

## 4. Diskussion

### 4.1. Einfluss von *Nosema* sp. auf die Entwicklung von *Lymantria dispar*

#### 4.1.1. Mortalität

Parasiten, die ihre Wirte befallen, besitzen eine unterschiedliche Pathogenität. Sie können mehr oder weniger starke Krankheitssymptome hervorrufen und die Sterblichkeit erhöhen (TANADA & KAYA, 1992). Eine hohe Mortalität beeinflusst die Wirt-Parasit-Beziehung derart, dass für die Parasiten das Risiko entsteht, sich selbst auszurotten. Daher sollten virulente Parasiten, die eine hohe Sterberate verursachen, über effektive Transmissionsmechanismen und eine lange Überlebensfähigkeit außerhalb ihres Wirtes verfügen (ANDERSON & MAY, 1981).

Das in der vorliegenden Arbeit näher untersuchte Mikrosporidienisolat *Nosema* sp. [Schweinfurt] zeichnete sich durch eine sehr geringe bis moderate Mortalität in Laborversuchen aus. Die vergleichsweise sehr niedrige Mortalität kann auf den alleinigen Befall der Spinndrüsen zurückgeführt werden. Dieses Isolat befiel auch in späten Infektionsstadien nicht das Fettgewebe der Larven (eigene Beobachtungen, pers. Mitt. G. HOCH), wie dies von anderen *Nosema*-Isolaten und -Arten bekannt ist (HOCH, 1998; SOLTER et al., 2002;). HOCH berichtete, dass eine Infektion mit *Nosema* sp. [Ebergassing] vorrangig während des 5. und 6. Larvenstadiums zum Tode führte. Dieses Isolat befiel als erstes Zielgewebe ebenfalls die Spinndrüsen und nach deren Zerstörung das Fettgewebe. Weitaus pathogener war auch das ebenfalls aus *L. dispar* Larven gewonnene Isolat *Vairimorpha* sp. Bereits 7 Tage nach einer Infektion waren Dauersporen im Fettkörper von *L. dispar* nachweisbar und ein Großteil der Larven starb im 3. und 4. Larvenstadium (HOCH, 1998).

Während der Puppenruhe erhöhte sich die durch *Nosema* sp. [Schweinfurt] verursachte Mortalität auf bis zu 21 %. Dieser Anstieg kann mehrere Ursachen haben. Einerseits traten die ersten Sterbefälle erst 20 Tage nach der Infektion und damit relativ spät auf. Zu diesem Zeitpunkt begannen sich die meisten *L. dispar* Larven zu verpuppen. Das heißt, die Mortalität erhöhte sich während der Puppenruhe, weil die Mikrosporidieninfektion in den Wirten zu diesem Zeitpunkt weit fortgeschritten und somit tödlich für *L. dispar* war. Weiterhin ist es denkbar, die höhere Mortalität auf die Umorganisation des larvalen Organismus während der Puppenruhe zurückzuführen. Dieser Umbau und das damit verbundene Auflösen larvaler Organe, wie der Spinndrüsen, könnte zu einer verstärkten Freisetzung von Sporen führen, die dann neue Organe infizieren, die Metamorphose stören und somit zu einer mehrfach erhöhten Puppenmortalität führen. LINDE et al. (1998) argumentieren, dass vollständig befallene Organe während der Metamorphose nicht mehr abgebaut werden können, und daher die Metamorphose stören und zu

einer erhöhten Mortalität während der Puppenruhe führen. Andererseits muss jedoch beachtet werden, dass vollständig befallene Organe sehr fragil sind und bei der Präparation von *L. dispar* Puppen keine Spinnrüsenreste gefunden wurden.

#### 4.1.2. Dauer der einzelnen Entwicklungsstadien

Wie im Abschnitt 3.1.1. gezeigt und vorangegangenen Abschnitt diskutiert, wirkt sich ein Befall von *L. dispar* mit *Nosema* sp. [Schweinfurt] nur bei einem geringen Prozentsatz infizierter Wirte tödlich aus. LINDE et al. (1998, 2000) zeigten anschaulich, dass der Befall weniger wichtiger Organe mit *Nosema* sp. [Germany] sich in geringerer Mortalität und einer verlängerten Entwicklungsdauer äußerte. Untersuchungen anderer Insekt-Mikrosporidien-Systemen ergaben vergleichbare Ergebnisse (BAUER & NORDIN, 1989; MITCHELL & CALI, 1994). Das von HOCH (1998) untersuchte Isolat *Nosema* sp. [Ebergassing] verursachte ebenfalls eine Verlängerung einzelner Entwicklungsstadien um bis zu 4,5 Tage. Auch SOLTER et al. (2002) fanden für *Nosema* sp. [Levishte] eine geschlechtsspezifische Verlängerung der Entwicklung bis zum L<sub>5</sub>. Während eine Infektion mit *Vairimorpha* sp. stärkere Auswirkungen auf beide Geschlechter hatte, beeinflusste *Endoreticulatus* sp. die larvale Entwicklungsdauer bis zum L<sub>5</sub> nicht. HENN & SOLTER (2000) beobachteten ebenfalls eine verlangsamte Entwicklung der Wirte, wenn *L. dispar* mit *Vairimorpha* sp. infiziert war.

Das in der vorliegenden Arbeit verwendete Mikrosporidienisolat verursachte dagegen nur in Einzelfällen eine Verlängerung der Entwicklungsdauer. Weder für einzelne Larvenstadien, noch über die gesamte Fraßperiode oder bis zum Adultschlupf betrachtet, ließ sich eindeutig ein entwicklungshemmender Einfluss der Infektion belegen. Dabei wurden in der vorliegenden Arbeit mit den Angaben in der Literatur vergleichbare bzw. höhere Infektionsdosen verwendet.

Die Versuche zur Ermittlung von Entwicklungsparametern unter dem Einfluss einer Infektion mit *Nosema* sp. [Schweinfurt] bzw. einer höheren Haltungsdichte wurden zweimal durchgeführt. Bemerkenswert sind dabei die Differenzen in der Entwicklungsdauer der verschiedenen Larvenstadien. So verpuppten sich *L. dispar* Larven während des 1. Experimentes etwa 3–6 Tage später. Weiterhin überrascht es, dass weibliche *L. dispar* für das 3. bis 5. Larvenstadium während dieses Experimentes mehr Zeit benötigten, für das 6. Larvenstadium und die Metamorphose während der Puppenruhe jedoch weniger Zeit. Für männliche *L. dispar* gilt Ähnliches. Diese Differenzen schließen unterschiedliche Versuchsbedingungen, wie z. B. höhere oder niedrigere Temperaturen, als mögliche Ursachen während der Versuchsdurchführung aus. Weiterhin ist zu beachten, dass die Versuche von derselben Person durchgeführt und stets derselbe Brutschrank genutzt wurde. Außerdem wurden die Gelege stets aus derselben Zuchtanstalt bezogen, so dass

Qualitätsunterschiede ausgeschlossen werden können. Ferner ist zu beachten, dass die Versuchstiere des 1. oder 2. Experimentes nicht aus demselben, jedoch aus je einem Gelege stammten. Das heißt, die gemessenen Unterschiede können daher nur auf die genetische Variabilität von *L. dispar* zurückgeführt werden.

LINDE (1993) beschrieb mögliche Konsequenzen einer verlängerten Entwicklungsdauer für *L. dispar*. So nannte er ein längeres Ausgesetztsein gegenüber schlechten Witterungsbedingungen, Fressfeinden oder Parasiten, was in der Folge zu einer höheren Mortalität führen könnte, und wies darauf hin, dass sich geringe, im Labor unter optimalen Bedingungen ermittelte Unterschiede im Freiland verstärken können.

Es stellt sich die Frage, welche Vorteile eine längere Entwicklungsdauer dem Parasiten bringt. Eine Konsequenz wäre der Schlupf adulter *L. dispar*, der sich über einen längeren Zeitraum erstreckt, somit eine Reduktion der Wahrscheinlichkeit erfolgreicher Paarungen und damit einhergehend eine verringerte vertikale Transmission. Auch zeigten Simulationsanalysen, dass eine längere Entwicklungsdauer infizierter *L. dispar* keinen Einfluss auf die Ausbreitung der Infektion hatte. Ein Schlupfzeitraum über mehrere Tage, der zu einer insgesamt längeren larvalen Entwicklungsphase gesunder Larven führte, beeinflusste – allein betrachtet – die Ausbreitung der Infektion ebenfalls nicht positiv (siehe 3.6.4.). Dagegen könnte es sich für den Parasiten eine verlängerte Entwicklungsdauer seines Wirtes positiv auswirken, wenn er durch die Infektion weiterer Organe im Wirt höhere Dichten (Anzahl Sporen) erreichen kann.

#### 4.1.3. Gewichtsentwicklung, Puppengewichte und Trockenmasse des Kotes

Verschiedene Studien belegen einen Einfluss von Mikrosporidieninfektion auf die Gewichtsentwicklung und Puppengewichte von *L. dispar*. So fanden SOLTER et al. (2002), dass weibliche Kontrolllarven 20 Tage nach der Infektion etwa 1 g schwerer waren als mit *Nosema* sp. [Levishte] infizierte Larven. Dagegen fanden sie zwischen männlichen Kontrolltieren und infizierten Tieren keine Gewichtsunterschiede. Auch *Nosema* sp. [Schweinfurt] beeinflusste die Gewichtsentwicklung von *L. dispar*. Während der Larvalentwicklung rief die Infektion sowohl bei den Männchen als auch den Weibchen Gewichtsunterschiede bis zu 49% hervor. Zum Zeitpunkt der Verpuppung reduzierten sich diese Differenzen. Weibliche Puppen infizierter *L. dispar* waren maximal 12% leichter. Auf die Puppengewichte der Männchen hatte die Infektion mit *Nosema* sp. [Schweinfurt] keinen signifikanten Einfluss. LINDE et al. (2000) berichteten ebenfalls von niedrigeren Puppengewichten weiblicher *L. dispar*, wenn diese mit *Nosema* sp. [Germany] infiziert waren und in Kleinpopulationen aufwuchsen. Infizierte Männchen erreichten in dieser Studie höhere Puppengewichte als gesunde Männchen, obwohl

letztere während der Larvalentwicklung durchschnittlich schwerer waren; infizierte und gesunde Weibchen wiesen keine Gewichtsunterschiede auf. Der Vergleich dieser Ergebnisse deutet darauf hin, dass die Wirkung verschiedener *Nosema*-Isolate auf die Larvalentwicklung unterschiedlich und geschlechtsspezifisch sein könnte. Die Entwicklung weiblicher *L. dispar* ist im Gegensatz zur Larvalentwicklung der Männchen durch ein zusätzliches 6. Larvenstadium gekennzeichnet, welches für die Weibchen eine verlängerte Fraßperiode und für die Mikrosporidien eine verlängerte Vermehrungsphase bedeutet und welches sich bei einer Infektion mit *Nosema* sp. [Schweinfurt] nachteilig auf die Gewichtsentwicklung der weiblichen *L. dispar* auszuwirken scheint.

Die verzögerte Gewichtszunahme von *L. dispar* Larven, die mit *Nosema* sp. [Schweinfurt] infiziert waren, lag im selben Zeitraum wie die aufgetretenen Differenzen zwischen den Trockenmassen Kot je Leerungsintervall. Bis etwa 20 Tage nach Versuchsbeginn fiel von nicht infizierten Larven durchschnittlich mehr Trockenmasse Kot je Leerungsintervall an als von infizierten Larven. Danach kehrte sich das Verhältnis um und die Gewichtsunterschiede zwischen den Larven verringerten sich. Ein Vergleich der Gesamttrockenmassen Kot erbrachte kaum bedeutende Unterschiede zwischen infizierten und nicht infizierten Larven, gleiches gilt für den Vergleich der Puppengewichte. Erkennbar wurde jedoch der Trend, dass die von nicht infizierten Larven produzierte Gesamttrockenmasse Kot höher war als die infizierter Larven. Dieser Unterschied war jedoch nur ein Mal statistisch absicherbar. Somit lassen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit den Schluss zu, dass die Gesamttrockenmasse Kot nur in geringem Maße von einer Infektion mit *Nosema* sp. [Schweinfurt] beeinflusst wird. Auch LINDE et al. (2000) fanden in ihren Untersuchungen keine Unterschiede zwischen mit *Nosema* sp. [Germany] infizierten und nicht infizierten Individuen hinsichtlich der Gesamttrockenmasse Kot. Der Mikrosporidienbefall führte kurz nach der Infektion zu einer Beeinträchtigung der Larvalentwicklung, die jedoch weitestgehend ausgeglichen wurde. Der unterschiedlich schwere Befall von *L. dispar* durch *Nosema* sp. [Schweinfurt] schien zu einer mehr oder weniger starken Konkurrenzsituation um Nährstoffe zu führen (BROOKS, 1988). Zudem kann in den ersten Tagen der Infektion von einer partielle Zerstörung des Darmepithels ausgegangen werden, wie dies bei nahe verwandten Mikrosporidiearten beobachtet wurde (WEISER, 1957 & 1998). Die dadurch auftretenden Nährstoffmängel könnten durch einen in dieser Studie festgestellten verstärkten Fraß gegen Ende der Larvalentwicklung, wenn *Nosema* sp. [Schweinfurt] die Spinndrüsen vollständig befallen hatte und das Darmepithel regeneriert war, und eine im Laborversuch noch unbedeutend verlängerte Entwicklungszeit ausgeglichen werden.

#### 4.1.4. Missbildungen

Eine Mikrosporidieninfektion kann bei adulten Insekten zu deformierten Flügeln führen (BECNEL & ANDREADIS, 1999). So beobachteten schon OGWANG & ODINDO (1993) deformierte Flügel bei adulten *Ostrinia nubilalis*, wenn diese mit *Nosema maruca* während des 5. Entwicklungsstadiums infiziert wurden. Auch bei der Infektion von *L. dispar* mit *Nosema* sp. [Schweinfurt] zeigte sich sowohl bei den Männchen als auch bei den Weibchen der Trend zu einem höheren Anteil deformierter Flügel.

Mögliche Konsequenzen dieser Flügelmissbildungen könnten eine geringere Flugfähigkeit der infizierten Männchen und damit verbunden ein geringerer Paarungserfolg sein. Es ist schwer einschätzbar, welchen Einfluss dies auf die Populationsdynamik des Schwammspinners haben könnte. Die Infektion von *L. dispar* mit dem hier näher untersuchten Mikrosporidienisolat beeinflusste nur die Fruchtbarkeit der Weibchen und nicht der Männchen. Insofern wären immobile männliche Falter von geringerer Bedeutung. Auch ist zu beachten, dass Männchen mehrere Weibchen befruchten können (CAMPBELL, 1981). Es würde sich also nur der Anteil immobiler männlicher Falter erhöhen, jedoch nicht der Anteil flugfähiger Männchen mit geringerer Fruchtbarkeit, und nur diese könnten mit gesunden Männchen um Weibchen konkurrieren, letztere befruchten und so zu geringeren Gelegegrößen führen.

Welche Bedeutung eine Flügeldeformationen der Weibchen haben könnten, ist ebenfalls unklar, da die Weibchen der europäischen Rasse von *L. dispar* nicht fliegen (FORBUSH & FERNALD, 1896). Dagegen wird von Weibchen der asiatischen Rasse berichtet, dass sie bis zu 100 km fliegen können (ROZKHOV & VASILYEVA, 1982). GRASER (1996) erwähnt die Beobachtung einzelner flugaktiver Weibchen auf dem Höhepunkt der Schwammspinnerkalamität von 1993–94.

#### 4.1.5. Einfluss der Haltungsdichte auf die Entwicklung von *Lymantria dispar*

Bei den Experimenten zur Erfassung von Vitalitätsparametern wurden *L. dispar* Larven einzeln oder in Kleinpopulationen gehalten. Mit dieser Versuchsanordnung sollte die Frage geklärt werden, welche Auswirkungen eine höhere Populationsdichte, wie sie während einer Massenvermehrung auftreten kann, auf die Wirt-Parasit-Beziehung von *L. dispar* und *Nosema* sp. haben kann. Bei der Durchführung der Experimente wurde darauf geachtet, dass kein Nahrungsmangel auftrat. Alle beobachteten Effekte sind somit entweder auf die Mikrosporidieninfektion oder die höhere Haltungsdichte zurückzuführen. Die in den Laborversuchen erreichten Dichten entsprechen denen, die auch bei Massenvermehrungen von *L. dispar* in Subpopulationen Nordamerikas erreicht werden (CAMPBELL, 1981).

LEONARD (1970) fand in seinen Untersuchungen, dass hohe Haltungsdichten die Entwicklung von *L. dispar* Larven beschleunigte. Dies traf in seinen Untersuchungen für alle Larvenstadien und auch das Puppenstadium zu, allerdings waren die gefundenen Unterschiede nicht immer signifikant. Diesen Befunden widersprechen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit. In Kleinpopulationen aufgewachsene *L. dispar* benötigten für ihre Entwicklung länger als Larven aus der Einzelhaltung. Diese Unterschiede waren jedoch auch nicht in jedem Fall signifikant. Besonders deutlich wurde die verlängerte Entwicklungszeit beim Vergleich des Verpuppungszeitpunktes und des Falterschlupfes. Auch aus dem Vergleich der Larvengewichte wurde deutlich, dass höhere Haltungsdichten die Entwicklungsgeschwindigkeit herabsetzten. Aus den in den meisten Fällen geringeren Puppengewichten und höheren Trockenmassen des Kotes lässt sich schließen, dass die höhere Haltungsdichte zu einer Konkurrenzsituation zwischen den Larven führte. Daraus resultierten geringere Gewichtszunahmen, die durch eine verlängerte Entwicklungsdauer und vermehrte Nahrungsaufnahme der Larven kompensiert werden sollten. Letztere war jedoch nur teilweise erfolgreich, was bei einem Vergleich der Puppengewichte deutlich wird.

CAMPBELL (1967) und LEONARD (1968, 1970) berichteten von einer reduzierten Fekundität bei höherer Haltungsdichte. Auch dieses Ergebnis konnte in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt, aber auch nicht widerlegt werden. Die statistisch nicht absicherbaren Ergebnisse deuteten eher darauf hin, dass eine höhere Haltungsdichte nicht zwangsläufig zu geringerer Fruchtbarkeit der Weibchen führte. So legten *L. dispar* Weibchen aus Kleinpopulationen insgesamt mehr Eier ab und der Anteil fertiler Eier war höher; aus diesen schlüpfte wiederum ein höherer Anteil Larven. Somit deutete sich der Trend zu einer höheren Nachkommenzahl an, wenn die Weibchen aus Kleinpopulationen stammten.

Dagegen beeinflusste eine höhere Haltungsdichte nicht die stadienspezifische Mortalität. So führte eine höhere Dichte zu keiner höheren Sterblichkeit – weder bei den Kontrolltieren noch bei den infizierten *L. dispar*. Dieses Ergebnis war unabhängig vom betrachteten Entwicklungsstadium oder Geschlecht.

#### 4.2. Einfluss von *Nosema* sp. auf die Fertilität und die Natalität von *Lymantria dispar*

In verschiedensten Studien, die sich mit dem Einfluss einer Mikrosporidieninfektion auf ihren Wirt beschäftigen, wird von einer reduzierten Fertilität infizierter Weibchen berichtet. SIEGEL et al. (1986) fanden eine um 33 % verringerte Gelegegröße des Maiszünzlers *Ostrinia nubilalis*, wenn er mit *Nosema pyrausta* infiziert war. Sie vermuteten weiterhin ein verändertes Ablageverhalten infizierter Weibchen, welche weniger Gelege mit mehr Eiern produzierten. BAUER & NORDIN (1989) berichteten ebenfalls von einer signifikanten Reduktion der Gelegegröße um 35 % von *Choristoneura fumiferana*, wenn diese mit *Nosema fumiferanae* infiziert waren. BORDAT et al. (1993) beobachteten eine auf 20 % reduzierte Fruchtbarkeit mit *Nosema bordati* infizierter *Chilo partellus* Weibchen (Lepidoptera, Pyralidae). Der Anteil steriler Eier erhöhte sich von etwa 2 % auf 61 %.

In den eigenen Untersuchungen mit *Nosema* sp. [Schweinfurt] wurden ähnliche, wenn auch weniger starke Wirkungen, gefunden. Sowohl in der Einzelhaltung als auch in den Kleinpopulationen führte die Infektion der Weibchen zu reduzierten Gelegegrößen. Offensichtlich bewirkte nur die Infektion der Weibchen eine Reduktion. Die Infektion der Männchen hatte dagegen keinen Einfluss auf die Anzahl der abgelegten Eier. Der Anteil steriler Eier erhöhte sich ebenfalls um 7 % bis 26 %, nicht jedoch um knapp 60 % wie bei BORDAT et al. (1993) beschrieben. ZELINSKAYA (1980, 1981) fand ebenfalls einen Anstieg in der Anzahl steriler Eier um bis zu 15 % und eine Reduktion der Gelegegröße um das 2–9fache, wenn adulte *L. dispar* mit Mikrosporidien infiziert waren.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen einen Einfluss der Infektion auf die Fruchtbarkeit der Weibchen vermuten. Die Befunde können auch dahingehend interpretiert werden, dass die Konkurrenz um Nährstoffe zwischen Mikrosporidien und weiblichen *L. dispar* Larven zu einer Mangelsituation bei den Weibchen und somit zu einer Reduktion der Gelegegröße sowie dem Anteil fertiler Eier führt. So stellten DISS et al. (1996) fest, dass *L. dispar* Weibchen, die während ihrer Larvalentwicklung Nahrungsstress ausgesetzt waren, weniger Eier produzierten. Sie fanden weiterhin eine größere Variation in der Zahl der abgelegten Eier, wenn weibliche Larven aus gestressten Populationen stammten. Letzteres konnte in den eigenen Versuchen nur für den Anteil fertiler Eier bestätigt werden. ERELLI & ELKINGTON (2000) berichteten ebenfalls von einer Reduktion der Gelegegrößen auf 43 %, wenn weibliche *L. dispar* in gestressten Populationen, hier in Beständen mit Kahlfrass, aufwuchsen.

Korrelationsanalysen wiesen auf einen positiven Zusammenhang zwischen dem Puppengewicht weiblicher *L. dispar* und der Anzahl abgelegter Eier hin. Der gefundene Zusammenhang war

signifikant, jedoch nur 45 % der gesamten Streuung ließen sich auf die erklärende Variable ‚Puppengewicht weiblicher *L. dispar*‘ zurückführen. Ein ähnliches Ergebnis erhielten BAUER & NORDIN (1989), welche die Wirkung von *Nosema fumiferanae* auf die Fertilität von *Ch. fumiferanae* untersuchten. Regressionsanalysen der Fertilität gegen das Puppengewicht weiblicher Larven waren signifikant und besser, sobald die Wirte infiziert waren. Dies alles deutet darauf hin, dass die gefundene Korrelation zwischen dem Puppengewicht der Larven und der Anzahl der abgelegten Eier die Variation in der Gelegegröße nicht umfassend erklärt und andere, nicht erfasste Faktoren eine Rolle spielen.

Weiterhin beeinflusste die Infektion der Eltern den Schlupferfolg der Nachkommen. Obwohl die Larven der F1-Generation nicht infiziert waren, sank die Natalität um bis zu 31 %. WEISER & NOVOTNY (1993) berichteten gleichfalls von einer hohen Mortalität während der Embryonalentwicklung. Die Eimortalität betrug 94 %, wenn *L. dispar* Weibchen mit *Nosema lymantriae* infiziert waren. Waren *Ch. partellus* Weibchen mit *Nosema bordati* infiziert, so sank die Natalität auf 5,4 % (BORDAT et al., 1993). Alle Nachkommen aus dieser Untersuchung starben noch vor dem Erreichen des L<sub>3</sub>.

Somit könnte *Nosema* sp. [Schweinfurt] den Fortpflanzungserfolg und damit verbunden die Populationsgröße von *L. dispar* in dreifacher Hinsicht beeinflussen. Erstens führt die Infektion des Weibchens zu einer verringerten Gelegegröße. Zweitens zeigt sich auch ein Trend zu einem geringeren Anteil befruchteter Eier. Die Infektion der Weibchen scheint sowohl die Quantität als auch die Qualität der abgelegten Eier zu beeinflussen und es deutet sich ein verringerter Fortpflanzungserfolg infizierter Männchen an. Drittens führt die Infektion mindestens eines Elternteiles zu erhöhter Mortalität während der Embryonalentwicklung und somit zu einer weiteren Reduktion der Nachkommenzahl.

### **4.3. Transmission von *Nosema* sp.**

#### **4.3.1. Vertikale Transmission**

Transovarielle Transmission, also die Infektion von Embryonen, wird innerhalb der Gattung *Nosema* z.B. von *N. otiorrhynchi* in *Otiorrhynchus ligustici* (Coleoptera, Curculionidae), von *N. plodiae* in *Plodia interpunctella* (Lepidoptera, Pyralidae) und von *N. portugal* in *Lymantria dispar* in beschrieben (KELLEN & LINDEGREN, 1973; MADDOX et al., 1999; WEISER, 1958). Es wird auch als transovarielle Transmission angesehen, wenn Sporen kurz nach dem Schlupf bzw. mit dem Eidotter gefressen werden (BECNEL & ANDREADIS, 1999). CANNING (1982) bemerkte, dass dieser Weg eine wichtige Anpassung ist, die verhindert, dass Mikrosporidien ihren Wirt vor



dem Schlupf schwächen und somit ihr eigenes Überleben gefährden. Mehrere Autoren erwähnten weiterhin die Möglichkeit, Mikrosporidien transovum über sporenhaltenden Kot, Haare oder ovarielles Bindegewebe, welche die Oberfläche von Eiern verunreinigen, zu übertragen (ALGER & UNDEEN, 1970, BECNEL & ANDREADIS, 1999; CANNING & HULLS, 1970). Veneral werden Mikrosporidien nur sehr selten vertikal übertragen. THOMSON (1958) sowie KELLEN & LINDEGREN (1971) beschrieben dies von *Nosema fumiferanae* bzw. *N. plodiae*.

Für das in dieser Arbeit näher untersuchte Mikrosporidium *Nosema* sp. [Schweinfurt] kann eine vertikale Transmission, die transovariell, transovum oder veneral erfolgt, ausgeschlossen werden. Keine der untersuchten Larven der F1-Generation hatte bis zum 3. Larvenstadium eine Mikrosporidiose entwickelt. Schnittpräparate männlicher und weiblicher Gonaden zeigten zwar vereinzelt eine Infektion von ovariellem Bindegewebe bzw. des Peritonealgewebes männlicher Hoden, nicht jedoch eine Infektion der Oozyten bzw. Hodenfollikel. Auch ist eine vertikale Transmission über oberflächenkontaminierte Eier weitaus seltener (BECNEL & ANDREADIS, 1999). ALGER & UNDEEN (1970) beschrieben dies für *Nosema algerae* in *Anopheles stephensi* (Diptera, Culicidae), KRAMER (1959) für *Nosema pyrausta* in *Ostrinia nubilalis*.

#### 4.3.2. Horizontale Transmission

##### 4.3.2.1. Erfassung der Effektivität der horizontalen Transmission

Die Populationsdichte von *L. dispar* während einer Massenvermehrung wurde auf 250.000 bis 2.500.000 Individuen des Stadiums L<sub>4</sub> pro Hektar geschätzt. Einzelne Subpopulationen in großflächigen Massenvermehrungen von *L. dispar* erreichten Dichten von 250 Larven bis 12,5 Millionen Larven des L<sub>4</sub> je Hektar (CAMPBELL, 1981). In den Versuchen der vorliegenden Arbeit wurden je 10 Larven in Haltungsgefäßen mit einer Oberfläche von 200 cm<sup>2</sup> bis 1570 cm<sup>2</sup> gehalten. Das entsprach ca. 5.100.000 bis ca. 640.000 Larven je Hektar. Die in der eigenen Arbeit verwendeten Haltungsdichten lagen demzufolge in dem Bereich, der für Individuendichten während einer Massenvermehrung von *L. dispar* angegeben wurde.

THOMAS et al. (1995) wiesen eine Dichteabhängigkeit der Transmission von *Metarhizium* sp. (Hyphomycetes) in Heuschrecken und Grashüpfern nach. LONG et al. (2000a & b) zeigten ebenfalls, dass die horizontale Transmission von *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) in *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera, Chrysomelidae) ebenfalls abhängig von der Kadaverdichte und -größe war. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen ebenfalls auf eine Dichteabhängigkeit der Transmission schließen. So wurden in den kleinsten Haltungsgefäßen die höchsten Transmissionsraten erreicht. In den beiden größeren Gefäßtypen waren die

Übertragungsraten signifikant niedriger, unterschieden sich aber nicht voneinander. Das heißt, dass sich eine lineare Abhängigkeit zwischen dem Anteil neuer Infektionen und der Haltungsdichte nicht nachweisen ließ. Auch DWYER et al. (1997) fanden bei ihren Untersuchungen zur Übertragung von *L. dispar*-Kernpolyederviren (NPV) in *L. dispar* Populationen eine nichtlineare Änderung in der Transmission in Abhängigkeit von der Dichte der Kadaver.

In einer früheren Arbeit zur Übertragung von Virusinfektionen in *Orgyia pseudotsugata* (Lepidoptera, Lymantriidae) zeigte Dwyer (1991), dass die Transmission von der räumlichen Verteilung der Kadaver abhing und dass ältere Larven infektiöser waren sowie mit höherer Wahrscheinlichkeit infiziert wurden, da sie mobiler waren und mehr fraßen. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen ebenfalls die Schlussfolgerung zu, dass die Effektivität der Transmission von der räumlichen Verteilung der Infektionsquellen beeinflusst wurde. Es ließ sich zeigen, dass die Transmission von *Nosema* sp. [Schweinfurt] effektiver war, wenn der oftmals sporenhaltige Kot auf der Diät lag. Fiel der Kot dagegen nicht mehr auf die Diät, verblieb aber im Haltungsgefäß und war somit für die Larven erreichbar, waren am Versuchsende weniger Larven infiziert. Daraus lässt sich insgesamt schlussfolgern, dass sowohl die Haltungsdichte als auch der sporenhaltige Kot auf der Diät bei der Übertragung von *Nosema* sp. [Schweinfurt] eine Rolle spielte.

Im Vergleich zu zwei in Bulgarien gefundenen *Nosema*-Isolaten war die Transmission der hier näher untersuchte *Nosema* sp. [Schweinfurt] weniger effektiv und abhängig von der Haltungsdichte war. Mit *Nosema* sp. [Levishte] infizierten sich zwischen 25 % und 33 % der anfangs gesunden Larven, unabhängig von der Haltungsdichte (pers. Mitt. FEUERSTEIN). Zwischen 95 % und 96 % der ursprünglich gesunden Larven infizierten sich – ebenfalls unabhängig von der Haltungsdichte – mit *Nosema* sp. [Veslec]. Unklar ist jedoch, wie *Nosema* sp. [Veslec bzw. Levishte] übertragen wird. Eine sehr effektive Transmission dieser beiden Isolate über Kadaver kann nicht ausgeschlossen werden. Beide Isolate verursachten eine sehr hohe Mortalität, hauptsächlich während des Larvenstadiums bzw. der Puppenruhe (GOERTZ et al., 2002). Dagegen betrug die durch *Nosema* sp. [Schweinfurt] verursachte Larvenmortalität ~ 1,5 %. Des Weiteren liegen kaum Daten vor, die belegen ob und wie häufig Sporen mit der Seide oder dem Kot freigesetzt werden, wenn *L. dispar* Larven mit *Nosema* sp. [Veslec bzw. Levishte] infiziert waren.

#### 4.3.2.2. Erfassung der Latenzperiode und des Zeitfensters für eine horizontale Transmission

Ein weiterer wichtiger Aspekt, der bei der Ausbreitung von Parasiten innerhalb einer Wirtspopulation eine wichtige Rolle spielt, ist die Latenzperiode. Sie wird von JEFFORDS et al. (1987) definiert als die Anzahl von Tagen, welche nach dem Kontakt mit infektiösen Stadien bis zum Erscheinen von Sporen des Parasiten im Körper vergehen. ANDERSON & MAY (1992) definieren als Latenzperiode den Zeitraum von der Infektion eines Individuums bis zum Beginn der infektiösen Periode (siehe 1.2.). Dieser Ansatz wurde in der vorliegenden Arbeit gewählt: Die Latenzperiode endete mit dem Beginn der Abgabe von Sporen. Folgte man der Definition von JEFFORDS et al. (1987), nach der das Ende der Latenzperiode mit dem Erscheinen von Sporen im Zielgewebe des Wirtes erreicht wird, so ist zu beachten, dass es sich nicht zwangsläufig und einfach belegen lässt, dass ab diesem Zeitpunkt die Parasiten auch übertragen werden. Ein einfacher Nachweis der Sporen im Zielgewebe hätte den Tod des Wirtes zur Folge. Für die Ausbreitung des Parasiten in der Wirtspopulation ist es jedoch entscheidend zu wissen, ab wann freie Stadien außerhalb des Wirtes oder seines Kadavers auftreten, da diese den Beginn des Zeitfensters für eine horizontale Transmission markieren. Eine Besiedlung des Zielgewebes des Wirtes hat nicht die sofortige Freisetzung von Sporen zur Folge. So befällt *Vairimorpha* sp. den Fettkörper von *L. dispar* ca. drei bis fünf Tage nach der Infektion (HOCH, 1998) und der Tod trat erst nach mehr als zwei Wochen ein. Eine Freisetzung der Sporen aus dem Fettkörper kann jedoch erst nach dem Tod des Wirtes mit dem Abbau des Kadavers erfolgen.

Erste Dauersporen von *Nosema* sp. [Schweinfurt] treten nach 12–14 Tagen in den Spinndrüsen auf (pers. Mitt. LINDE). Die Latenzperiode endete nach durchschnittlich elf Tagen, was zugleich mit dem durchschnittlichen Beginn der Abgabe von Sporen über den Kot gekennzeichnet ist.

Für die bulgarischen *Nosema*-Isolate wurde eine durchschnittliche Latenzperiode von sieben Tagen für *Nosema* sp. [Levishte] und von acht Tagen für *Nosema* sp. [Veslec] ermittelt (pers. Mitt. FEUERSTEIN). Erste Übertragungen traten bereits nach drei bis fünf Tagen auf, wobei es sich hier um die ursprünglich zur Infektion verfütterten, unverdauten und mit dem Kot wieder ausgeschiedenen Sporen handeln könnte. Bis zu 40 % der täglich exponierten Larven infizierten sich. Nach einer mehrtägigen Unterbrechung wurden die untersuchten *Nosema*-Isolate 11 und 13 Tagen nach der Infektion kontinuierlich übertragen (pers. Mitt. FEUERSTEIN). Insgesamt waren auch hier die beiden bulgarische Isolate sehr viel infektiöser als *Nosema* sp. [Schweinfurt]. Während am Ende der Versuche lediglich 15 % aller verfügbaren *L. dispar* Larven mit *Nosema* sp. [Schweinfurt] infiziert waren, waren es bei den beiden bulgarischen Isolaten 42 % bis 43 % der Wirte. Dies lässt sich zum Teil mit einer höheren Infektiosität dieser Isolate begründen. Dies führte dazu, dass sich mindestens 70 % aller täglich verfügbaren *L. dispar* ab dem 13.

Versuchstag mit einem der beiden bulgarischen Isolate infizierten. Bei dem deutschen Isolat war dies nicht der Fall. Hinzu kommt das frühe Einsetzen der Transmission: 9% bis 11% der insgesamt infizierten *L. dispar* oder bis zu 40% täglich erkrankten bereits während der ersten drei bis sechs bzw. fünf bis acht Tage. Solch eine früh einsetzende Übertragungsphase konnte bei *Nosema* sp. [Schweinfurt] nicht gefunden werden; die Latenzperiode endete erst nach elf Tagen.

Eine Latenzperiode bedeutet auch immer eine Zeitverzögerung in der Ausbreitung der Parasiten in der Wirtspopulation, was die Populationsdynamik des Wirtes beeinflussen kann (ANDERSON & MAY, 1981; BERRYMAN et al., 1987; BRIGGS & GODFRAY, 1995). Verzögert die Latenzperiode die Ausbreitung des Parasiten in der Wirtspopulation, so kann die Entwicklung des Wirtes die Ansteckungsperiode beenden (DWYER et al., 2000), wenn nachfolgende Entwicklungsstadien für eine Infektion nicht mehr zur Verfügung stehen. Dies ist bei der Ausbreitung der Mikrosporidien innerhalb einer Schwammspinnerpopulation der Fall, da erstere sich gewöhnlich nur innerhalb einer Wirtsgeneration ausbreiten, wenn sie von ihrem Wirt aus dessen Umgebung oral aufgenommen werden. Das hat für die Parasiten zur Folge, dass sie sich mit der Verpuppung ihres Wirtes innerhalb dieser Population nicht mehr ausbreiten können.

Die eigenen Simulationsexperimente zeigten deutlich die Bedeutung der Latenzperiode und der Entwicklungsdauer gesunder Larven für die Länge der Ansteckungsphase und die Effektivität der Transmission auf. So hatte eine Verdopplung der Latenzphase bei kurzer Entwicklungsdauer gesunder *L. dispar* eine Reduktion der erfolgreichen Ansteckungen auf  $\frac{1}{7}$  zur Folge. Das Ende der larvalen Entwicklung gesunder *L. dispar* begrenzte den Ausbreitungsprozess der Mikrosporidien bei einer langen Latenzperiode. Wie auch bei DWYER et al. (2000) wurde für eine vollständige Infektion der Wirtspopulation ungefähr die 5fache Zeit der Latenzperiode benötigt. Eine positive Rückkopplung, das heißt, die Übertragung von Mikrosporidien durch exponierte und infizierte *L. dispar*, ist bei kurzer Entwicklungsdauer und langer Latenzperiode zumindest eingeschränkt.

Dies erklärt auch die unterschiedlichen Ergebnisse in den Versuchen zur Effektivität der Transmission. So war am Beginn eines jeden Versuches nicht bestimmbar, wie viel Männchen mit kurzem bzw. wie viel Weibchen mit langem Larvenstadium gemeinsam aufwuchsen. Ebenso wenig war bekannt, ab wann die infizierten *L. dispar* Sporen von *Nosema* sp. [Schweinfurt] abgeben würden. Diese beiden Faktoren bestimmen aber, wie bereits dargelegt, in entscheidendem Maße die Effektivität der Transmission.

Wurden also in den Versuchen zufällig acht zu exponierende männliche Larven für eine Kleinpopulation gewählt, die sich bereits nach 18 oder 20 Tagen verpuppten, und wurden ebenso

zufällig zwei infizierte Larven gewählt, die erst nach 15 Tagen Sporen freisetzen, so reduzierte sich die Länge der Ansteckungsphase auf drei oder fünf Tage. Demzufolge war die Effektivität der Transmission stark reduziert. Wurden jedoch zufällig acht weibliche Larven ausgewählt, die sich erst nach 27 oder 30 Tagen verpuppten, und zwei infizierte Larven, die bereits nach acht Tagen Sporen freisetzen, so verlängerte sich das Zeitfenster für eine horizontale Transmission auf 19 oder 22 Tage. In diesem Fall ist sogar noch eine positive Rückkoppelung möglich, da die Latenzperiode nach spätestens 15 Tagen endete. Es verblieben also noch vier oder sieben Tage, an denen exponierte weibliche Larven, die sich am 1. Tag nach dem Ende der Latenzperiode infizierten, Sporen freisetzen konnten.

Das heißt, diese beiden in diesem Experiment unbekanntem und variablen Parameter und deren Zusammenwirken trugen maßgeblich zum Ausgang dieses Experimentes und zu der gemessenen Effektivität der Transmission bei.

#### 4.3.2.3. Untersuchung der Übertragungswege für eine horizontale Transmission

Die horizontale Transmission ist definiert als die Übertragung der Pathogene/Parasiten von einem Individuum zum nächsten innerhalb einer Generation (STEINHAUS & MARTIGNONI, 1970). Die übliche Art der Ansteckung von Insekten mit Mikrosporidien ist dabei die direkte orale Aufnahme von Sporen mit der Nahrung der Insekten (BECNEL & ANDREADIS, 1999). Dabei stellt sich die Frage, wie Sporen aus den infizierten Larven in die Umwelt entlassen werden, um für eine Kontamination der Nahrung und Ansteckung zur Verfügung zu stehen. Als Hauptwege der Transmission nannten BECNEL & ANDREADIS (1999) die Freisetzung von Sporen über Kadaver und Kot. Erstere Möglichkeit spielt wohl hauptsächlich bei einer Infektion des Fettkörpers eine Rolle (z. B. *Vairimorpha* sp.). Letztere wurde von WEISER (1961) für enterogastrische Mikrosporidien genannt, die während der gesamten Lebensdauer von infizierten Larven abgegeben werden könnten. Als weniger bedeutsame Wege nannten BECNEL & ANDREADIS (1999) die Übertragung von Sporen durch Regurgitation, die Abgabe kontaminierter Seide, das Fressen an Kadavern bzw. moribunden Larven sowie die Übertragung durch Vektoren, wie z. B. Parasitoide. JEFFORDS ET AL. (1987) waren der Meinung, dass die horizontale Übertragung von *Nosema portugal*, beschrieben durch MADDOX et al. (1999), über Seide in *L. dispar* Populationen für diese Art von großer Bedeutung ist. Sie begründeten dies mit der weiten Verbreitung und langen Persistenz von Seide und dem Verhalten der Schwammspinnerlarven, welche Seidenmatten für die Häutung und Rast spinnen bzw. Wegfäden legen, die auch von anderen Larven genutzt werden (CAMPELL, 1975; LEONARD, 1967).

### *Seide*

Als erster möglicher Übertragungsweg wurde die horizontale Transmission über sporenhaltige Seide untersucht. Voraussetzung dafür ist die Infektion der Speicheldrüsen, wie sie bei Lepidopteren oft auftritt (JEFFORDS et al., 1987). Sporen von *Nosema portugal* wurden regelmäßig in der Seide infizierter Schwammspinnerlarven gefunden. Leider machten JEFFORDS et al. (1987) keine Angaben darüber, wie häufig Seide von infizierten Larven abgegeben wurde bzw. ob sich die Abgabe von Seide mit Beginn der Infektion der Speicheldrüsen verringerte.

Die eigenen Untersuchungen deuteten darauf hin, dass die horizontale Transmission über sporenhaltige Seide eine geringe Rolle spielte (Abb. 25). Begründen lässt sich dies mit der reduzierten bzw. stark reduzierten Abgabe von Seide bei beginnendem bzw. vollständigem Befall der Spinndrüsen durch Mikrosporidien. Gaben bis zum 8. Tag nach der Infektion durchschnittlich 60% der Larven täglich Seide ab, so reduzierte sich dieser Anteil nach dem Befall der Spinndrüsen auf 3,9%. Von der abgegebenen Seide waren lediglich 14,3% mit Sporen kontaminiert.

Auch die geringen Erfolge bei der Infektion von Larven über künstlich mit Sporen kontaminierte Seide sprechen dagegen, da nur knapp 5% der Individuen bei Versuchsende infiziert waren. Für eine größere Bedeutung sporenhaltiger Seide bei der horizontalen Transmission sprechen lediglich die relativ hohen Transmissionsraten von bis zu 27%, wenn der Kot als Überträger ausgeschlossen wurde. Allerdings war bei dieser Versuchsanordnung der Kontakt der Larven untereinander und eine Kontamination der Diättoberfläche mit Sporen nicht auszuschließen. Häutungsreste von Larven können als mögliche Infektionsquelle (pers. Mitt. APEL) ausgeschlossen werden, da diese regelmäßig aus den Haltungsgefäßen entfernt wurden. Gleiches gilt für Kadaver. Von 198 ursprünglich infizierten Larven starben ohnehin nur drei Tiere.

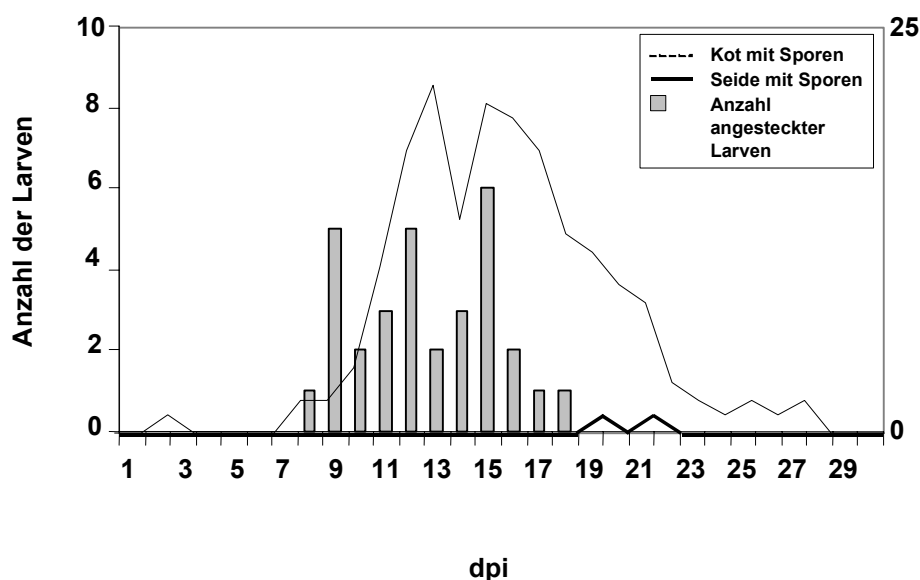
### *Kot*

Die Auswertung der eigenen Versuche zeigte, dass in den durchgeführten Laborstudien insbesondere die Transmission über Kot von Bedeutung war. Wurde dieser als Infektionsquelle ausgeschlossen, sank der Anteil infizierter Individuen um bis zu 58%. Weiterhin ließ sich nachweisen, dass der Kot infizierter Larven ab dem 8. Tag nach der Infektion regelmäßig Sporen enthielt. Lediglich 24% der Larven unterbrachen die Abgabe kontaminierten Kotes für mindestens zwei Tage. Über die Hälfte der Larven setzte dagegen kontinuierlich Sporen mit dem Kot frei. Ebenfalls für eine Transmission über Kot spricht die zeitliche Nähe zwischen der Abgabe von sporenhaltigem Kot und dem Auftreten von Mikrosporidieninfektion bei

exponierten Larven, die für 24 Stunden zusammen mit infizierten Larven gehalten wurden (Abb. 25).

Gegen die besondere Bedeutung dieses Übertragungsweg spricht das Versuchsergebnis zur künstlichen Kontamination von Kot mit  $1 \cdot 10^3$  *Nosema* Sporen. Keines der Versuchstiere infizierte sich bei diesem Versuch. Andererseits liegen eigene Beobachtungen vor, dass mit derselben Dosis eine Infektion mit einem anderen Mikrosporidienisolat (*Nosema* sp. [Schweinfurt]), welches eine höhere Pathogenität aufweist, über künstlich kontaminierten Kot sehr wohl möglich ist.

Eigene Beobachtungen zeigten weiterhin, dass mit dem Kot ausgeschiedene *Nosema* Sporen nicht gleichmäßig im untersuchten Kotkrümel verteilt waren, sondern sich gehäuft an einer Stelle im Präparat befanden. Solch eine Verteilung ist jedoch bei der Applikation von Sporen mit der Pipette nicht zu erreichen. Hier ist davon auszugehen, dass sich die applizierten Sporen gleichmäßig am und im Kotkrümel verteilen und  $1 \mu\text{l}$  Sporensuspension ausreichend ist, um einen Kotkrümel vollständig zu durchfeuchten. Es kann auch davon ausgegangen werden, dass Larven innerhalb von 24 Stunden nicht einen ganzen Kotkrümel fraßen, vielleicht aber innerhalb eines größeren Zeitraumes zufällig einen Teil davon, welcher dann genau das Sporenaggregat im natürlich sporenhaltigen, nicht jedoch im künstlich kontaminierten Kotkrümel, enthielt.



**Abb. 25:** Zeitfenster der horizontalen Transmission und zeitabhängiger Nachweis von Dauersporen im Kot und an der Seide

Weiterhin stand *L. dispar* Larven in den kleinsten Haltungsgefäßen die vierfache Oberfläche je Larve zur Verfügung – im Vergleich zur Situation in den Kleinpopulationen. Das heißt, dass die Wahrscheinlichkeit für einen Kontakt und eine erfolgreiche Übertragung sich verringerte. Dieser Zusammenhang wurde auch durch die Experimente zur Effektivität der Übertragung in Abhängigkeit von der Haltungsdichte verdeutlicht (siehe 4.3.2.1.).

Ferner ist zu beachten, dass in dem Experiment zur Ermittlung des Zeitfensters für eine horizontale Transmission bei einer Überzahl von neun infizierten zu einer nicht infizierten Larve sich insgesamt auch nur 15,7% der exponierten *L. dispar* mit *Nosema* sp. [Schweinfurt] infizierten. Im Experiment zur Ermittlung der Effektivität der horizontalen Transmission in Abhängigkeit von der Dichte infizierten sich dagegen durchschnittlich 40,1% der exponierten Larven bei einem Verhältnis von zwei infizierten zu acht nicht infizierten (exponierten) Larven zu Beginn des Versuches. Während im erstgenannten Experiment nicht infizierte *L. dispar* nur für 24 Stunden mit infizierten Larven zusammen gehalten wurden, befanden sich im zweiten Experiment infizierte und exponierte Larven vom Versuchsbeginn bis zur Verpuppung, also über mehrere Wochen, gemeinsam in einem Haltungsgefäß. Deshalb kann man vermuten, dass auch die Zeitdauer, während der ein Kontakt mit Sporen möglich ist, die Wahrscheinlichkeit für eine Übertragung der Mikrosporidien beeinflusst. Daher kann mit Hilfe dieser Experimente nicht abschließend geklärt werden kann, inwiefern sporenhaltiger Kot eine geeignete Infektionsquelle ist.

### *Simulationsanalysen*

Auch die Simulationsanalysen bestätigten, dass eine Übertragung der Mikrosporidien über Seide für dieses Isolat nicht effektiv ist. Als alleiniger Übertragungsweg hätte dies das Aussterben des Parasiten zur Folge. Die Analysen führten weiterhin zu einer Unterschätzung der in den Laborversuchen erzielten Ergebnisse. Als Begründung für diese Differenz kann wiederum der in den Versuchen nicht auszuschließende Kontakt der Larven untereinander und eine möglicherweise mit Sporen kontaminierte Diättoberfläche genannt werden. Die Simulationsanalysen machten ebenfalls deutlich, dass nur die Abgabe von sporenhaltiger Seide durch infektiöse *L. dispar* im selben Umfang wie die Abgabe von sporenfreier Seide durch gesunde Larven verbunden mit einer hohen Ansteckungswahrscheinlichkeit zu einem dauerhaften Erhalt der Mikrosporidien in der Wirtspopulation führt. Da dies, wie die experimentellen Befunde zeigten nicht gegeben war, ist eine Transmission über Seide kein effektiver Übertragungsmechanismus für die Mikrosporidien, wenn – wie die Laborversuche zeigten – die Seiden-



produktion eingestellt wird, sobald die Spinndrüsen komplett befallen und nicht mehr voll funktionsfähig sind (siehe 3.4.2.3.).

Die Simulationsexperimente deuteten ferner darauf hin, dass sporenhaltiger Kot ein geeigneterer Übertragungsweg ist. Die Abgabe von Kot ist durch die Infektion nicht so beeinträchtigt wie die Abgabe von Seide. Die Gesamttrockenmassen Kot infizierter und nicht infizierter *L. dispar* unterschieden sich nicht. Die Differenzen in den Funktionen, welche die Abgabe von Kot während der Larvalentwicklung beschreiben, hatten einen geringeren Einfluss auf die Effektivität der Transmission als z. B. die Dauer der Latenzperiode oder der Zeitpunkt der Verpuppung. Mit der Variation der zuletzt genannten Parameter war es möglich, die unterschiedlichen Ergebnisse der Laborexperimente nachzuvollziehen. Dies spräche für eine hauptsächliche Transmission der Mikrosporidien über Kot. Andererseits war es aber nicht möglich, die Ergebnisse der Laborexperimente zur experimentellen Infektion über künstlich kontaminierten Kot zu verifizieren. Die Wahrscheinlichkeit der Ansteckung über Kot betrug im Experiment 0 %. Für die Simulationsanalysen bedeutete dies, dass die Wahrscheinlichkeit, sich über sporenhaltigen Kot zu infizieren, den Wert 0 annahm und somit eine Transmission nicht möglich war.

#### **4.4. Wirkung von Dimilin auf eine Mikrosporidien-Infektion**

Im Feld wurden bei einer Bekämpfung 150 g bis 200 g Dimilin je Hektar in einer Spritzbrühe aviotechnisch ausgebracht (SCHAAF & VOIGT, 1996; ZUB et al., 1996). Für die Durchführung der hier dargestellten Versuche wurden 0,65 ng Dimilin/cm<sup>2</sup> Diättoberfläche verwendet. Das war weniger als ein 1 % der im Freiland verwendeten Menge, die eine geringere Mortalität und ein längeres Überleben der *L. dispar* Larven gewährleistete.

Die Applikation von Dimilin in geringen Konzentrationen verhinderte in den Laborversuchen bei einem hohen Prozentsatz von Larven nicht die nächste Häutung. Wurde die letzte Larvenhülle nicht vollständig abgestreift, so führte dies jedoch nicht zu einer hohen Mortalität während des folgenden Larvenstadiums. Individuen, denen es dagegen nicht gelang, die Kopfkapsel abzustreifen, starben noch während des nachfolgenden Larvenstadiums. Dies führte zu stark variierenden Mortalitätsraten zwischen 20% und 100% bei den verwendeten Dimilinkonzentrationen.

Die Auswertung eigener Versuche zeigte, dass Dimilin das Mikrosporidium *Nosema* sp. [Schweinfurt] negativ beeinflusste. Einerseits zeigten sich negative Auswirkungen schon in der ersten Larvengeneration, andererseits sind auch noch Wirkungen über die erste Generation hinaus nachgewiesen. So war bereits die experimentelle Infektionsrate während der ersten

Larvengeneration signifikant reduziert, wenn Dimilin 24 Stunden vor oder nach der Infektion mit *Nosema* sp. [Schweinfurt] verfüttert wurde. Noch stärker war der Effekt, wenn Sporen aus dimilinbehandelten Larven gewonnen und an frisch gehäutete Larven des L<sub>3</sub> verfüttert wurden. Hier sank die Infektionsrate auf bis zu 10 %. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass Dimilin die Etablierung und/oder Entwicklung der Mikrosporidien beeinträchtigte. Diese Folgerung wird auch dadurch unterstützt, dass mit Sporen, die dem Flüssig-Stickstoff entnommen und in Dimilin gewaschen wurden, Infektionsraten von 100 % erreicht wurden. Dies bedeutet jedoch gleichfalls, dass eine Schädigung bereits fertig entwickelter Mikrosporidiensporen nicht stattfand.

Nennenswerte Anzahlen von Larven starben etwa 12 Tage nach der Infektion, also zu einer Zeit, in der erste Dauersporen bereits in den Speicheldrüsen nachweisbar sind. Nach dem Tod der Larven wurden deren Mitteldarm, wo die Entwicklung der Mikrosporidien beginnt, Speicheldrüsen und Fettkörper, soweit vorhanden, auf Sporen kontrolliert. Diese Gewebe der untersuchten Larven waren frei von Dauersporen, Primärsporen oder vegetativen Stadien. Daraus lässt sich schließen, dass eine Entwicklung und/oder Etablierung der Mikrosporidien nicht stattgefunden hatte.

PIERCE et al. (2001) untersuchten die Interaktionen von *Nosema pyrausta* und *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in *Ostrinia nubilalis* und fanden eine um das 70fache reduzierte Sporenmenge von *N. pyrausta*. Daraus schlossen sie, dass gentechnisch veränderter Mais (Bt-Mais), welcher das *Bacillus-thuringiensis*-Toxin exprimiert, einen direkten negativen Effekt auf das Überleben und den Einfluss von *N. pyrausta* als Regulator von *O. nubilalis* Populationen haben kann.

Ein weiteres Argument für die Beeinträchtigung der Entwicklung der Mikrosporidien durch Dimilin sind reduzierte Sporenzahlen dimilinbehandelter Larven im Vergleich zu unbeeinflussten Tieren. Diese Sporenzahlen waren zum Teil auch dann noch verringert, wenn die höheren Wachstumsraten der unbeeinflussten Tiere zu Grunde gelegt wurden. Dies spricht sowohl für eine indirekte als auch eine direkte Beeinträchtigung der Vermehrung und Entwicklung der Mikrosporidien durch die Dimilinbehandlung. Ein indirekter Effekt kann auf Grund der reduzierten relativen Wachstumsraten Dimilin behandelte *L. dispar* Larven während der Larvenstadien L<sub>3</sub> und L<sub>4</sub> angenommen werden, weil die reduzierten relativen Wachstumsraten während des 3. und 4. Larvenstadiums zu einer Limitierung der Ressourcen des Wirtes, welche die Mikrosporidien während ihrer Entwicklung und Vermehrung nutzen würden, führten. Ein direkter Effekt kann angenommen werden, weil trotz Berücksichtigung der reduzierten relativen Wachstumsraten die Sporenmengen dimilinbehandelter Larven in mehreren Fällen niedriger waren.

Dimilin beeinträchtigt die Chitinsynthetase und die letzten Schritte der Chitinbiosynthese. Deshalb ist es plausibel, die reduzierte Anzahl und Infektiosität von *Nosema* Sporen, welche sich in dimilinbehandelten Larven entwickelten, auf Effekte zurückzuführen, die während der beiden getesteten Zeiträume aufgetreten sind. Wenn Larven innerhalb von 24 Stunden vor oder nach einer Infektion mit *Nosema* sp. [Schweinfurt] dimilinkontaminierte Diät verfüttert wurden, könnte die Entwicklung von Primärsporen beeinträchtigt sein. Primärsporen, gemein in terrestrischen und aquatischen Mikrosporidien (SOLTER & BECNEL, 2000) werden als autoinfektiös (IWANO & ISHIHARA, 1991) betrachtet und können nicht außerhalb ihres Wirtes überleben. Sie besitzen aber eine reduzierte Endospore (MADDOX et al., 1999). Die stärkste, signifikante Reduktion der Infektiosität von Sporen trat auf, wenn *L. dispar* Larven sechs Tage nach einer Infektion mit *Nosema* sp. [Schweinfurt] mit Dimilin behandelt wurden, zu einem Zeitpunkt also, bei dem von nahe verwandte *L. dispar* Mikrosporidien bekannt ist, dass sie eine intensive Reproduktions- und Sporenbildungsphase durchlaufen (HENN & SOLTER, 2000). Diese Experimente zeigen jedoch nicht, ob physiologische Änderungen in dimilinbehandelten Larven vegetative Stadien oder die Merogonie der Mikrosporidien beeinflussen könnten.

SKATULLA (1975a, b) zeigte, dass geringe Dimilinkonzentrationen nicht die nächste Häutung verhindern, sondern eher wachstumshemmend wirken. Die Befunde der vorliegenden Arbeit bestätigen dieses Ergebnis. Die relativen Wachstumsraten aller *L. dispar* Larven, denen Dimilin in geringen Konzentrationen verfüttert wurde, waren während des 3. und 4. Larvenstadiums signifikant reduziert. Die alleinige Infektion mit Mikrosporidien führte dagegen nicht zu signifikant reduzierten relativen Wachstumsraten während der larvalen Entwicklungsstadien, wie dies auch für eine nahe verwandte Mikrosporidienart gezeigt wurde (HENN & SOLTER, 2000). Diese Effekte konnten jedoch nicht nachgewiesen werden, wenn Dimilin sechs Tage nach einer Infektion mit *Nosema* sp. [Schweinfurt] verfüttert wurde. Diese Larven häuteten sich 6–7 Tage nach der Infektion zum 4. Larvenstadium, also etwa zu dem Zeitpunkt, an dem Dimilin verfüttert wurde. Weiterhin ist zu beachten, dass die Mortalität dieser *L. dispar* Larven im Vergleich mit allen anderen Individuen reduziert war, denen Dimilin zu einem früheren Zeitpunkt verfüttert wurde. Dieses Teilergebnis lässt sich mit dem höheren Gewicht, welches die zuerst genannten Larven erreicht hatten, bevor ihnen Dimilin verfüttert wurde, begründen. Die fehlenden signifikanten Differenzen der relativen Wachstumsraten während des 5. Larvenstadiums können auf niedrigere relative Wachstumsraten der männlichen Kontrolllarven, welche die Nahrungsaufnahme einstellten und sich verpuppten, und auf höhere relative Wachstumsraten aller *L. dispar*, die mit *Nosema* sp. [Schweinfurt] infiziert und/oder denen Dimilin verfüttert wurden und welche die negative Effekte der früheren Infektion überwunden hatten, zurückgeführt werden.

Die durchschnittlichen Sporenzahlen je mg Larve der nicht mit Dimilin behandelten Larven unterschieden sich um bis zu einer Zehnerpotenz zwischen den verschiedenen Behandlungsansätzen. Diese deutlichen Differenzen sind auf die unterschiedlichen Überlebenszeiten der Larven zurückzuführen. Je älter eine Larve wurde, umso länger konnte sich *Nosema* sp. [Schweinfurt] in ihr vermehren und somit höhere Sporenzahlen erreichen.

Daraus lässt sich insgesamt ableiten, dass Dimilin dieses Mikrosporidienisolat in mehrfacher Hinsicht beeinflusst hat: erstens beeinträchtigt es die Etablierung der Mikrosporidien in ihrem Wirt. Zweitens, gelingt es den Parasiten ihren Wirt zu besiedeln, so vermehren und entwickeln sie sich in ihm nicht optimal und nicht so stark. Hinzu kommt eine verkürzte Lebensdauer des Wirtes durch das Pestizid, was die Sporenbildung ebenfalls einschränkt. Drittens überleben die Sporen bis zum nächsten Frühjahr und werden sie von einer *L. dispar* Larve oral aufgenommen, so ist ihre Fähigkeit ihren Wirt zu infizieren, drastisch reduziert.

Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass die Anwendung von Dimilin nicht nur die langfristige regulative Fähigkeit von Parasiten und Räubern von *L. dispar* beeinflusst (HEYDEN, 1983; RUF & RÖMBKE, 1996; SCHAAF & VOGT, 1996; ZUB et al., 1996) sondern auch den Einfluss von Mikrosporidien als natürliche Antagonisten des Schwammspinners beeinflussen könnte.

#### **4.5. Langfristige Wirkungen eines Mikrosporidienbefalls auf die Populationsdynamik von *Lymantria dispar***

Die Modellierung von Wirt-Parasit/Pathogen-Systemen kann wertvolle Einsichten in die Dynamik dieser Beziehung liefern. So wird zum Beispiel die Ausbreitung durch viele Faktoren, wie die Synchronität von Wirt-Parasit-Populationen, deren räumliche Verteilung, genetische Variablen ebenso wie Zwischen- und Nebenwirte oder Sporentypen bestimmt (ANDREADIS & HALL, 1979; BRIGGS & GODFRAY, 1995; ONSTAD & CARRUTHERS, 1990). Mit Hilfe der Modellierung können wichtige bzw. sensitive Faktoren identifiziert werden, die bisher bei Freiland- oder Laboruntersuchungen kaum beachtet, identifiziert oder nicht gemessen wurden (BRIGGS & GODFRAY, 1995; DWYER, 1994). Weiterhin ist die Modellierung ein praktikabler und kostengünstiger Weg, um umfangreiche Erkenntnisse über die Dynamik von Wirt-Parasit/Pathogen-Systemen zu gewinnen (ONSTAD & CARRUTHERS, 1990).

In strategischen und einfachen Modellen (ANDERSON, 1982) wurden die Eigenschaften dargelegt, die ein Organismus haben sollte, der zur biologischen Schädlingsbekämpfung eingesetzt und einmalig in die Wirtspopulation eingeführt wird. Ein geeigneter Parasit sollte demnach effektiv horizontal als auch vertikal übertragen werden, eine moderate Pathogenität

besitzen und die Fähigkeit haben, das Überleben des Wirtes zu begrenzen. ANDERSON & MAY (1981) zeigten, dass sehr pathogene Parasiten nur in Wirtspopulationen mit hoher Dichte überleben können. BROWN & NORDIN (1982) untersuchten das Wirt-Pathogen-System *Erynia mycosis* (Zygomycotina) und *Hypera postica* (Coleoptera, Curculionidae). BROWN (1984) erweiterte dieses Modell und fand im Gegensatz zur Arbeit von ANDERSON & MAY (1981), dass eine hohe Pathogenität ein stabilisierender Faktor sein könnte.

Eigene Simulationen zeigten, dass eine hohe Mortalität, insbesondere der Larven, zum Aussterben des Parasiten führen kann und sich die gesunde Wirtspopulation in der Folge exponentiell vermehrt. War die stadienspezifische Mortalität der Larven und Puppen dagegen zu gering, vermehrte sich die durchseuchte Wirtspopulation exponentiell. Auch hier führte eine mittlere, nicht zu hohe Mortalität zum geringsten Anstieg in der Wirtspopulation. Dieses Systemverhalten kann folgendermaßen erklärt werden: Voraussetzung für eine effektive Transmission des Parasiten während des Larvenstadiums des Wirtes war das Überleben und nicht der Tod desselben. Eine hohe Puppenmortalität beeinflusste dagegen nicht mehr die Ausbreitung des Parasiten, führte aber zu einer Verringerung der Reproduktion des Wirtes. Dagegen ist z. B. für das Kernpolyedervirus der Tod der infizierten Larve und der Zerfall derselben verbunden mit der Freisetzung von Milliarden Einschlusskörpern günstig für die Ausbreitung der Virose innerhalb einer Wirtsgeneration (FEDERICI, 1993).

Schlüpfen die Wirtslarven nicht nur an einem Tag, sondern über einen längeren Zeitraum, erhöht sich einerseits für die Mikrosporidien der verfügbare Zeitraum für eine Ausbreitung der Infektion um die Anzahl der Schlupftage innerhalb der aktuellen Generation, andererseits ist die Zahl gesunder Larven zu Beginn und am Ende des Larvenstadiums verringert. Dieser verlängerte Schlupfzeitraum allein führte zu einer verringerten Effektivität der horizontalen Transmission. Zusammen mit einer Erhöhung der Larvenmortalität wirkte sich eine steigende Zahl der Schlupftage dagegen positiv aus. Als Folge erhöhte sich langfristig der Anteil infizierter Individuen an der Gesamtpopulation und das Populationswachstum wurde stärker gehemmt. Dies kann wie folgt erklärt werden: Der verlängerte Schlupfzeitraum am Beginn einer jeden Generation führte zu einer anfänglich verringerten Transmission. Demzufolge stieg die Zahl der infizierten Larven nicht so stark, ein höherer Anteil gesunder Larven überlebte und war weiterhin für eine Infektion empfänglich. Dies führte wiederum zu einer höheren Transmission am Ende des Larvenstadiums und insgesamt.

ANDREADIS & HALL (1979) schlossen aus ihren experimentellen und theoretischen Untersuchungen zur transovariellen Transmission von *Amblyospora* sp. in *Culex salinarius* (Diptera, Culicidae), dass diese nicht für ein Überleben des Parasiten in der Wirtspopulation

ausreicht, falls die Fekundität reduziert ist und nicht alle Nachkommen infiziert sind. Auch BRIGGS & GODFRAY (1995) zeigten in einer theoretischen Arbeit, dass Pathogene nicht überdauern können, wenn sie nur vertikal übertragen werden. HOCHBERG (1989) zeigte, dass das Überleben von Pathogenen in besonders geschützten Habitaten, z. B. Kadavern oder dem lebenden Wirt, zu niedrigen und konstanten Wirtsdichten führt, wenn die Pathogene von diesen Habitaten dorthin überführt werden, wo die Transmission stattfindet. REGNIERE (1984) schlussfolgerte aus seinen Untersuchungen, dass Pathogene mit kurzer Überlebensdauer ihrer freien Stadien ihre Wirtspopulationen mit getrennten Generationen regulieren können, solange die Pathogene vertikal übertragen werden und nicht 100% der Nachkommen infiziert sind. DWYER et al. (2000) wiesen im Gegensatz zu ANDERSON & MAY (1981) nach, dass eine relativ geringe Überlebenswahrscheinlichkeit des Kernpolyedervirus ausreicht, um in *L. dispar* Populationen zu überdauern und Populationszyklen hervorzurufen. Sie begründeten dies mit der durchschnittlich höheren Empfänglichkeit der jüngeren Larvenstadien und einer höheren Virulenz gegenüber jüngeren Larven.

Eigene Analysen lassen dieselben Schlussfolgerungen zu. Es konnte gezeigt werden, dass bereits eine relativ geringe Wahrscheinlichkeit, sich am ersten Tag an infektiösen Kadaver der vorangegangenen Generation zu infizieren, ausreicht, um ein dauerhaftes Überleben des Parasiten in der Wirtspopulation zu gewährleisten. Somit wäre dies für *Nosema* sp. [Schweinfurt] ein möglicher Weg, bis zur nächsten Generation zu überdauern und Infektionen hervorzurufen. Voraussetzung für ein langfristiges Überleben ist jedoch auch hier eine effektive horizontale Transmission.

In zahlreichen Arbeiten wurden die Effekte einer Mikrosporidieninfektion auf die Fruchtbarkeit der Wirte untersucht (ANDREADIS & HALL, 1979; BAUER & NORDIN, 1989; BORDAT et al., 1993). BRIGGS & GODFRAY (1995) zeigten, dass eine stark reduzierte Fruchtbarkeit infizierter Wirte zu Populationszyklen derselben führt. Auch die in der vorliegenden Arbeit dargestellten Analysen belegen, dass eine reduzierte Fertilität der Wirte und ein verringerter Schlupferfolg der Nachkommen einen bedeutenden Einfluss auf das Populationswachstum der Wirte haben. ONSTAD & MADDOX (1988, 1990) nahmen in ihre taktischen und sehr komplexen Modellen die Effekte einer Mikrosporidieninfektion auf die Fertilität der Wirte zwar auf, konzentrierten sich jedoch in ihren Analysen auf Grund zeitlicher Limitierungen auf die Virulenz der Mikrosporidien, die Ausbreitung der Sporen und die unterschiedliche Empfänglichkeit der Wirte für eine Mikrosporidieninfektion. Sie zeigten, dass Mikrosporidien in der Lage sind, die Wirtsdichte auf 10% bis 15% der parasitenfreien Populationsdichte zu senken und Populationszyklen oder ein Gleichgewicht hervorzurufen. Mit dem hier genutzten Modell war

eine Reduktion der Populationsgröße auf 30 % in der 2. Generation zu erreichen und es waren über mehrere Generationen betrachtet keine Populationszyklen generierbar. Dies lässt sich jedoch mit den für das Modell einschränkend gewählten möglichen Übertragungswegen erklären. Sowohl die Abgabe von sporenhaltiger Seide als auch von sporenhaltigem Kot setzen das Überleben des Wirtes voraus. Eine horizontale Übertragung der Mikrosporidien durch Kadaver war im Gegensatz zu anderen Modellen in unseren Berechnungen ausgeschlossen. Somit förderte der Tod des Wirtes nicht die Ausbreitung des Parasiten und eine Begrenzung des Populationswachstums wurde vor allem durch eine hohe Mortalität der Puppen und einer reduzierten Fekundität des Wirtes erreicht.