft mehr Eier produzieren, länger leben und effizienter nach Wirten suchen als kleinere (GODFRAY 1994; VISSER 1994), hat die Größe des adulten Parasitoids einen Einfluss auf dessen Fitness. Größere *C. flavipes*-Weibchen enthielten mehr Eier als kleinere (SÉTAMOU et al. 2002).

4.6.3 Korrelationen zwischen vom Wirt aufgenommener Nahrungsmenge und „life history Parametern“ von *Cotesia flavipes*

Nur in der *B.t.*-Gruppe gab es eine signifikant negative Korrelation zwischen der Menge an Nahrung, die vom Wirt aufgenommen wurde, und der Anzahl an Parasitoiden pro Wirt bzw. dem Gesamtgewicht aller Parasitoiden pro Wirt. Es ist anzunehmen, dass mit der Menge an

aufgenommener Nahrung auch die δ -Endotoxinmenge im Wirt stieg. Wahrscheinlich verringerten höhere Toxinmengen die Anzahl an Parasitoiden pro Wirt, indem die Mortalität der Parasitoidlarven oder -eier erhöht wurde. Der Anteil an Eiern, aus denen Parasitoidlarven (*Bracon brevicornis*; Hymenoptera: Braconidae) schlüpften und der Anteil an Parasitoidlarven, der sich verpuppte, sank mit steigender Konzentration des mikrobiellen *B.t.*-Präparats „Dipel“ in der Nahrung des Wirts *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae; siehe SALAMA et al. 1991). In der Kontrolle der vorliegenden Studie waren Nahrungsaufnahme des Wirts und Anzahl an Parasitoiden nicht signifikant miteinander korreliert. Die aufgenommene Nahrungsmenge des Wirts *Manduca sexta* war ebenfalls nicht signifikant korreliert mit der Anzahl des Parasitoiden *Cotesia congregata* pro Wirt (Hymenoptera: Braconidae; siehe ALLEYNE und BECKAGE 1997). SCHOPF und STEINBERGER (1996) und NAKAMATSU et al. (2001) fanden hingegen eine signifikant positive Korrelation zwischen der aufgenommenen Nahrungsmenge des Wirts und der Anzahl an Parasitoiden pro Wirt.

In der vorliegenden Arbeit war die Nahrungsaufnahme des Wirts nur in der *B.t.*-Gruppe positiv mit der Entwicklungsdauer des Parasitoiden korreliert. SALAMA et al. (1991) beobachteten eine Zunahme der Entwicklungszeit des Parasitoids *Bracon brevicornis* mit steigender Konzentration des mikrobiellen *B.t.*-Präparats „Dipel“ in der Nahrung des Wirts *Plodia interpunctella*.

4.7 Direkte oder indirekte Wirkung des δ -Endotoxins auf *Cotesia flavipes*?

Das δ -Endotoxin könnte auf indirektem oder auf direktem Weg auf *Cotesia flavipes* wirken.

Indirekte Wirkung: Das δ -Endotoxin beeinflusst den Stoffwechsel des Wirtes. Veränderungen im Wirts-Stoffwechsel könnten sich auf die Entwicklung des Parasitoids auswirken.

Verringerung der Wirtsbiomasse: Das δ -Endotoxin kann das Wachstum des Wirts verringern (siehe Abschnitt 4.3.3 und 4.3.8). Dadurch steht den Parasitoidlarven, die sich in der Hämolymphe entwickeln, weniger Nahrung zur Verfügung. Junge Larvalstadien von Parasitoiden nehmen Hämolymphe auf (QUICKE 1997). Im Mitteldarm älterer Larvalstadien von *Cotesia kariyai* (Hymenoptera: Braconidae) wurden Bruchstücke des Fettkörpers seines Wirts (*Pseudaletia separata*; Lepidoptera: Noctuidae) gefunden (NAKAMATSU et al. 2002). Steht den Parasitoidlarven zu wenig Wirtsbiomasse als Nahrung zur Verfügung, so könnte eine höhere Sterblichkeit, eine längere Entwicklungsdauer oder ein geringeres Gewicht des Parasitoids die Folge sein. Eindeutige Belege für eine derartige wirtsvermittelte *B.t.*-Wirkung

waren in der Literatur nicht zu finden. In den meisten Studien wurde nicht zwischen wirtsvermittelter *B.t.*-Wirkung auf die Eiablage des Parasitoids und auf die sich im Wirt entwickelnden Parasitoidlarven unterschieden. In der vorliegenden Arbeit wurden *Chilo partellus*-Wirtslarven aufpräpariert und die Länge der in ihnen gefundenen *Cotesia flavipes*-Larven gemessen (Abbildung 26 A). Es wurden nur Parasitoidlarven ausgewertet, deren Wirte in *B.t.*- und Kontrollgruppe ein ähnliches Gewicht aufwiesen. Dadurch konnte unterschiedliche Wirtsbiomasse als indirekte *B.t.*-Wirkung auf den Parasitoiden ausgeschlossen werden. Dennoch waren die Parasitoidlarven der *B.t.*-Gruppe kürzer als in der Kontrolle. Auch ERB et al. (2001) fanden bei gleicher Wirtsbiomasse und unter Ausschluss von wirtsvermittelten *B.t.*-Effekten auf die Eiablage des Parasitoiden *Compsilura concinnata* (Diptera: Tachinidae) ein gegenüber der Kontrolle verringertes Gewicht der Parasitoidpuppen.

Änderung des Proteingehalts der Hämolymphe: Das δ -Endotoxin hemmt die Absorption von Aminosäuren im Mitteldarm (GRINGORTEN 2001). Der Gesamtproteingehalt der Hämolymphe von *Leptinotarsa decemlineata*-Weibchen (Coleoptera: Chrysomelidae), die sich von *B.t.*-Kartoffelpflanzen ernährten, betrug nur etwa die Hälfte des Proteingehalts in der Kontrolle. Der Gehalt an Vitellogenin war ebenfalls gegenüber der Kontrolle verringert (ARPAIA et al. 2000). Parasitoidlarven verringern den Proteingehalt der Hämolymphe des Wirts und erhöhen den Gehalt an Aminosäuren (NAKAMATSU et al. 2001). Hämolympheproteine des Wirts wurden von *Habrobracon hebetor*-Larven (Hymenoptera: Braconidae) aufgenommen und im Mitteldarm der Parasitoidlarven verdaut (BAKER und FABRICK 2000). *Cotesia kariyai*-Larven nahmen wahrscheinlich auch Hämolympheproteine des Wirts auf (NAKAMATSU et al. 2001). Somit ist denkbar, dass eine durch das δ -Endotoxin bedingte Verringerung des Proteingehalts der Hämolymphe des Wirts zu einer verminderten Proteinaufnahme und zu Wachstumsstörungen des Parasitoids führen könnte.

Änderung des Trehalosegehalts der Hämolymphe: Die Absorption von Glukose wird nach Aufnahme von δ -Endotoxin zunächst beschleunigt und dann gehemmt (FAST und ANGUS 1965; FAST und DONAGHUE 1971). Glukose wird im Fettkörper in Trehalose umgewandelt (PETERS 2003). *Cotesia kariyai*-Larven nehmen Trehalose auf (NAKAMATSU et al. 2001). Möglicherweise führt eine Aufnahme des δ -Endotoxins durch den Wirt zu einer Verringerung des Trehalose-Titers in der Hämolymphe und zu einer Beeinträchtigung der Ernährung der Parasitoidlarven.

Änderung des pH-Werts der Hämolymphe: Die Aufnahme des δ -Endotoxins kann den Hämolymphe-pH des Wirts erhöhen (GRINGORTEN 2001). Der pH des Mitteldarms von *Habrobracon hebetor*-Larven (Hymenoptera: Braconidae) ist mit 6,8 nur wenig höher als der pH-Wert der Hämolymphe seines Wirts (6,4-6,6). Das Optimum der Proteinasen im Mitteldarm von *Habrobracon hebetor*-Larven liegt dagegen bei 8-11 (BAKER und FABRICK

2000). Sofern der pH des Mitteldarms einer Parasitoidlarve vom Hämolymphe-pH des Wirts abhängt, könnte die Aufnahme des δ -Endotoxins durch den Wirt zu einer Erhöhung der Enzymaktivität im Darm der Parasitoidlarve führen.

Direkte Wirkung: Das δ -Endotoxin könnte den Parasitoid direkt beeinträchtigen, beispielsweise indem es an Rezeptoren des Mitteldarmepithels des Parasitoids bindet.

Bisher wurden Experimente durchgeführt, in denen adulte Parasitoide mit *B.t.*-haltiger Nahrung gefüttert wurden. Dabei wurde untersucht, wie mit der Nahrung aufgenommene mikrobielle *B.t.*-Präparate die Lebensdauer und die Reproduktion adulter Parasitoide beeinflussen.

HAMED (1979) beobachtete, dass sich das Mitteldarmepithel von adulten *Diadegma armillata*-Individuen (Hymenoptera: Ichneumonidae) nach Aufnahme von *B.t.* von der Basallamina ablöste. Diese histopathologische Veränderung ist bei Lepidopteren-Larven beschrieben worden, gegen die das δ -Endotoxin wirksam ist (z.B. HEIMPEL und ANGUS 1959; KRIEG 1986; BOUCIAS und PENDLAND 1998). In mehreren Studien wurde eine gegenüber der Kontrolle verringerte Lebensdauer und eine geringere Menge an Eiern festgestellt (TEMERAK 1980; SALAMA et al. 1991; SALAMA et al. 1996; siehe auch GLARE und O'CALLAGHAN 2000). Weitere Studien ergaben keine Effekte (VARLEZ et al. 1993; CHILCUTT und TABASHNIK 1999; siehe auch GLARE und O'CALLAGHAN 2000). In einer Studie führte die Aufnahme des mikrobiellen Präparats Dipel zu einer Erhöhung der Lebensdauer des Parasitoids (BLUMBERG 1997). Untersuchungen über die direkte Wirkung von *B.t.* auf Parasitoidlarven stehen offenbar noch aus.

Es ist denkbar, dass Parasitoidlarven das δ -Endotoxin mit anderen Hämolympheproteinen aufnehmen (BAKER und FABRICK 2000; NAKAMATSU et al. 2001). Dazu müsste das Protein in die Hämolymphe des Wirts gelangen. Nach Aufnahme des δ -Endotoxins lösen sich Zellen vom Mitteldarmepithel des Wirts ab. Schließlich bilden sich bei 500facher Vergrößerung unter dem Lichtmikroskop gut sichtbare „Löcher“ im Mitteldarmepithel (KRIEG 1986; BOUCIAS und PENDLAND 1998). Bei L1-Larven der Parasitoids *Cotesia kariyai* und *Aphidius ervi* (beide Hymenoptera: Braconidae) ist noch kein Darm vorhanden bzw. der Mitteldarm noch geschlossen (DE EGUILEOR et al. 2001; NAKAMATSU et al. 2002). Deswegen könnte das δ -Endotoxin erst ab dem 2. Larvalstadium in den Mitteldarm des Parasitoids gelangen. Notwendige Bedingung für die Toxinwirkung ist die Bindung an einen membrangebunden Rezeptor. Bisher wurden Aminopeptidase N und ein cadherinähnliches Glykoprotein als Rezeptoren identifiziert (GRINGORTEN 2001). Im Mitteldarm von *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) wurde eine membrangebundene Aminopeptidase gefunden (BAKER und FABRICK 2000). Eine direkte Wirkung des δ -Endotoxins auf Parasitoidlarven kann also nicht ausgeschlossen werden.

Bisher wurde δ -Endotoxin über ELISA in verschiedenen phytophagen Insekten nachgewiesen, und zwar in Lepidopterenlarven, Homopteren, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) und in *Athalia rosae* (Hymenoptera: Tenthredinidae) (HEAD et al. 2001; RAPS et al. 2001; DUTTON et al. 2002; HOWALD et al. 2003). Dabei wurden immer ganze Tiere untersucht. Es ist deswegen unklar, ob das δ -Endotoxin aus dem Mitteldarm tatsächlich in die Hämolymphe gelangt.

Anhand der im Rahmen dieser Studie durchgeführten Biotests kann nicht zwischen direkter und indirekter Toxinwirkung auf die *Cotesia flavipes*-Larven unterschieden werden.

4.8 Von der Wirkung mikrobieller *B.t.*-Präparate kann nicht auf die Wirkung transgener *B.t.*-Pflanzen geschlossen werden

Es fällt auf, dass viele der in dieser Studie nachgewiesenen Wirkungen von *B.t.*-Mais auf *Chilo partellus* und *Cotesia flavipes* schon in anderen Studien über die Wirkung von mikrobiellen *B.t.*-Präparaten auf die zweite und dritte trophische Ebene beschrieben wurden. Hieran wird deutlich, dass mögliche Wirkungen auf Nichtzielorganismen kein Spezifikum transgener *B.t.*-Pflanzen darstellen, sondern schon seit langem für mikrobielle *B.t.*-Präparate bekannt sind. Mikrobielle *B.t.*-Präparate werden seit über 40 Jahren kommerziell eingesetzt und machen 90% aller weltweit verkauften Biopestizide aus (GLARE und O'CALLAGHAN 2000). Es ist daher erstaunlich, dass mikrobielle *B.t.*-Insektizide nie das hohe Maß an öffentlicher Aufmerksamkeit erhalten haben, das transgenen *B.t.*-Pflanzen zuteil geworden ist.

Auch wenn es schon viele Studien zur wirtsvermittelten Wirkung mikrobieller *B.t.*-Präparate auf Parasitoide gibt (Beispiele finden sich in GLARE und O'CALLAGHAN 2000), sind entsprechende Studien in bezug auf transgene *B.t.*-Pflanzen dennoch notwendig, denn das δ -Endotoxin liegt in mikrobiellen Präparaten in anderer Form vor als in transgenen Pflanzen. Ferner können nach Einfügen des bakteriellen Transgens ins pflanzliche Genom pleiotrope Effekte auftreten, d.h. das eingefügte *B.t.*-Gen könnte verschiedene Wirkungen haben.

Mikrobielle *B.t.*-Präparate enthalten normalerweise eine Mischung aus Sporen, δ -Endotoxin Kristallen, vegetativen *B.t.*-Zellen, Zelltrümmern und Komponenten zur Erhöhung der Persistenz, Benetzbarkeit o.ä. (GLARE und O'CALLAGHAN 2000). Transgener *B.t.*-Mais enthält dagegen das aktive und verkürzte δ -Endotoxin (KOZIEL et al. 1993). Cry1- δ -Endotoxin Kristalle (siehe YAMAMOTO 2001 zur Nomenklatur) werden im alkalischen Milieu des Mitteldarms von Lepidopterenlarven aufgelöst. Dadurch wird das inaktive Protoxin mit einem Molekulargewicht von 130-140 kDa freigesetzt. Serinproteasen aktivieren es über limitierte

Proteolyse. Dabei entsteht ein Toxin von 60-70 kDa, das an membrangebundene Rezeptoren bindet (OPPERT 1999; GRINGORTEN 2001; YAMAMOTO 2001). Da bei transgenen *B.t.*-Pflanzen Auflösung des Kristalls und proteolytische Aktivierung des Protoxins nicht mehr nötig sind, kann von der Wirkung mikrobieller *B.t.*-Präparate auf Nichtzielorganismen nicht auf die Wirkung transgener *B.t.*-Pflanzen geschlossen werden.

SAXENA und STOTZKY (2001b) fanden bei verschiedenen transgenen *B.t.*-Mais-Zuchtlinien einen gegenüber Kontrollpflanzen signifikant erhöhten Ligningehalt im Stängel. Ein höherer Ligningehalt erhöht die Härte von Pflanzenmaterial und verringert dessen Verdaulichkeit (SWAIN 1979). Verschiedene Verdauungsparameter, beispielsweise die Approximate Digestibility (AD), könnten dadurch verändert werden. In der vorliegenden Studie wurde jedoch ausschließlich mit *B.t.*-Maisblättern und Kontrollstängeln gearbeitet. Ferner war die Menge an Maisblatt pro Nahrung mit maximal 14 µg *B.t.*-Mais / mg Nahrung gering. Selbst wenn *B.t.*-Maisblätter einen höheren Ligningehalt hätten, würde dies wahrscheinlich in den durchgeführten Biotests kaum eine Rolle spielen.

4.9 Weiterer Forschungsbedarf zur Wirkung von *B.t.*-Mais auf Parasitoide

Biochemische Untersuchungen des δ -Endotoxin-Gehalts in verschiedenen Kompartimenten des Herbivoren, in den *C. flavipes*-Kokons, im Meconium von *C. flavipes* und in adulten Parasitoiden können dazu beitragen, zwischen direkter und indirekter Toxin-Wirkung auf die Parasitoidlarven zu unterscheiden. Wenn das Toxin im Mitteldarm des Herbivoren gefunden würde, jedoch in Hämolymphe, im Fettkörper und in *C. flavipes* nicht nachgewiesen werden könnte, wäre dies ein Hinweis auf eine indirekte Wirkung auf *C. flavipes*. Mithilfe von SDS-PAGE wurden erste Versuche unternommen, Proteine des Mitteldarms von *Chilo partellus* aufzutrennen. Allerdings machte ein „Schmierstreifen“ einzelne Proteinbanden nahezu unsichtbar. Es ist zu bezweifeln, dass unter diesen Bedingungen ein quantitativer Nachweis des δ -Endotoxin-Gehalts des Mitteldarms über Western Blot gelingen könnte. MEISE (1997) hatte bei der Auftrennung des Mitteldarminhalts von *Autographa gamma* (Lepidoptera: Noctuidae) ähnliche Probleme. Die Aufbereitung des Mitteldarminhalts wurde mit dem PhastSystem™ nach den Anweisungen des Unternehmens Pharmacia LKB Biotechnology (PhastSystem™ Separation Technique File No 110) durchgeführt und muss noch optimiert werden. Ein anderes insektizides Protein, das Schneeglöckchen-Lektin, wurde in tritrophischen Experimenten mit Lektin-haltigem Kunstfutter, Blattläusen und Parasitoiden mittels Western Blot in der Blattlaus, in den Parasitoid-Puppen, im Meconium des Parasitoids

und im adulten Parasitoid nachgewiesen (COUTY et al. 2001a; COUTY et al. 2001b; COUTY et al. 2001c).

Ein anderer Weg, zwischen direkter und indirekter δ -Endotoxin-Wirkung auf die Parasitoidlarven zu unterscheiden, wäre die Injektion von aktiviertem δ -Endotoxin in die Hämolymphe von parasitierten *Chilo partellus*-Larven. ANGUS (1956) zeigte, dass eine Injektion des *B.t. sotto*-Protoxins in die Hämolymphe von *Bombyx mori* Larven (Lepidoptera: Bombycidae) zu keiner Erhöhung der Mortalität führte. Sollten nach Injektion des aktiven δ -Endotoxins ebenfalls keine Beeinträchtigungen des Wirts feststellbar sein, die life history-Parameter von *Cotesia flavipes* jedoch beeinträchtigt werden, wäre dies ein Hinweis auf eine direkte Toxin-Wirkung auf die Parasitoidlarven.

BRINK (2003) gelang es, wirtsvermittelte *B.t.*-Effekte auf die vierte trophische Ebene nachzuweisen. Er untersuchte das System „*B.t.*-Mais – *Chilo partellus* – *Cotesia flavipes* – *Tetrastichus howardi*“. *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae) ist ein fakultativer Hyperparasitoid, der Puppen verschiedener Vertreter der Ordnungen Diptera, Lepidoptera, Hymenoptera und Coleoptera parasitiert (KFIR et al. 1993; MOORE und KFIR 1995). BRINK (2003) bot *T. howardi*-Weibchen *C. flavipes*-Kokons zur Parasitierung an und stellte unter anderem fest, dass aus *Cotesia flavipes*-Kokons der *B.t.*-Gruppe signifikant weniger *T. howardi*-Individuen schlüpften als in der Kontrolle. Ferner waren *T. howardi*-Weibchen signifikant leichter als in der Kontrolle. Es wäre interessant zu erfahren, ob sich das *B.t.*- δ -Endotoxin noch auf der vierten trophischen Ebene nachweisen lässt.

T. howardi kann auch als primärer pupaler Parasitoid von *C. partellus* eingesetzt werden. *Chilo partellus*-Larven nehmen vor der Verpuppung noch Nahrung auf, die nicht mehr ausgeschieden wird (NADINE ECKERT, persönliche Mitteilung). Daher stellt sich die Frage, ob das *B.t.*-Toxin in der *C. partellus*-Puppe noch nachweisbar ist und von den sich in der *C. partellus*-Puppe entwickelnden *T. howardi*-Larven aufgenommen werden kann.

4.10 Freilandrelevanz der vorliegenden Studie

Die Parasitoide hatten in der vorliegenden Studie nicht die Möglichkeit, zwischen „*B.t.*-Mais-Wirten“ und „Kontroll-Mais-Wirten“ zu wählen – das experimentelle Design setzt also den „schlimmsten Fall“ voraus, nämlich das Aufeinandertreffen eines Wirts, der *B.t.*-Mais aufnimmt, und seines Larvalparasitoiden. Parasitoidweibchen sind unter Umständen in der Lage, zwischen *B.t.*-Wirten und Kontroll-Wirten zu unterscheiden (WESELOH und ANDREADIS 1982; ERB et al. 2001; SCHOENMAKER et al. 2001). Die Wahrscheinlichkeit des Zusammentreffens zwischen *C. flavipes* und *C. partellus*-Larven auf *B.t.*-Mais würde noch dadurch verringert werden, dass *C. flavipes*-Weibchen häufiger diejenigen Pflanzen aufsuchen, auf denen sich mehrere Wirte aufhalten (NGI-SONG et al. 1996). Da die Mortalität

potentieller Wirte auf *B.t.*-Pflanzen sicherlich höher ist als auf Kontrollpflanzen, würden auf einer *B.t.*-Maispflanze wahrscheinlich immer weniger Wirte zu finden sein als auf Kontrollpflanzen. Ferner bevorzugten *Cotesia plutellae*-Weibchen (Hymenoptera: Braconidae) Pflanzen mit großem Fraßschaden gegenüber Pflanzen mit geringerem Fraßschaden (SCHULER et al. 1999; SCHULER et al. 2003). Da *B.t.* die Nahrungsaufnahme von Herbivoren verringert (siehe Abschnitt 4.3.8), würden von Parasitoid-Weibchen möglicherweise eher Kontrollpflanzen angefliegen werden. Sogenannte „worst case studies“ unter Laborbedingungen sind jedoch der erste Schritt bei der Bewertung möglicher Risiken von Insektiziden oder insektenresistenten transgenen Pflanzen (DUTTON et al. 2003).

Mikrobielle *B.t.*-Präparate haben sich als wirksam gegen *C. partellus*-Larven erwiesen (KHANNA et al. 1995; BROWNBURGE 2001). In der vorliegenden Studie wurde mit verdünnten *B.t.*-Mais-Suspensionen gearbeitet. Auf intakten Event 176 *B.t.*-Mais Pflanzen würden *C. partellus*-Larven wahrscheinlich meist sterben, bevor sie von *Cotesia flavipes* parasitiert werden könnten. Die Mortalität von *C. partellus* kann jedoch mit der *B.t.*-Mais-Zuchtlinie schwanken. So war die Wirkung verschiedener *B.t.*-Mais-Zuchtlinien des Unternehmens Monsanto auf *C. partellus* unterschiedlich (VAN RENSBURG 1999). In einem Gewächshausexperiment in den Jahren 1994/95 überlebten von 10-12 frischgeschlüpften L1-Larven pro Pflanze je nach Zuchtlinie 0,3 bis 0,8 Larven einen Zeitraum von 9 Tagen. In den Jahren 1995/96 überlebten je nach Zuchtlinie und Sorte 0 bis 7 Larven. *C. partellus* ist offenbar gegenüber MON801 am wenigsten empfindlich (4,1 bzw. 7,0 überlebende Larven je nach Sorte). Würde ausschließlich MON801 in Afrika angebaut werden, so würden wahrscheinlich einige Larven nur subletal vergiftet werden, und es bestünde die Möglichkeit, dass diese so lange überlebten, bis sie das für *C. flavipes* geeignete Larvalalter (ab L3, also ca. 8 Tage bei 26 °C) erreichten und parasitiert werden könnten.

Da aber *C. partellus* Zielinsekt ist, ist es unwahrscheinlich, dass gerade MON801 großflächig angebaut wird. So wurde 1999 in Südafrika auf 50.000 ha MON810 angebaut (VAN RENSBURG 2001), der wesentlich wirksamer gegen *C. partellus* ist als MON801. Der Versuch, *Cotesia flavipes* in Südafrika einzuführen, blieb bisher erfolglos (OCHIENG-ODERO et al. 1994), daher ist die Möglichkeit, dass *C. partellus* in Südafrika von *C. flavipes* parasitiert wird, praktisch nicht gegeben. In Kenia sind sowohl *C. partellus* als auch *C. flavipes* etabliert, und *B.t.*-Mais soll dort den lokalen agro-ökologischen Bedingungen angepasst werden (MWANGI und ELY 2001). Da die „Syngenta-Stiftung für nachhaltige Entwicklung“ an diesem Projekt beteiligt ist, werden wahrscheinlich von Syngenta entwickelte *B.t.*-Maissorten dabei eingesetzt werden. Auf der Syngenta-Homepage wird nicht näher darauf eingegangen, um welche *B.t.*-Maissorte(n) es sich handelt (http://www.syngentafoundation.com/insect_resistant_maize.htm). Event 176 wird möglicherweise nicht angebaut, weil diese Zuchtlinie im Gegensatz zu anderen *B.t.*-Mais

Zuchtlinien das δ -Endotoxin auch im Pollen exprimiert (FEARING et al. 1997). Die Anbaufläche von Event 176 betrug in den USA im Jahr 2001 nur 2% der Gesamtanbaufläche an Mais (HELLMICH et al. 2001; GATEHOUSE et al. 2002).

Aus den oben genannten Gründen ist die Wahrscheinlichkeit, dass in Afrika subletal vergiftete *C. partellus*-Raupen von *C. flavipes* parasitiert werden, als gering einzustufen. Sofern *C. partellus* jedoch Resistenzen gegen das *B.t.*-Toxin entwickelt (siehe Abschnitt 3.3.2.1 und 4.6.1.1), ist die Möglichkeit gegeben, dass von dem *B.t.*-Toxin nur subletal vergiftete *C. partellus*-Wirte von *C. flavipes* erfolgreich parasitiert werden. Es wäre interessant zu erfahren, ob und welche life history-Parameter von *C. flavipes* gegenüber der Kontrolle unter diesen Umständen verändert wären.

Schließlich können die in dieser Studie eingesetzten Methoden auch auf andere tritrophische Systeme übertragen werden, in denen der Herbivor gegenüber dem *B.t.*-Toxin relativ unempfindlich ist (siehe Abschnitt 4.11).

4.11 Die vorliegende Studie als Modell für die Untersuchung der Wirkung transgener insektenresistenter Pflanzen auf Herbivore, deren Parasitoide und Räuber

SLANSKY (1996) weist darauf hin, wie wichtig das Verständnis ernährungsökologischer Zusammenhänge bei der Entwicklung insektenresistenter Pflanzen ist. Beispielsweise kann die Deterrent-Wirkung sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe davon abhängen, wie hoch der Nährstoffgehalt des Futters ist. Bei konstanter Koffein-Konzentration reduzierte eine 20-prozentige Erhöhung des Nährstoffgehalts die Nahrungsaufnahme von Lepidopteren-Larven um 50% (SLANSKY 1996).

Insektenresistente transgene Pflanzen produzieren verschiedene insektizide Proteine: beispielsweise *B.t.* δ -Endotoxine, Lektine, Protease-Inhibitoren und α -Amylase-Inhibitoren. Da diese Proteine auf das Verdauungssystem wirken (GLARE und O'CALLAGHAN 2000; CARLINI und GROSSI-DE-SA 2002), ist es sinnvoll, die Verdauungsparameter von Herbivoren zu messen, die diese Proteine mit der Nahrung aufgenommen haben. Wie in der vorliegenden Studie gezeigt, kann die Messung der Nahrungsaufnahme von Herbivoren nach Aufnahme transgenen Pflanzenmaterials zu einem genaueren Verständnis der Faktoren beitragen, die die Entwicklung des Parasitoids im herbivoren Wirt bestimmen. Die Messung der Verdauungsparameter von Räubern, die mit transgenem Pflanzenmaterial gefütterte Herbivoren aufnehmen, würde ebenfalls zu einem genaueren Verständnis der wirtsvermittelten Wirkung transgener Pflanzen auf Räuber führen. Beispielsweise könnte die Messung der Verdauungsparameter klären, warum die Mortalitätsrate von *Chrysoperla*

carnea-Larven (Neuroptera: Chrysopidae) in bi- und tritrophischen Systemen ähnlich war (HILBECK et al. 1998a; HILBECK et al. 1998b). So betrug die Mortalitätsrate 60%, wenn *C. carnea* mit *B.t.*-haltigem Kunstfutter (100 µg *B.t.* δ-Endotoxin / ml Nahrung) gefüttert wurde, oder mit Herbivoren, die auf *B.t.*-Mais gehalten wurden (ca. 1 µg δ-Endotoxin / g Frischgewicht in Maisblättern). Wurden dagegen *Spodoptera littoralis*-Larven (Lepidoptera: Noctuidae), die auf Kunstfutter gehalten wurden (100 µg *B.t.* δ-Endotoxin / ml Nahrung), an *C. carnea*-Larven verfüttert, betrug die Mortalität 80% (HILBECK et al. 1999). Diese Ergebnisse könnten mit unterschiedlichen Mengen an aufgenommener Nahrung bzw. mit unterschiedlicher Verwertung der aufgenommenen Nahrung durch Herbivore und/oder *C. carnea* zu erklären sein.

Lepidopteren-Larven der Familie Noctuidae sind weniger empfindlich gegen *B.t.*-Pflanzen als *C. partellus*-Larven (BERGVINSON et al. 1997; HILBECK et al. 1998a; HENNEBERRY et al. 2001; BINNING und RICE 2002). Daher könnten die Verdauungsparameter bei diesen Herbivoren ohne Einsatz von *B.t.*-Pflanzen-Suspensionen gemessen werden.

In der vorliegenden Studie wurde zwischen wirtsvermittelter Wirkung von *B.t.*-Pflanzen auf die Eiablage des Parasitoidweibchens und auf die sich im Wirt entwickelnden Parasitoidlarven unterschieden. Würde in anderen Untersuchungen auf dieselbe Weise verfahren werden, dann wären die Ergebnisse verschiedener Studien besser miteinander vergleichbar. Möglicherweise könnte dann entschieden werden, ob unterschiedliche wirtsvermittelte Wirkungen von transgenen insektenresistenten Pflanzen auf die dritte trophische Ebene darauf zurückzuführen sind, dass unterschiedliche tritrophische Systeme untersucht wurden oder aber die Untersuchungen unter verschiedenen Rahmenbedingungen stattfanden.

Würden die am tritrophischen Modell-System *B.t.*-Mais - *Chilo partellus* – *Cotesia flavipes* eingesetzten Methoden auch von anderen Studien übernommen werden, dann wäre dies eine solide Basis für die zukünftige Bewertung potentieller Wirkungen transgener insektenresistenter Pflanzen auf phytophage Insekten, deren Prädatoren und Parasitoide.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die Untersuchung der Wirkung transgener insektenresistenter Pflanzen auf entomophage Insekten ist von Bedeutung, denn Räuber und Parasitoide können eine wichtige Rolle als Gegenspieler von phytophagen Schädlingen spielen. In der vorliegenden Arbeit wurde exemplarisch die wirtsvermittelte Wirkung von transgenem insektenresistentem *Bacillus thuringiensis*-Mais („*B.t.*-Mais“) auf den gregären koinobionten larvalen Endoparasitoiden *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) unter Laborbedingungen untersucht. Als Wirt diente *Chilo partellus* (Lepidoptera: Crambidae). *C. partellus* ist einer der wirtschaftlich bedeutendsten Schädlinge an Mais und Hirse in Afrika, der mittlerweile in Kenia von *C. flavipes* wirksam dezimiert wird. *B.t.*-Mais synthetisiert ein bakterielles Protein mit insektizider Wirkung, das *B.t.* δ -Endotoxin.

Das *B.t.*-Toxin schädigt das für die Verdauung wichtige Mitteldarmepithel von Insekten, daher wurden die WALDBAUERSchen Verdauungsparameter von *C. partellus* nach Aufnahme von *B.t.*- bzw. Kontrollmais bestimmt. Die Verdauungsparameter erlauben Aufschluss über die Menge an aufgenommener Nahrung, über den Anteil an aufgenommener Nahrung, der verdaut wird, über den Anteil an verdauter Nahrung, der in Körpermasse umgewandelt wird und über die Gewichtsänderungen des Insekts. Ferner wurden life history Parameter von *C. flavipes* ermittelt.

Parasitoidweibchen können mitunter zwischen Wirten, die *B.t.*-Nahrung aufnehmen, und Kontroll-Wirten unterscheiden. Um wirtsvermittelte *B.t.*-Effekte auf die Eiablage von *C. flavipes* auszuschließen, wurden die Wirte in der vorliegenden Arbeit zuerst parasitiert und dann in *B.t.*- und Kontrollgruppe aufgeteilt.

Da *C. partellus*-Larven nach Aufnahme von *B.t.*-Mais starben, bevor der Parasitoid seine Larvalentwicklung vollenden konnte, wurde mit verdünnten *B.t.*-Mais-Suspensionen gearbeitet, die auf Blätter von Kontrollmaispflanzen aufgetragen bzw. in Stängelstückchen von Kontrollmaispflanzen injiziert wurden. Jüngere *C. partellus*-Larven fressen an Blättern, ältere in Stängeln, deswegen wurde mit beiden Pflanzenteilen experimentiert.

Nicht parasitierte *C. partellus*-Larven verschiedener Stadien nahmen in der *B.t.*-Gruppe weniger Nahrung auf als in der Kontrolle. Die Ursache der verringerten Nahrungsaufnahme lag möglicherweise in einer gegenüber der Kontrolle verlangsamten Darmpassage der Nahrung. Auch das Wachstum war gegenüber der Kontrolle verringert. Dies könnte die Folge der verringerten Nahrungsaufnahme, eines Mangels an Wasser oder eines Mangels an Proteinen sein, denn das *B.t.*-Toxin kann die Absorption von Aminosäuren blockieren und zu Flüssigkeitsverlust führen. Ferner war der Anteil der verdauten Nahrung, der in Körpermasse umgewandelt wurde, gegenüber der Kontrolle reduziert. Ein Grund dafür könnte in dem

gegenüber der Kontrolle erhöhten energetischen Aufwand für die Regeneration des Mitteldarmepithels liegen.

Die Wirkungen der *B.t.*-Mais-Suspension auf die Verdauungsparameter von *C. partellus* waren bei Gabe von Blatt- und Stängelfutter ähnlich und stimmen mit Literaturdaten überein. Wurden jedoch parasitierte *C. partellus*-Larven mit Maisblättern gefüttert, konnte kein einziger Parasitoid seine Lavalentwicklung im Wirt vollenden und sich verpuppen. Daher wurden parasitierte *C. partellus*-Larven im folgenden nur noch mit Stängelstückchen gefüttert. Diese sind möglicherweise aufgrund ihres gegenüber Blättern erhöhten Proteingehaltes für ältere *C. partellus*-Larvalstadien ernährungsphysiologisch geeigneter als Blätter.

Parasitierte *C. partellus*-Larven nahmen während der ersten 4 Tage des Versuchs in der *B.t.*-Gruppe weniger Nahrung auf als in der Kontrolle. Ab dem fünften Tag war der Unterschied jedoch nicht mehr signifikant. Dies lag möglicherweise am Schlupf der Parasitoid-L1-Larven im Wirt, denn Parasitoiden können die Nahrungsaufnahme des Wirtes in Abhängigkeit von ihrem Larvalstadium beeinflussen.

Verschiedene life history Parameter von *C. flavipes* waren gegenüber der Kontrolle beeinträchtigt. So konnte der Parasitoid nur in wenigen Wirten seine Entwicklung erfolgreich beenden, wenn der Wirt *B.t.*-Mais-Suspension aufgenommen hatte. Ferner war das Gewicht von Puppen, Kokons, Kokonspinnseide und adulten Parasitoiden gegenüber der Kontrolle verringert. Das Gewicht von Parasitoidweibchen ist ein Maß für Fitness, denn größere Weibchen haben oft eine längere Lebensdauer und produzieren mehr Eier als kleinere. Nur in der *B.t.*-Gruppe ergaben sich hochsignifikant negative Korrelationen zwischen der vom Wirt aufgenommenen Nahrungsmenge und der Anzahl an Parasitoid-Kokons pro Wirt. Darüberhinaus war die vom Wirt aufgenommene Nahrungsmenge nur in der *B.t.*-Gruppe mit der Entwicklungsdauer des Parasitoids positiv korreliert. Wahrscheinlich nahm die Menge des aufgenommenen *B.t.*-Toxins mit der aufgenommenen Nahrungsmenge zu. Höhere Toxinmengen führten dabei zu einer Erhöhung der Mortalität der Parasitoidlarven im Wirt bzw. verlangsamten die Entwicklung des Parasitoids.

Die anhand des tritrophischen Modellsystems der vorliegenden Studie gezeigten Methoden könnten auch auf andere tritrophische Systeme mit verschiedenen Arten von transgenen Pflanzen übertragen werden, die insektizide Proteine synthetisieren. Da diese Proteine auf das Verdauungssystem wirken, wäre eine Bestimmung der Verdauungsparameter bei Herbivoren und Prädatoren sinnvoll. Wie in der vorliegenden Studie angedeutet, kann die Bestimmung der Verdauungsparameter zu einem genaueren Verständnis der Faktoren beitragen, die die Entwicklung des Parasitoids (oder Prädators) bestimmen. Dies wäre eine solide Basis für die zukünftige Abschätzung potentieller beute- bzw. wirtsvermittelter Wirkungen transgener insektenresistenter Pflanzen auf Prädatoren und Parasitoide.

6 SUMMARY

As parasitoids and predators can be important antagonists of phytophagous pests, studying the effect of transgenic insect resistant crops on entomophagous insects is of interest. In this study the host-mediated effect of *Bacillus thuringiensis*-maize ("*B.t.*-maize") on the koinobiont gregarious larval endoparasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) was determined under laboratory conditions. *Chilo partellus* larvae (Lepidoptera: Crambidae) were chosen as hosts. *C. partellus* is an important pest on maize and sorghum in Africa, which is effectively controlled by *C. flavipes* in Kenya. *B.t.*-maize produces a bacterial insecticidal protein, the *B.t.* δ -endotoxin.

As the *B.t.*-toxin damages the midgut epithelium which is important for nutrient digestion, the nutritional indices of *C. partellus* larvae after ingestion of *B.t.*- or control plant material were determined as defined by WALDBAUER. The food intake, the percentage of consumed food that was also digested, the percentage of digested food that was converted into body mass and weight changes were measured. Furthermore life history parameters of *Cotesia flavipes* were analyzed.

Parasitoid females may distinguish between *B.t.* treated hosts and control hosts. In order to exclude any host-mediated *B.t.*-effects on parasitoid oviposition, hosts were parasitized before being exposed to *B.t.*- or control maize material.

As many hosts died after consumption of *B.t.* maize material prior to parasitoid emergence, control plant leaf pieces treated with diluted *B.t.*-maize leaf suspension and control plant stem pieces infused with diluted *B.t.*-maize leaf suspension were used as food. Younger *C. partellus* larvae feed on maize leaves while older larvae bore into maize stems. Therefore, experiments with leaf and stem pieces were performed.

Food consumption of different stages of non-parasitized *C. partellus* larvae exposed to *B.t.*-maize leaf tissue was strongly reduced compared to the control. Perhaps the *B.t.*-toxin slowed down the passage of ingested plant material through the gut. Moreover, *C. partellus* larvae of the *B.t.*- group gained less weight than in the control. This effect may be due to reduced food intake or to a lack of water or protein, since the *B.t.*-toxin blocks the absorption of amino acids and induces dehydration. Furthermore the percentage of digested food that was also converted into body mass was less in the *B.t.*-group with respect to the control. This decrease could result from the allocation of energy for epithelial cell repairs instead of weight gain.

The effects of the *B.t.*-toxin on nutritional performance of non-parasitized *C. partellus* larvae were similar, regardless of whether maize leaf pieces or maize stem pieces were used, and correspond well to results from other studies. However, when *C. partellus* was parasitized and exposed to leaf pieces, no parasitoid could complete its development. Hence, stem

pieces were taken, which contain more proteins than leaves and therefore may be the nutritionally adequate food for older larvae.

Parasitized *C. partellus* hosts exposed to *B.t.*-maize material consumed less food than in the control on day 1-4 of the experiment. However, there was no significant difference between both groups on day 5-8. This may be due to the hatching of first instar parasitoid larvae in the host on day 4. The influence of parasitoids on food consumption of the host may depend on the larval instar of the parasitoid.

Different life history parameters of *C. flavipes* were negatively affected compared to the control. The number of hosts allowing parasitoid larvae to complete their development was strongly reduced in the *B.t.*-group. Moreover, the fresh weight of parasitoid cocoons, cocoon silk and pupae and the dry weight of parasitoid adults was lower than in the control. Since larger females tend to live longer and have a higher egg load, parasitoid adult size influences fitness. Only in the *B.t.*-group, strong negative correlations were found between food intake by the host and number of parasitoid cocoons. Strong positive correlations were also found only in the *B.t.*-group between food intake and the parasitoid development time. As the correlations were only significant in the *B.t.*-group, it is reasonable to assume that the cocoon number was reduced and the development time increased by the amount of *B.t.*-toxin ingested by the host, which is expected to increase with the amount of food eaten. Higher toxin doses may increase parasitoid larval mortality and prolong parasitoid larval development.

The tritrophic system used in this study can be considered as a model for future investigations about the host-mediated effect of different transgenic insect resistant plants on parasitoids and predators. Since the insect control proteins produced by transgenic plants target the insect digestive system, measuring nutritional indices would provide information about how herbivores and predators are affected. This study demonstrates that correlating host nutritional indices and parasitoid (or predator) life history parameters could reveal more about how food utilization by the host may influence parasitoid (or predator) performance. This information would provide a solid basis for future evaluation of the effect of transgenic insect resistant plants on the third trophic level.

7 LITERATUR

- Ahmad S, 1986. Enzymatic adaptations of herbivorous insects and mites to phytochemicals. *Journal of Chemical Ecology* 12, 533-560.
- Alleyne M, Beckage NE, 1997. Parasitism-induced effects on host growth and metabolic efficiency in tobacco hornworm larvae parasitized by *Cotesia congregata*. *Journal of Insect Physiology* 43: 407-424.
- Angus TA, 1956. Extraction, purification and properties of *Bacillus sotto* toxin. *Canadian Journal of Microbiology* 2: 416-426.
- Appel HM, 1994. The chewing herbivore gut lumen: physicochemical conditions and their impact on plant nutrients, allelochemicals, and insect pathogens. In: Bernays E (ed.), *Insect-Plant Interactions Volume 5*, CRC Press, Boca Raton, pp. 209-223.
- Arpaia S, De Marzo L, Di Leo GM, Santoro ME, Mennella G, van Loon JJA, 2000. Feeding behaviour and reproductive biology of Colorado potato beetle adults fed transgenic potatoes expressing the *Bacillus thuringiensis* Cry3B endotoxin. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 95: 31-37.
- Ashouri A, Michaud D, Cloutier C, 2001a. Unexpected Effects of Different Potatoe Resistance Factors to the Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) on the Potato Aphid (Homoptera: Aphididae). *Environmental Entomology* 30, 524-532.
- Ashouri A, Michaud D, Cloutier C, 2001b. Recombinant and classically selected factors of potato plant resistance to the colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, variously affect the potato aphid parasitoid *Aphidius nigripes*. *BioControl* 46: 401-418.
- Atwood DW, Young SY, Kring TJ, 1997. Development of *Cotesia marginiventris* (Hymenoptera: Braconidae) in Tobacco Budworm (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae Treated with *Bacillus thuringiensis* and Thiodicarb. *Journal of Economic Entomology* 90: 751-756.
- Avé DA, 1995. Stimulation of feeding: Insect Control Agents. In: Chapman RF, de Boer G (eds), *Regulatory Mechanisms in Insect Feeding*, Chapman & Hall, New York, pp 354-363.
- Axelsson B, Agren GI, 1979. A correction for food respiration in balancing energy budgets. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 25, 260-266.
- Bailey-Woodward D, Brownie C, Bacheler JS, Gould F, Kennedy GG, Sorenson CE, Roe RM, 2001. Species diagnosis and *Bacillus thuringiensis* resistance monitoring of *Heliothis virescens* and *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) field strains from the southern United States using feeding disruption bioassays. *Journal of Economic Entomology* 94: 76-85.

- Baker JE, Fabrick JA, 2000. Host hemolymph proteins and protein digestion in larval *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 30: 937-946.
- Bauce E, Bidon Y, Berthiaume R, 2002. Effects of food nutritive quality and *Bacillus thuringiensis* on feeding behaviour, food utilization and larval growth of spruce budworm *Choristoneura fumiferana* (Clem.) when exposed as fourth- and sixth-instar larvae. *Agricultural and Forest Entomology* 4: 57-70.
- Baur ME, Boethel DJ, 2003. Effect of Bt-cotton expressing Cry1A(c) on the survival and fecundity of two hymenopteran parasitoids (Braconidae, Encyrtidae) in the laboratory. *Biological Control* 26, 325-332.
- Beckage NE, 1997. New insights: How parasites and pathogens alter the endocrine physiology and development of insect hosts. In: Beckage NE (ed.), *Parasites and pathogens. Effects on host hormones and behaviour*. Chapman & Hall, New York. pp. 3-36.
- Berger A, 1992. Larval movements of *Chilo partellus* (Lepidoptera: Pyralidae) within and between plants: timing, density responses and survival. *Bulletin of Entomological Research* 82: 441-448.
- Berger A, 1994. Larval migration and pest management of the spotted stem borer *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae). *International Journal of Pest Management* 40: 6-12.
- Bergvinson D, Willcox M, Hoisington D, 1997. Efficacy and deployment of transgenic plants for stemborer management. *Insect Science and its Application* 17: 157-167.
- Bernal CC, Aguda RM, Cohen MB, 2002a. Effect of rice lines transformed with *Bacillus thuringiensis* toxin genes on the brown planthopper and its predator *Cyrtorhinus lividipennis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 102, 21-28.
- Bernal JS, Griscti JG, Gillogly PO, 2002b. Impacts of Developing on *Bt* Maize-Intoxicated Hosts on Fitness Parameters of a Stem Borer Parasitoid. *Journal of Entomological Science* 37, 27-40.
- Betz FS, Hammond BG, Fuchs RL, 2000. Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis*-Protected Plants to Control Insect Pests. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 32, 156-173.
- Binning RR, Rice ME, 2002. Effects of transgenic Bt corn on growth and development of the stalk borer *Papaipema nebris* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 95: 622-627.
- Blumberg D, Navon A, Keren S, Goldenberg S, Ferkovich SM, 1997. Interactions Among *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), Its Larval Endoparasitoid *Microplitis*

- croceipes* (Hymenoptera: Braconidae) and *Bacillus thuringiensis*. Journal of Economic Entomology 90: 1181-1186.
- Bonhof MJ, Overholt WA, Van Huis A, Polaszek A, 1997. Natural enemies of cereal stemborers in East Africa: a review. Insect Science and its Application 17: 19-35.
- Boucias DG, Pendland JC, 1998. Principles of Insect Pathology. Kluwer Academic Publishers, Boston, USA.
- Brewer FD, King EG, 1981. Food consumption and utilization by sugarcane borers parasitized by *Apanteles flavipes*. Journal of the Georgia Entomological Society 16: 185-192.
- Brink A, 2003. Inwieweit wirkt sich transgener *Bacillus thuringiensis*-Mais auf die 4. trophische Ebene aus? – Untersuchungen am Hyperparasitoiden *Tetrastichus howardi* (Hymenoptera: Eulophidae). Diplomarbeit an der Universität Bayreuth.
- Brownbridge M, 2001. Greenhouse Trials of New *Bacillus thuringiensis* Isolates for Control of *Chilo partellus* Larvae in Sorghum. Phytoparasitica 29:292-298.
- Browne LB, 1995. Ontogenetic Changes in Feeding Behaviour. In: Chapman RF, de Boer G (eds) Regulatory Mechanisms in Insect Feeding. Chapman & Hall, New York pp 307-342.
- Carlini CR, Grossi-de-Sá MF, 2002. Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides. Toxicon 40: 1515-1539.
- Chenot AB, Raffa KF, 1998. Effects of Parasitoid Strain and Host Instar on the Interaction of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* with the Gypsi Moth (Lepidoptera: Lymantriidae) Larval Parasitoid *Cotesia melanoscela* (Hymenoptera: Braconidae). Environmental Entomology 27: 137-147.
- Chilcutt CF, Tabashnik BE, 1999. Effects of *Bacillus thuringiensis* on Adults of *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae), a Parasitoid of the Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Biocontrol Science and Technology 9: 435-440.
- Cloutier C, Mackauer M, 1979. The effect of parasitism by *Aphidius smithi* (Hymenoptera: Aphidiidae) on the food budget of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera: Aphididae). Canadian Journal of Zoology 57, 1605-1611.
- Conner AJ, Glare TR, Nap JP, 2003. The release of genetically modified crops into the environment. Part II: Overview of ecological risk assessment. The Plant Journal 33: 19-46.
- Couty A, de la Vina G, Clark SJ, Kaiser L, Pham-Delègue M-H, Poppy GM, 2001a. Direct and indirect sublethal effects of *Galanthus nivalis* agglutinin (GNA) on the development of a potato-aphid parasitoid, *Aphelinus abdominalis* (Hymenoptera: Aphelinidae). Journal of Insect Physiology 47: 553-561.

- Couty A, Down RE, Gatehouse AMR, Kaiser L, Pham-Delègue MH, Poppy GM, 2001b. Effects of artificial diet containing GNA and GNA-expressing potatoes on the development of the aphid parasitoid *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae). *Journal of Insect Physiology* 47: 1357-1366.
- Couty A, Clark SJ, Poppy GM, 2001c. Are fecundity and longevity of female *Aphelinus abdominalis* affected by development in GNA-dosed *Macrosiphum euphorbiae*? *Physiological Entomology* 26: 287-293.
- De Eguileor M, Grimaldi A, Tettamanti G, Valvassori R, Leonardi MG, Giordana B, Tremblay E, Digilio MC, Pennacchio F, 2001. Larval anatomy and structure of absorbing epithelia in the aphid parasitoid *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera, Braconidae). *Arthropod Structure & Development* 30: 27-37.
- Deml R, Meise T, Dettner K, 1998. Effects of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxins on food utilization, growth, and survival of selected phytophagous insects. *Journal of Applied Entomology* 123: 55-64
- Doetzer AK, Foerster LA, 1998. Efeito do parasitismo por *Glyptapanteles muesebecki* (Blanchard) no consumo e utilizacao do alimento por *Pseudoletia sequax* Franclemont. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil* 27: 255-264.
- Donegan KK, Palm CJ, Fieland VJ, Porteous LA, Ganio LM, Schaller DL, Bucaco LQ, Seidler RJ, 1995. Changes in levels, species and DNA fingerprints of soil microorganisms associated with cotton expressing the *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* endotoxin. *Applied Soil Ecology* 2, 111-124.
- Duke JA, Atchley AA, 1986. CRC handbook of proximate analysis tables of higher plants. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.
- Dutton A, Klein H, Romeis J, Bigler F, 2002. Uptake of Bt-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecological Entomology* 27: 441-447.
- Dutton A, Romeis J, Bigler F, 2003. Assessing the risks of insect resistant transgenic plants on entomophagous arthropods: Bt-maize expressing Cry1Ab as a case study. *BioControl* 48: 611-636.
- Ellsworth PC, Patterson RP, Bradley JR Jr., Kennedy GG, Stinner RE, 1989. Developmental consequences of water and temperature in the European corn borer-maize interaction. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 53: 287-296.
- EI-Maghraby MMA, Geba A, Yousif Khalil SI, 1988. Interactions between *Bacillus thuringiensis* Berl., *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and the host/parasitoid system *Spodoptera littoralis* (Boisd.)/*Microplitis rufiventris* Kok. *Journal of Applied Entomology* 106: 417-421.

- Erb SL, Bouchier RS, van Frankenhuyzen K, Smith SM, 2001. Sublethal Effects of *Bacillus thuringiensis* Berliner subsp. *kurstaki* on *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) and the Tachinid Parasitoid *Compsilura concinnata* (Diptera: Tachinidae). *Environmental Entomology* 30: 1174-1181.
- Farrar RR, Barbour JD, Kennedy GG, 1989. Quantifying Food Consumption and Growth in Insects. *Ann Entomol Soc Am* 82, 593-598.
- Farrar RR, Ridgeway RL, 1995. Feeding behaviour of Gypsy Moth (Lepidoptera: Lymantriidae) Larvae on Artificial Diet Containing *Bacillus thuringiensis*. *Environmental Entomology* 24, 755-761.
- Fast PG, Angus TA, 1965. Effects of parasporal inclusion of *Bacillus thuringiensis* var. *sotto* Ishiwata on the permeability of the gut wall of *Bombyx mori* (Linnaeus) larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 7: 29-32.
- Fast PG, Donaghue TP, 1971. The δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* II. On the mode of action. *Journal of Invertebrate Pathology* 18: 135-138.
- Fearing PL, Brown D, Vlachos D, Meghji M, Privalle L, 1997. Quantitative analysis of CryIA(b) expression in *Bt* maize plants, tissues, and silage and stability of expression over successive generations. *Molecular Breeding* 3: 169-176.
- Ferré J, van Rie J, 2002. Biochemistry and Genetics of Insect Resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annual Reviews of Entomology* 47: 845-881.
- Gaston KJ, Reavey D, Valladares GR, 1991. Changes in feeding habit as caterpillars grow. *Ecological Entomology* 16: 339-344.
- Gatehouse AM, Ferry N, Raemaekers JM, 2002. The case of the monarch butterfly: a verdict is returned. *Trends in Genetics* 18: 2002.
- Gifford JR, Mann GA, 1967. Biology, rearing, and a trial release of *Apanteles flavipes* in the Florida Everglades to control the sugarcane borer. *Journal of Economic Entomology* 60: 44-47.
- Glare TR, O'Callaghan, 2000. *Bacillus thuringiensis*: Biology, Ecology and Safety. John Wiley & Sons, LTD, Chichester.
- Godfray HCJ, 1994. Parasitoids. Princeton University Press, Princeton, USA.
- Gould F, Anderson A, Landis D, Van Mellaert H, 1991. Feeding behaviour and growth of *Heliothis virescens* larvae on diets containing *Bacillus thuringiensis* formulations or endotoxins. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 58, 199-210.
- Gould F, Anderson A, Jones A, Sumerford D, Heckel DG, Lopez J, Micinski S, Leonard R, Laster M, 1997. Initial frequency of alleles for resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in field populations of *Heliothis virescens*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94: 3519-3523.

- Gould F, Anderson A, Reynolds A, Bumgarner L, Moar W, 1995. Selection and Genetic Analysis of a *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) Strain with High Levels of Resistance to *Bacillus thuringiensis* Toxins. *Journal of Economic Entomology* 88: 1545-1559.
- Gringorten JL, 2001. Ion balance in the lepidopteran midgut and insecticidal action of *Bacillus thuringiensis*. In: Ishaaya I (ed.), *Biochemical Sites of Insecticide Action and Resistance*, Springer Verlag Berlin, pp. 167-207.
- Groot AT, Dicke M, 2002. Insect-resistant transgenic plants in a multitrophic context. *The Plant Journal* 31, 387-406.
- Hails RS, 2000. Genetically modified plants – the debate continues. *Trends in Ecology & Evolution* 15, 14-18.
- Hamed AR, 1979. Zur Wirkung von *Bacillus thuringiensis* auf Parasiten und Prädatoren von *Yponomeuta evonymellus* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Zeitschrift für angewandte Entomologie* 87: 295-311.
- Hansen-Jesse LC, Obrycki JJ, 2000. Field deposition of Bt transgenic corn pollen: lethal effects on the monarch butterfly. *Oecologia* 125, 241-248.
- Hawkins BA, 1994. *Pattern and process in host-parasitoid interaction*. Cambridge University Press.
- Head G, Surber JB, Watson JA, Martin JW, Duan JJ, 2002. No Detection of Cry1Ac Protein in Soil After Multiple Years of Transgenic Bt Cotton (Bollgard) Use. *Environmental Entomology* 31, 30-36.
- Head G, Brown CR, Groth ME, Duan JJ, 2001. Cry1Ab protein levels in phytophagous insects feeding on transgenic corn: implications for secondary exposure risk assessment. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 99: 37-45.
- Heimpel AM, Angus TA, 1959. The site of action of Crystalliferous Bacteria in Lepidoptera Larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 1, 152-170.
- Hellmich RL, Blair SD, Sears MK, Stanley-Horn DE, Daniels MJ, Mattila HR, Spencer T, Bidne KG, Lewis LC, 2001. Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis*-purified proteins and pollen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98, 11925-11930.
- Henneberry TJ, Jech LF, de la Torre T, 2001. Effects of transgenic cotton on cabbage looper, tobacco budworm, and beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) larval mortality and development and foliage consumption in the laboratory. *Southwestern Entomologist* 26: 325-338.
- Hilbeck A, Baumgartner M, Fried PM, Bigler F 1998a. Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology* 27: 480-487.

- Hilbeck A, Moar WJ, Puzsai-Carey M, Filippini A, Bigler F, 1998b. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin to the predator *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology* 27: 1255-1263.
- Hilbeck A, Moar WJ, Puzsai-Carey M, Filippini A, Bigler F, 1999. Prey-mediated effects of Cry1Ab toxin and protoxin and Cry2A protoxin on the predator *Chrysoperla carnea*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 91: 305-316.
- Hochberg Y, 1988. A sharper Bonferroni procedure for multiple tests of significance. *Biometrika* 75: 800-802
- Howald R, Zwahlen C, Nentwig W, 2003. Evaluation of Bt oilseed rape on the non-target herbivore *Athalia rosae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 106: 87-93.
- James C, 2003. Preview: Global Status of Commercialized Transgenic Crops: 2003. ISAAA Briefs 30. ISAAA, Ithaca, NY.
- Johnson MT, Gould F, Kennedy GG, 1997. Effects of natural enemies on relative fitness of *Heliothis virescens* genotypes adapted and not adapted to resistant host plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 82: 219-230.
- Johnson MT, Gould F, 1992. Interaction of Genetically Engineered Host Plant Resistance and Natural Enemies of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) in Tobacco. *Environmental Entomology* 21: 586-597.
- Johnson MT, 1997. Interaction of Resistant Plants and Wasp Parasitoids of Tobacco Budworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Environmental Entomology* 26: 207-214.
- Kajita H, Drake EF, 1969. Biology of *Apanteles chilonis* and *A. flavipes* (Hymenoptera: Braconidae), Parasites of *Chilo suppressalis*. *Mushi* 42: 163-179.
- Kfir R, 2002. Increase in cereal stemborer populations through partial elimination of natural enemies. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 104: 299-306.
- Kfir R, Gouws J, Moore SD, 1993. Biology of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae): A facultative Hyperparasitoid of Stem Borers. *Biocontrol Science and Technology* 3: 149-159.
- Kfir R, Overholt WA, Khan ZR, Polaszek A, 2002. Biology and management of economically important lepidopteran cereal stem borers in Africa. *Annual Review of Entomology* 47: 701-31.
- Khanna V, Gupta VK, Kanta U, Dhaliwal HS, Sekhon SS, 1995. Control of maize stem borer, *Chilo partellus* (Swinhoe) by *Bacillus thuringiensis* based bioinsecticides. *Journal of Entomological Research* 19: 101-105.
- Kogan M, 1986. Bioassays for Measuring Quality of Insect Food. In: Miller JR, Miller TA (eds.), *Insect-Plant Interactions*. Springer Verlag New York, pp. 155-189.
- Koziel MG, Beland GL, Bowman C, Carozzi NB, Crenshaw R, Crossland L, Dawson J, Desai N, Hill M, Kadwell S, Launis K, Lewis K, Maddox D, McPherson K, Meghji MR, Merlin

- E, Rhodes R, Warren GW, Wright M, Evola V, 1993. Field Performance of Elite Transgenic Maize Plants Expressing an Insecticidal Protein Derived from *Bacillus thuringiensis*. *Bio/Technology* 11: 194-200.
- Krieg A, 1986. *Bacillus thuringiensis*, ein mikrobielles Insektizid. Grundlagen und Anwendung. Paul Parey Scientific Publishers, Berlin, Hamburg.
- Kumar H, 1995. Resistance in maize to *Chilo partellus* (Lepidoptera: Pyralidae) in relation to mode of infestation, larval growth, and food utilization. *Tropical Agriculture* 72, 236-240.
- Kumar H, 1997. Resistance in maize to *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae): an overview. *Crop Protection* 16: 243-250.
- Le Masurier AD, 1987. A comparative study of the relationship between host size and brood size in *Apanteles* spp. (Hymenoptera: Braconidae). *Ecological Entomology* 12: 383-393.
- Losey JE, Rayor LS, Carter ME, 1999. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature* 399: 214.
- Lozzia GC, Furlanis C, Manachini B, Rigamonti IE, 1998. Effects of Bt corn on *Rhopalosiphum padi* L. (Rhynchota Aphididae) and on its predator *Chrysoperla carnea* Stephen (Neuroptera Chrysopidae). *Bollettino di Zoologia agraria et di Bachicoltura Ser. II* 30 153-164.
- Ludy C, Meissle M, Lang A; 2003. Hängen Spinnen am seidenen Faden? Risikoabschätzung von Bt-Mais für eine wichtige Prädatorengruppe im Agrarökosystem. Vortrag auf der Tagung der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie in Halle.
- Lüthy P, Wolfersberger MG, 2000. Pathogenesis of *Bacillus thuringiensis* toxins. In: Charles J-F, Delécluse A, Nielsen-LeRoux, C (eds), *Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Malone LA, Pham-Delègue M-H, 2001. Effects of transgene products on honey bees (*Apis mellifera*) and bumblebees (*Bombus* sp.). *Apidologie* 32, 287-304.
- Martin MM, Van't Hof HM, 1988. The cause of reduced growth of *Manduca sexta* larvae on low-water diet: increased metabolic processing costs or nutrient limitation? *Journal of Insect Physiology* 34, 515-525.
- Mattson WJ, Scriber JM, 1987. Nutritional ecology of insect folivores of woody plants: nitrogen, water, fiber, and mineral considerations. In: Slansky F, Rodriguez JG (eds), *Nutritional ecology of insects, mites, spiders, and related invertebrates*. John Wiley & Sons, pp. 105-146.
- Meier MS, Hilbeck A, 2001. Influence of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on prey preference of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Basic and Applied Ecology* 2: 35-44.

- Meise T, 1997. Auswirkungen von *Bacillus thuringiensis* δ -Endotoxinen auf herbivore Insekten. Diplomarbeit an der Universität Bayreuth.
- Mohyuddin AI, 1971. Comparative biology and ecology of *Apanteles flavipes* (Cam.) and *A. sesamiae* Cam. as parasites of graminaceous borers. Bulletin of Entomological Research 61: 33-39.
- Moore SD, Kfir R, 1995. Host preference of the facultative hyperparasitoid *Tetrastichus howardi* (Hym.: Eulophidae). Entomophaga 40: 69-76.
- Moutia LA, 1952. Parasites of the Moth-Borers of Sugar-Cane in Mauritius. Bulletin of Entomological Research 43: 325-363.
- Mwangi PN, Ely A, 2001. Assessing risks and benefits: Bt maize in Kenya. Biotechnology and Development Monitor 48: 6-9
- Nakamatsu Y, Fujii S, Tanaka T, 2002. Larvae of an endoparasitoid, *Cotesia kariyai* (Hymenoptera: Braconidae), feed on the host fat body directly in the second stadium with the help of teratocytes. Journal of Insect Physiology 48: 1041-1052.
- Nakamatsu Y, Gyotoku Y, Tanaka T, 2001. The endoparasitoid *Cotesia kariyai* (CK) regulates the growth and metabolic efficiency of *Pseudaletia separata* larvae by venom and Ck polydnavirus. Journal of Insect Physiology 47: 573-584.
- Navon A, Hare JD, Federici BA, 1993. Interactions among *Heliothis virescens* larvae, cotton condensed tannin and the CryIA(c) δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis*. Journal of Chemical Ecology 19: 2485-2499
- Navon A, Federici BA, Walsh TS, Peiper UM, 1992. Mandibular Adduction Force of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae Fed the Insecticidal Crystals of *Bacillus thuringiensis*. Journal of Economic Entomology 85: 2138-2143.
- Ngi-Song AJ, Overholt W, Njagi PGN, Dicke M, Ayertey JN, Lwande W, 1996. Volatile infochemicals used in host and host habitat location by *Cotesia flavipes* Cameron and *Cotesia sesamiae* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), larval parasitoids of stemborers on Graminae. Journal of Chemical Ecology 22: 307-322.
- Ngi-Song AJ, Overholt WA, Avertay JN, 1995. Suitability of African Gramineous Stemborers for Development of *Cotesia flavipes* and *C. sesamiae* (Hymenoptera: Braconidae). Environmental Entomology 24: 978-984.
- Nowbahari B, Thibout E, 1990. The cocoon and humidity in the development of *Acrolepiopsis assectella* (Lep.) pupae: consequences in adults. Physiological Entomology 15: 363-368.
- Ochieng-Odero JPR, Mzingirwa AM, Njoroge PEW, Bungu MDO, Munyinyi DM, Onyango F O, 1994. Larval critical weight, pupation and adult fecundity in the spotted stem borer, *Chilo partellus* Swinhoe (Lepidoptera: Pyralidae): An Index of Quality. Insect Science and its Application 15: 123-127.

- Odindo MO, Onyango FO, 1998. Rearing maize and sorghum stem borers. In: Polaszek A (ed), African Cereal Stem Borers. Economic importance, Taxonomy, Natural Enemies and Control. CAB International, New York, USA, pp. 59-72.
- Oppert B, 1999. Protease Interactions With *Bacillus thuringiensis* Insecticidal Toxins. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 42:1-12.
- Orr DB, Suh CPC, 1999. Parasitoids and Predators. In: Rechcigl JE (ed.), Biological and biotechnological control of insect pests. Lewis publishers, Boca Raton, pp. 3-34.
- Overholt WA, Ochieng JO, Lammers P, Ogedah K, 1994. Rearing and field release methods for *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of tropical gramineous stem borers. Insect Science and its Application 15: 253-259
- Overholt WA, Ngi-Song AJ, Omwega CO, Kimani-Njogu SW, Mbapila J, Sallam MN, Ofomata V, 1997. A Review of the Introduction and Establishment of *Cotesia flavipes* Cameron in East Africa for Biological Control of Cereal Stemborers. Insect Science and its Application 17: 79-88
- Overholt WA, 2002. The Rearing of *Cotesia flavipes* for Classical Biological Control of *Chilo partellus* <http://62.24.104.3/stemborers/rearingMethods/cflavipes/index.cfm>.
- Palm CJ, Schaller DL, Donegan KK, Seidler RJ, 1996. Persistence in soil of transgenic plant produced *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* δ -endotoxin. Canadian Journal of Microbiology 42, 1258-1262.
- Peters W, 2003. Ernährung und Verdauung. In: Dettner K, Peters W (ed.), Lehrbuch der Entomologie, Spektrum Akademischer Verlag, pp. 91-126.
- Potting, RPJ, Snellen HM, Vet LEM, 1997a. Fitness consequences of superparasitism and mechanism of host discrimination in the stemborer parasitoid *Cotesia flaiupes*. Entomologia Experimentalis et Applicata 82: 341-348.
- Potting RPJ, Overholt WA, Danso FO, Takasu K, 1997b. Foraging Behavior and Life History of the Stemborer Parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). Journal of Insect Behavior 10: 13-29.
- Prütz G, Dettner K, a (im Druck). Biotests zur Wirkung von insektenresistentem *Bacillus thuringiensis*-Mais ("B.t.-Mais") auf den Herbivoren *Chilo partellus* (Lepidoptera: Crambidae) und seinen Parasitoiden *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für Allgemeine und Angewandte Entomologie.
- Prütz G, Dettner K, b (im Druck). Effect of Bt-corn leaf suspension on food consumption by *Chilo partellus* and life history parameters of its parasitoid *Cotesia flavipes* under laboratory conditions. Entomologia Experimentalis et Applicata.
- Quicke DLJ, 1997. Parasitic Wasps. Chapman & Hall London.
- Raps A, Kehr J, Gugerli P, Moar W, Bigler J, Hilbeck A, 2001. Immunological analysis of phloem sap of *Bacillus thuringiensis* corn and of the nontarget herbivore *Ropalosiphum*

- padi* (Homoptera: Aphididae) for the presence of Cry1Ab. *Molecular Ecology* 10: 525-533.
- Raubenheimer D, Simpson SJ, 1992. Analysis of covariance: an alternative to nutritional indices. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 62: 221-231.
- Reavey D, 1993. Why Body Size Matters to Caterpillars. In: Stamp NE, Casey TM (eds), *Caterpillars, Ecological and evolutionary constraints on foraging*. Chapman & Hall, New York, pp. 248-277.
- Riddick EW, Dively G, Barbosa P, 1998. Effects of a Seed-Mix Deployment of Cry3A-transgenic and Nontransgenic Potato on the Abundance of *Lebia grandis* (Coleoptera: Carabidae) and *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Annals of the Entomological Society of America* 91, 647-653.
- Ryan MF, 2002. *Insect Chemoreception: fundamental and applied*. Kluwer Academic Published Dordrecht, Boston, London
- Sachs L, 1999. *Angewandte Statistik*. Springer Verlag, Berlin, Germany.
- Salama HS, Zaki FN, Sharaby AF, 1982. Effect of *Bacillus thuringiensis* Berl. on parasites and predators of the cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Zeitschrift für angewandte Entomologie* 94: 498-504.
- Salama HS, El-Moursy A, Zaki FN, Aboul-Ela R, Abdel-Razek A, 1991. Parasites and predators of the meal moth *Plodia interpunctella* Hbn. as affected by *Bacillus thuringiensis* Berl. *Journal of Applied Entomology* 112: 244-253.
- Salama HS, Zaki FN, Sabbour MM, 1996. Effect of *Bacillus thuringiensis* endotoxin on *Apanteles litae* Nixon and *Bracon instabilis* Marsh. (Hym., Braconidae), two parasitoids of the potato tuber moth *Phthorimia operculella* Zeller (Lep., Gelishiidae). *Journal of Applied Entomology* 120, 565-568.
- Sareen V, Rathore YS, Bhattacharya AK, 1983. Influence of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* on the food utilization of *Spodoptera litura* (Fabricius). *Zeitschrift für angewandte Entomologie* 95: 253-258.
- Saxena D, Flores S, Stotzky G, 1999. Insecticidal toxin in root exudates from *Bt* corn. *Nature* 402, 480.
- Saxena D, Stotzky G, 2000. Insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* is released from roots of transgenic *Bt* corn in vitro and in situ. *FEMS Microbiology Ecology* 33, 35-39.
- Saxena D, Stotzky G, 2001a. *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin released from root exudates and biomass of Bt corn has no apparent effect on earthworms, nematodes, protzoa, bacteria, and fungi in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 33, 1225-1230.
- Saxena D, Stotzky G, 2001b. *Bt* corn has a higher lignin content than non-*Bt* corn. *American Journal of Botany* 88: 1704-1706.

- Saxena D, Flores S, Stotzky G, 2002. *Bt* toxin is released in root exudates from 12 transgenic corn hybrids representing three transformation events. *Soil Biology & Biochemistry* 34, 133-137.
- Schmidt DJ, Reese JC, 1986. Sources of error in nutritional index studies of insects on artificial diet. *Journal of Insect Physiology* 32, 193-198.
- Schoenmaker A, Cusson M, van Frankenhuyzen K, 2001. Interactions between *Bacillus thuringiensis* and parasitoids of late-instar larvae of the spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae). *Canadian Journal of Zoology* 79:1697-1703
- Schoonhoven LM, Jermy T, van Loon JJA, 1998. *Insect plant biology. From physiology to evolution.* Chapman & Hall, London.
- Schopf A, Steinberger P, 1996. The influence of the endoparasitic wasp *Glyptapanteles liparidis* (Hymenoptera: Braconidae) on the growth, food consumption and food utilization of its host larva, *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae). *European Journal of Entomology* 93: 555-568.
- Schuler TH, Denholm I, Jouanin L, Clark SJ, Clark AJ, Poppy GM, 2001. Population-scale laboratory studies of the effect of transgenic plants on nontarget insects. *Molecular Ecology* 10: 1845-1853.
- Schuler TH, Poppy GM, Kerry BR, Denholm I, 1999. Potential side effects of insect-resistant transgenic plants on arthropod natural enemies. *Trends in Biotechnology* 17: 210-216.
- Schuler TH, Potting RPJ, Denholm I, Clark SJ, Clark AJ, Stewart CN, Poppy GM, 2003. Tritrophic choice experiments with Bt plants, the diamondback moth (*Plutella xylostella*) and the parasitoid *Cotesia plutellae*. *Transgenic research* 12: 351-361.
- Schuler TH, Potting RPJ, Denholm I, Poppy GM, 1999. Parasitoid behaviour and Bt plants. *Nature* 400: 825.
- Scriber JM, 2001. Bt or not Bt: Is that the question? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98, 12328-12330.
- Scriber JM, Slansky F, 1981. The nutritional ecology of immature insects. *Annual Reviews of Entomology* 26: 183-211.
- Sétamou M, Bernal JS, Legaspi JC, Mirkov TE, 2002. Effects of Snowdrop Lectin (*Galanthus nivalis* Agglutinin) Expressed in Sugarcane on Fitness of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae), a Parasitoid of the nontarget Pest *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Annals of the Entomological Society of America* 95: 75-83.
- Shelton, AM, Zhao J-Z, Roush RT, 2002. Economic, Ecological, Food Safety, and Social Consequences of the Deployment of BT Transgenic Plants. *Annual Review of Entomology* 47, 845-881.

- Shieh J-N, Berry RE, Reed GL, Rossignol PA, 1994. Feeding Activity of Green Peach Aphid (Homoptera: Aphididae) on Transgenic Potato Expressing a *Bacillus thuringiensis* ssp. *tenebrionis* δ -Endotoxin Gene. *Journal of Economic Entomology* 87, 618-622.
- Simpson SJ, Simpson CL, 1990. The mechanisms of Nutritional Compensation by Phytophagous Insects. In: Bernays E (ed.), *Insect-Plant Interactions II*, CRC-Press, Boca Raton, pp. 79-124.
- Sims SR, Holden LR, 1996. Insect Bioassay for Determining Soil Degradation of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* CryIA(b) Protein in Corn tissue. *Environmental entomology* 25, 659-664.
- Slansky F, 1986. Nutritional ecology of endoparasitic insects and their hosts: an overview. *Journal of Insect Physiology* 32: 255-261.
- Slansky F, 1993. Nutritional Ecology: The Fundamental Quest for Nutrients. In: Stamp NE, Casey TM (eds), *Caterpillars: Ecological and evolutionary constraints on foraging*. Chapman & Hall, New York, pp 29-91.
- Slansky F, 1996. Manipulating the nutritional ecology of pest and beneficial insects in IPM. In: Rosen D, Bennett FD, Capinera JL (eds), *Pest Management in the subtropics: a Florida perspective*. Intercept Ltd, Andover, Hants, UK.
- Slansky F, Scriber JM, 1985. Food Consumption and Utilization. In: Kerkut GA, Gilbert, LI (eds), *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology Volume 4: Regulation: Digestion, Nutrition, Excretion*, pp. 87-163.
- Stapel JO, Waters DJ, Ruberson JR, Lewis WJ, 1998. Development and Behaviour of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae in Choice Tests with Food Substrates Containing Toxins of *Bacillus thuringiensis*. *Biological Control* 11: 29-37.
- StatSoft Inc, 1999. STATISTICA for Windows, version 5.5. Tulsa, USA.
- Swain T, 1979. Tannins and lignins. In: Rosenthal GA, Janzen DH (eds), *Herbivores: Their interactions with secondary plant metabolites*. Academic Press, New York, pp. 657-682.
- Tagawa J, 1996. Function of the Cocoon of the Parasitoid Wasp, *Cotesia glomerata* L. (Hymenoptera: Braconidae): Protection against desiccation. *Applied Entomology and Zoology* 31: 99-103.
- Tanada Y, Kaya H, 1993. *Insect pathology*. Academic Press, Inc. New York.
- Tanaka T, Yagi S, Makamatu Y, 1992. Regulation of Parasitoid Sex Allocation and Host Growth by *Cotesia* (Apanteles) *kariyai* (Hymenoptera: Braconidae). *Annals of the Entomological Society of America* 85: 310-316.
- Temerak SA, 1980. Detrimental effects of rearing a braconid parasitoid on the pink borer larvae inoculated by different concentrations of the bacterium, *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Zeitschrift für angewandte Entomologie* 89: 315-319.

- van Loon JLL, 1991. Measuring food utilization in plant-feeding insects – toward a metabolic and dynamic approach. In: Bernays E (ed.), *Insect-Plant Interactions III*, CRC-Press, Boca Raton, pp. 79-124.
- Van Rensburg JBJ, 1999. Evaluation of Bt-transgenic maize for resistance to the stem borers *Busseola fusca* (Fuller) and *Chilo partellus* (Swinhoe) in South Africa. *South African Journal of Plant Soil* 16: 38-43.
- Van Rensburg JBJ, 2001. Larval mortality and injury patterns of the African stalk borer, *Busseola fusca* (Fuller) on various plant parts of Bt-transgenic maize. *South African Journal of Plant Soil* 18: 62-68.
- Varlez S, Jervis MA, Kidd NAC, Campos M, McEwen PK, 1993. Effects of *Bacillus thuringiensis* on parasitoids of the olive moth, *Prays oleae* Bern. (Lep., Yponomeutidae). *Journal of Applied Entomology* 116, 267-272
- Visser ME, 1994. The importance of being large: the relationship between size and fitness in females of the parasitoid *Aphaereta minuta* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Animal Ecology* 63: 963-978.
- Waldbauer GP, 1968. The consumption and utilization of food by insects. In: Beament JW, Treherne JE, Wigglesworth VB (eds), *Advances in Insect Physiology* 5, Academic Press, London, UK, pp. 229-288.
- Way MJ, 1963. Mutualism between ants and honeydew-producing Homoptera. *Annual Review of Entomology* 8, 307-344.
- Weseloh RM, Andreadis TG, 1982. Possible mechanism for synergism between *Bacillus thuringiensis* and the gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) parasitoid, *Apanteles melanoscelus* (Hymenoptera: Braconidae). *Annals of the Entomological Society of America* 75:435-438
- Wightman JA, 1981. Why insect energy budgets do not balance. *Oecologia* 50, 166-169.
- Wraight CL, Zangerl AR, Carroll MJ, Berenbaum MR, 2000. Absence of toxicity of *Bacillus thuringiensis* pollen to black swallowtails under field conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97, 7700-7703.
- Yamamoto T, 2001. One hundred years of *Bacillus thuringiensis* research and development: Discovery to transgenic crops. *Journal of Insect Biotechnology and Sericulture* 70: 1-23.
- Yu L, Berry RE, Croft BA, 1997. Effects of *Bacillus thuringiensis* Toxins in Transgenic Cotton and Potato on *Folsomia candida* (Collembola: Isotomidae) and *Oppia nitens* (Acari: Oribatidae). *Journal of Economic Entomology* 90, 113-118.
- Zoebelein G, 1956. Der Honigtau als Nahrung der Insekten, Teil I. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* 38, 369-416.

- Zwahlen C, Hilbeck A, Gugerli P, Nentwig W, 2003a. Degradation of the Cry1Ab protein within transgenic *Bacillus thuringiensis* corn tissue in the field. *Molecular Ecology*.12: 765-775.
- Zwahlen C, Hilbeck A, Howald R, Nentwig W, 2003b. Effects of transgenic Bt corn litter on the earthworm *Lumbricus terrestris*. *Molecular Ecology* 12, 1077-1086.
- Zwölfer H, 2003. Biologische Schädlingsbekämpfung: Übersicht. In: Dettner K, Peters W (eds.), *Lehrbuch der Entomologie*, Spektrum Akademischer Verlag, Stuttgart. pp. 671-678.

Dank

Ich danke allen, die mir geholfen haben:

Herrn Prof. Dr. K. Dettner für das hochinteressante, aktuelle Thema und wichtige Diskussionen;

Herrn Prof. Dr. K. Fiedler und Herrn Prof. Dr. H. Zwölfer für ihre großzügige und geduldige Hilfe bei statistischen Problemen;

Herrn Dr. R. Deml für die scharfsinnige Durchsicht des Manuskripts und zahlreiche Anmerkungen, die für die Publikation der Ergebnisse sehr hilfreich waren;

Frau Dipl.-Biol. Mandana Mehregan für ihre große Hilfe bei der Betreuung der Zuchten;

Frau PD Dr. C. Reinbothe und Herrn Dipl.-Biol. A. Springer für ihre große Hilfe bei ersten Western-Blot-Analysen;

Herrn Dr. Trautmann und Herrn Dr. Meisner von der Bayer CropScience AG in Monheim für die Bereitstellung von Kunstfutter für *Chilo partellus*;

Herrn Dipl.-Biol. Andreas Brink für bereichernde Diskussionen und Hilfe bei der Betreuung der Zuchten;

Frau Susanne Möschl für die Zeichnungen von *Chilo partellus* und *Cotesia flavipes* (Abb. 1);

Frau Andrea Beran und Frau Elisabeth Helldörfer für ihre gelegentliche Hilfe bei der Betreuung der Zuchten;

Frau Dr. Apel und Frau Nöh vom Umweltbundesamt (Berlin) für hilfreiche Diskussionen;

Frau Dipl.-Chem. Stephanie L. Westerlund für ihre stete Unterstützung.

Diese Studie wurde vom Umweltbundesamt (Berlin) finanziell unterstützt (Förderkennzeichen 29689030).

Hiermit versichere ich, Gernot Prütz, wohnhaft Leibnizstr. 5, 95447 Bayreuth, die vorliegende Arbeit selbständig verfasst und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben. Diese oder eine gleichartige Doktorprüfung wurde von mir an keiner anderen Hochschule endgültig nicht bestanden.

Bayreuth, den 29.2.2004