

Linzer biol. Beitr.	50/2	1569-1585	17.12.2018
---------------------	------	-----------	------------

Kälteresistenz des Tomatenschädlings *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae) – die Anwendung von Genetischen Algorithmen bei der Modellentwicklung

Wolfgang TIEFENBRUNNER, Anna MOYSES, Dagmar TIEFENBRUNNER & Andreas KAHRER

A b s t r a c t : *Tuta absoluta*, the tomato leaf miner, is a serious pest of tomatoes that originates from South America and meanwhile lives in Southern Europe in the field as well as in greenhouses in Northern Europe from where it could spread. Thus we performed a study with the aim to analyse the potential of this species to establish under outdoor conditions in Austria and to estimate the risk under the assumption that climate changes.

Mortality of the pupae was determined during exposure to constant or varying low temperatures, respectively. The data of these experiments were used for modelling survival probability p in dependence of temperature, exposure time and individual condition. Due to the recursive relation (the current p depends on the former one) change of p in time is best described by a difference equation. Using this type of equation has the advantage that modelling is possible not only if temperatures stay constant during exposure but also if they vary. The parameters of the difference equation were estimated by a Genetic Algorithm and the quality of the model was validated. The absolute terms estimated for the constant temperature experiment lead to an adequate description of results received by the varying temperature experiments and outdoor observations. Hibernation of *T. absoluta* under outdoor conditions in Austria is at present not possible.

Key words : *Tuta absoluta*; cold resistance, Genetic Algorithms, time-temperature-mortality, survival probability, accumulation model, hibernation.

Einleitung

Durch den modernen, transkontinentalen Waren- und Personenverkehr hat die Faunen-durchmischung eine völlig neue, noch nie da gewesene Größenordnung erreicht. Als Folge breiten sich so genannte "Neozoen"¹ auch in Österreich aus, mit potentiell schwerwiegenden Folgen für Humanpathologie (z. B.: *Aedes albopictus*, die Asiatische Tigermücke, vermag Krankheiten zu übertragen) und Landwirtschaft. Relevante Beispiele für negative Effekte durch Neozoen auf Agrarkulturen sind *Scaphoideus titanus* (Amerikanische Rebzikade), *Stictocephala bisonia* (Büffelzikade), *Orientus ishidae* (Mosaikzikade) und *Drosophila suzukii* (Kirschessigfliege), sowie *Harmonia axyridis*, der Asiatische Marienkäfer. Diese Beispiele stammen aus dem Wein- und Obstbau;

¹ Tiere, die in einem bestimmten Gebiet nicht indigen sind und mithilfe des Menschen nach 1492 n. Chr. (dem Jahr der Entdeckung Amerikas) dorthin gelangten und hier ohne menschliche Hege leben oder gelebt haben; ESSL & RABITSCH 2002, verändert. Siehe auch KOWARIK 2010.

andere Kulturen sind ebenso betroffen. Zweifellos sind dies nicht die letzten tierischen Immigranten mit Bedeutung für die Landwirtschaft. Viele Neozoen stammen aus Ländern mit deutlich wärmerem Klima und es ist fraglich, ob sie sich dauerhaft an die hiesigen Bedingungen anpassen können. Es ist daher vorteilhaft, eine Möglichkeit zu haben, diese Frage zu untersuchen.

Für die Beantwortung ist es entscheidend, den Temperaturbereich, in dem von 0% zu 100% der Individuen einer Population sterben, zu bestimmen. Insbesondere ist es weiters auch wichtig zu erfahren, wie viele Tiere bei welcher Temperatur überleben werden, also die Überlebenskurve (oder Sterbekurve) zu determinieren. SINCLAIR et al. 2015 schlagen als ihrer Meinung nach beste Vorgehensweise eine logistische Regression vor (siehe dazu aber auch die kritischen Ansichten von NEDVĚD et al. 1998 bezüglich Regressionsvoraussetzungen), also bei einem Versuch mit konstant gehaltenen Temperaturstufen eine Anpassung an die Kurve:

$$\text{Relative Anzahl Überlebender} = 1/(1+\exp(a+b*\text{Expositionsdauer}+c*\text{Temperatur})) \quad (\text{Gl. 1})$$

(oder vergleichbar), wobei die relative Anzahl Überlebender der Anteil an den anfangs vorhandenen ist und zwischen 0 und 1 liegt (der Wert kann auch als Überlebenswahrscheinlichkeit des einzelnen Individuums interpretiert werden). Problematisch ist diese Vorgehensweise bezüglich der Anfangswerte, da, wie man leicht erkennen kann, auch für eine Expositionsdauer von 0 der für die relative Anzahl Überlebender erwartete Wert von 1 nicht erreicht werden kann (Gl. 2).

$$\text{Relative Anzahl Überlebender} = 1/(1+\exp(a+c*\text{Temperatur})), \quad (\text{Gl. 2})$$

wie man auch an Abb. 1 sieht.

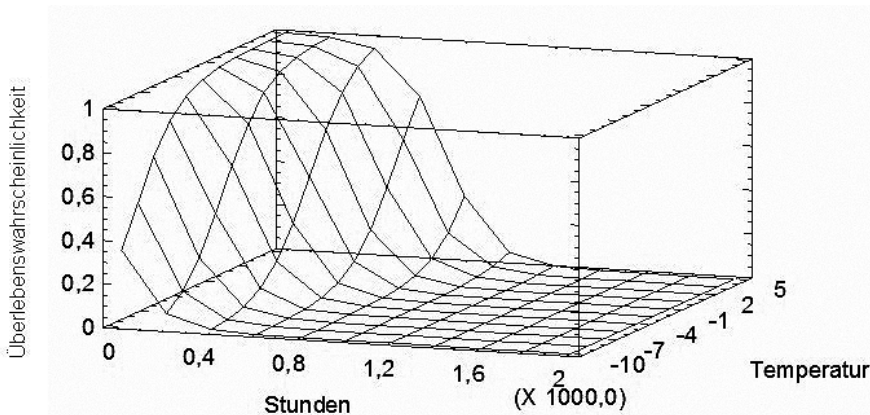


Abb. 1: Überlebenslandschaft, erworben durch Anpassung der Versuchsdaten (konstante Temperaturen) an eine logistische Funktion (Gl. 1). Man sieht bei niedrigen Temperaturen deutlich die Abweichung vom Wert 1 für eine Expositionsdauer von 0.

Verschiedene andere sigmoide Funktionen sind in Gebrauch (z. B. Weibull, Gompertz, etc.), wobei die Anpassung mit Anzahl der Gleichungskonstanten natürlich immer besser wird; ein Vorteil, der allerdings dadurch mehr als ausgeglichen wird, dass diese Parameter nicht mehr interpretierbar sind. STROUSTRUP et al. (2016) berichten über eine sehr interessante Beobachtung, nämlich dass verschiedene Stressfaktoren und -intensitäten zu

ähnlichen Mortalitäts- oder Überlebenskurven führen, die sich durch Zeitskalierung ineinander überführen lassen. Die Untersuchungen wurden an zehntausenden *Caenorhabditis elegans*-Individuen (Rhabditida: Nematoda) durchgeführt. Dieses Verfahren erlaubt es auch, das Problem der Anfangswerte zu umgehen. Sie verwenden Funktionen mit bis zu drei "freien" Konstanten (= zu schätzende Parameter). Neben Expositionsdauer und Temperatur kann auch noch die Abkühlungsrate eine Rolle für das Überleben spielen (BALE et al. 1989).

Das Ziel von Untersuchungen zur Kälteresistenz kann darüber hinaus gehen, Aussagen über konstante Temperaturen zu treffen. Schließlich will man mit den Modellen letztlich feststellen können, in welchem Ausmaß die Individuen, die wechselnden Temperaturen ausgesetzt sind (z. B. Freilandbedingungen), imstande sind zu überleben. Verschiedene Vorschläge sind zur zeitlichen (stündlichen) Akkumulation von Mortalitätswerten gemacht worden (NEDVĚD 1998, KALIYAN et al. 2007, etc.). In jedem Fall setzt die Vorgehensweise voraus, dass die Differenzen- oder Differentialgleichung zu jener Funktion gefunden wird, die die Mortalität in Abhängigkeit von Expositionszeit und -temperatur beschreibt.

Wir entwickeln in der vorliegenden Arbeit eine alternative Vorgehensweise: Die Änderung der Überlebenswahrscheinlichkeit p in der Zeit wird von vornherein durch eine Differenzgleichung dargestellt, wobei der Wert zu Versuchsbeginn ($t=0$) mit $p_{t=0}=1$ festgelegt wird. Dadurch sind keine mühseligen Gleichungs-Manipulationen mehr erforderlich. Die Anpassung kann nicht durch nichtlineare Regression erfolgen. Stattdessen wurde zur Schätzung der Konstanten ein einfacher Genetischer Algorithmus modelliert – die Anpassung resultierte also aus einem Prozess der Quasievolution. Dessen Flexibilität erlaubt eine Konstantenschätzung auch bei dynamischem (variablem) Temperaturverlauf im Experiment, falls genug Daten vorliegen.

Die Methodenentwicklung erfolgte an der Tomatenminiermotte. *Tuta absoluta* ist eine Kleinschmetterlingsart, die hauptsächlich Tomatenpflanzen schädigt. Sie stammt ursprünglich aus Südamerika, wo sie als wichtigster Schädling an Tomatenkulturen eingestuft wird. Durch die versteckte Lebensweise der adulten Schmetterlinge und der minierenden Larven sowie ihr enorm hohes Vermehrungspotential ist *T. absoluta* ein schwer zu kontrollierender Schädling. Das höchste Risiko der Einschleppung in Nichtbefallsgebiete erfolgt durch den Import von Tomatenfrüchten, Jung- und Zierpflanzen der Familie Solanaceae aus Befallsgebieten sowie deren Verpackungs- und Transportmaterial. Die Art ist in Südeuropa im Freiland bereits etabliert und kommt auch im nördlicheren Europa in Glashäusern vor.

Die Miniermotte benötigt für ihre Entwicklung eine Mindesttemperatur von 9°C. In Glashäusern kann *T. absoluta* in allen Stadien überwintern. Die Frage ist, wie lange insbesondere die Puppen auch unterhalb von 9°C überdauern können und ob die Art daher auch im Freiland überwinterrungsfähig ist, falls in Europa die Wintertemperaturen weiter ansteigen sollten.

Labor- und Freilandversuche

Als Basis für die Untersuchung wurden Puppen von *T. absoluta* in verschiedenen Versuchsserien im Labor und Freiland relativ tiefen Temperaturen ausgesetzt. Die Tiere stammen aus einer Zucht, die seit 2012 besteht, als es in Wien (Österreich) zu einer

Massenvermehrung in Glashäusern gekommen war. Gewählt wurde das Puppenstadium, weil es sich bei vorangehenden Experimenten als am kälteresistentesten herausgestellt hatte (siehe aber VAN DAMME et al. 2015). Junge Puppen sind durch die transparente Cuticula, grüne Färbung und ein deutlich sichtbares, zentrales Augenpigment gekennzeichnet. Später erscheinen die Augen dunkel. Nur junge Puppen mit ausgehärteter Cuticula und gerade sichtbarem, hexagonalem Pigmentmuster (rote Punkte) auf den Komplexaugenanlagen wurden für die Versuche herangezogen. Vor dem eigentlichen Versuchsbeginn wurden sie für 14 Tage bei einer Temperatur von 6°C gehalten, um Kälteadaptation auszulösen ("cold hardening") und anschließend in vier bis fünf Chargen pro Versuchsserie zu je 25 bis 90 Individuen unterschiedlichen Versuchsbedingungen ausgesetzt. Individuen wurden nur dann als überlebend gewertet, wenn sie normal schlüpfen, sich von der Exuvie lösten und auch die Flügelausbreitung normal vollziehen konnten.

Versuchsserie 1 (konstante Temperaturen): die Temperatur wurde konstant gehalten. Untersucht wurde die Überlebensfähigkeit im Bereich von 4°C bis -10°C (in zwei Grad Schritten). 6677 Individuen wurden insgesamt verwendet.

Versuchsserie 2 (zyklische Temperaturänderung; schneller Zyklus): die Temperaturen schwankten in einem Zeitraum von 24 Stunden zwischen 0°C und -8°C. Der Temperaturverlauf änderte sich nicht kontinuierlich. Auf ein Plateau von 0°C über acht Stunden erfolgte über vier Stunden eine langsame Temperatursenkung auf -8°C, wobei diese Temperatur über acht Stunden beibehalten wurde, um hernach über vier Stunden wieder auf 0°C gesteigert zu werden. Der Versuch wurde 22 Tage lang mit insgesamt 13000 Puppen durchgeführt.

Versuchsserie 3 (Kältesee; langsamer Halbzyklus): die Temperatur wurde langsam, in einem Zeitraum von etwa 180 Stunden kontinuierlich von 6°C auf -8°C reduziert. Nach etwa 200 Stunden wurde die Temperatur langsam wieder erhöht. 3578 Individuen wurden verwendet.

Versuchsserie 4 (Freiland): An recht unterschiedlichen Standorten wurden *T. absoluta*-Puppen im Freiland den im Herbst bzw. Winter vorherrschenden Temperaturen ausgesetzt. Ein Standort liegt in der Ebene in Wien, der andere am Berg Rax in 1547 m Höhe. Beide befinden sich in unmittelbarer Nähe zu einer Wetterstation mit Online-Zugang. 3029 Individuen wurden untersucht.

Entwicklung eines Modells zur Kältemortalität

Die Sterbe- bzw. Überlebenswahrscheinlichkeit in Abhängigkeit von Temperatur und Expositionsdauer soll ermittelt werden, wobei von Anfang an Differential- bzw. Differenzgleichungen bezüglich der Änderung in der Zeit (als sich kontinuierlich ändernde Größe) Verwendung finden sollen. Ausgangspunkt ist eine einfache Annahme, nämlich dass die Änderung der Individuenanzahl Δx im Zeitintervall Δt von der Anzahl der Individuen x zu dem diesem Intervall vorangehenden Zeitpunkt t abhängt. Das führt zu folgender Differenzen- bzw. Differentialgleichung:

$$\Delta x / \Delta t = -rx \quad (\text{diskret}), \quad \text{bzw.:} \quad dx / dt = -rx \quad (\text{stetig}), \quad (\text{Gl. 3})$$

r ist ein temperaturabhängiger Parameter [$r=f(T)$], der bestimmt, wie groß die relative Sterblichkeit im Zeitintervall ist. Wenn man weiters voraussetzt, dass sich die Individuen innerhalb des Versuchs gegenseitig nicht beeinflussen, kann der Anteil der Überlebenden x_t/x_0 auch als Wahrscheinlichkeit des Einzelnen zu überleben interpretiert werden:

$$p_t = x_t/x_0, \text{ mit } 0 \leq p_t \leq 1, \quad (\text{Gl. 4})$$

Aus Gl. 3 und Gl. 4 folgt dann:

$$\Delta p/\Delta t = -rp \text{ (diskret)} \quad dp/dt = -rp \text{ (stetig)} \quad p_0=1 \quad (\text{Gl. 5})$$

Die Überlebenswahrscheinlichkeit p_t zum Zeitpunkt t ist beispielhaft durch die Exponentialkurve (Abb. 2) gegeben.

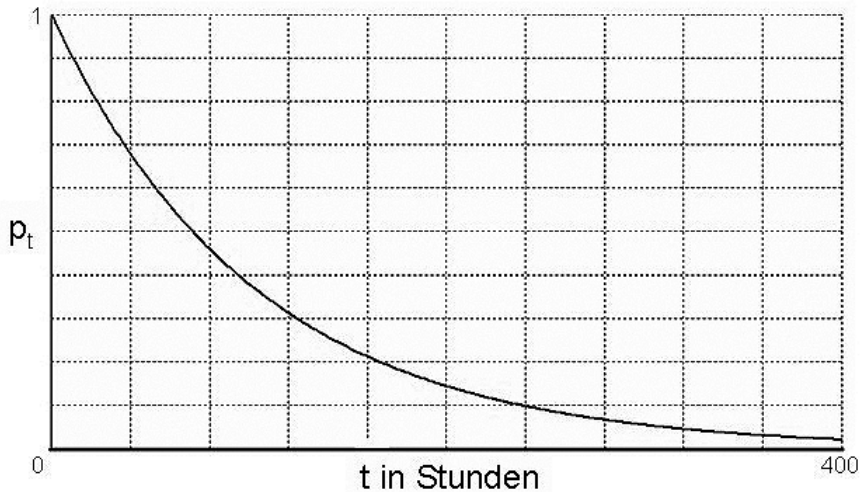


Abb. 2: Überlebenswahrscheinlichkeit p_t zum Zeitpunkt t nach Gl. 5.

Da die Differenzen- bzw. Differentialgleichung 5 lösbar ist, kann man hier ohne weiteres zur klassischen Vorgehensweise wechseln, wie im Folgenden gezeigt werden soll. Wir lösen Gl. 5:

$$p_t = (1-r)^t \text{ (diskret)}, \quad \text{bzw. } p_t = e^{-rt} \text{ (stetig)} \quad (\text{Gl. 6})$$

Für $t=0$ ist $p_0=1$, wie gefordert. Zwei Parameter von Gl. 6 können empirisch erschlossen werden, nämlich die unabhängige Größe: Zeit t seit Versuchsbeginn und die abhängige:

relative Anzahl x_t/x_0 der Überlebenden, die eigentliche Messgröße, aus der sich nach Gl. 4 p_t ergibt. Solche Wertepaare existieren für alle Versuche, und zwar für jede Wiederholung genau eines, weil ja die Überprüfung, ob ein Individuum überlebt hat, erst nach dem Schlupf des Tieres möglich und damit ein "Herausnehmen und Zurücklegen" nicht ausführbar war. Aus den empirischen Daten kann ein Schätzwert für r gefunden werden. Dazu muss man zunächst Gl. 6 nach r umformen:

$$r=1- p_t^{1/t} \text{ (diskret)} \quad \text{bzw: } r=-(1/t) \ln p_t \text{ (stetig)} \quad (\text{Gl. 7})$$

Für die Auswertung kommt hier nur Versuchsvariante 1 (konstante Temperaturen) in Frage. Für jede Temperatur liegen viele Wiederholungen vor, wobei solche nicht verwendet wurden, bei denen kein Individuum überlebt hatte (es verblieben z. B. bis zu 27 bei -4°C). Da es sich bei r um einen Ratenparameter handelt, ist es sinnvoll für die anschließende Regression das geometrische Mittel und nicht wie sonst üblich das arithmetische zu verwenden. Die resultierenden Werte sind in Tab. 1 dargestellt.

Tab. 1: Schätzwerte für die Sterberate $r=f(T)$ aus Versuchsserie 1 (konstante Temperaturen). Dargestellt sind die geometrischen Mittel aus den Versuchswiederholungen. Obwohl den diskreten und stetigen r sehr unterschiedliche Gleichungen zugrunde liegen, sind die Werte überaus ähnlich.

Temperatur in $^\circ\text{C}$	Geometrischer Mittelwert	
	c stetig	c diskret
-10	0,02606	0,02567
-8	0,00951	0,00945
-6	0,00475	0,00474
-4	0,00344	0,00343
-2	0,00234	0,00233
0	0,00209	0,00209
2	0,00198	0,00198
4	0,00200	0,00200

" r diskret" und " r stetig" sind sehr ähnlich, weshalb nur mehr ein Ansatz, nämlich der diskrete, verfolgt werden soll.

Als nächstes ist eine Funktion gesucht, die die r -Werte verbindet. Nach Gl. 5 gilt für $r=0$, dass sich p nicht ändert, während für $r=1$ die Überlebenswahrscheinlichkeit p nach dem Zeitintervall null wird. Anzunehmen ist also, dass, wie in Abb. 3 hypothetisch dargestellt, die temperaturinduzierte Sterberate trogförmige Gestalt hat: im Komfort-Temperaturbereich der Art ist sie äußerst gering und bleibt so über einen großen Bereich, um dann, im Rand-Temperaturbereich – also bei sehr hohen und tiefen Temperaturen – sehr rasch anzusteigen und den Wert 1 zu erreichen. D.h. dann sterben alle Individuen.

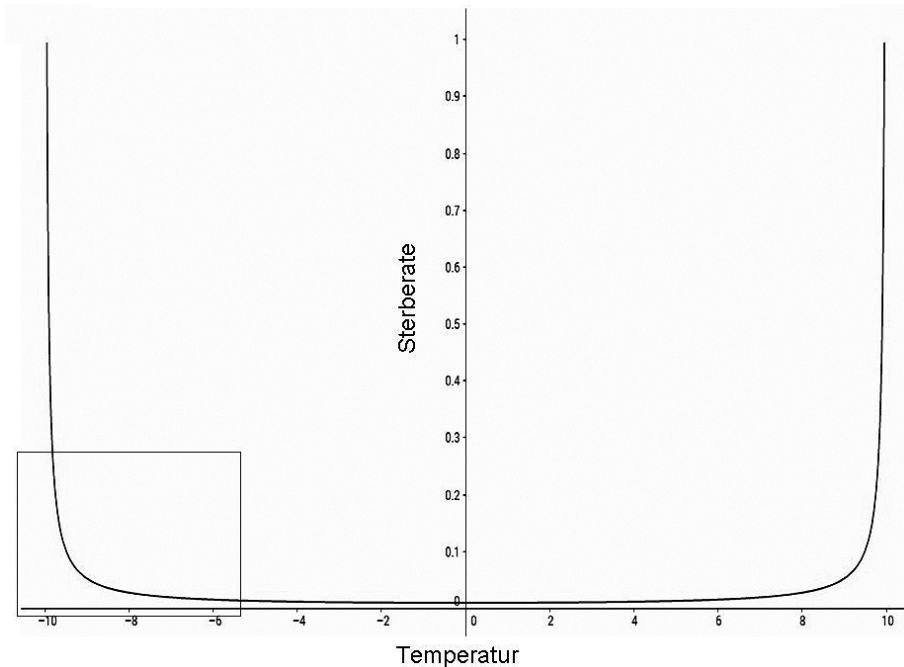


Abb. 3: Sterberate in Abhängigkeit von der Temperatur für ein hypothetisches Lebewesen

Sofern es um die Kältemortalität geht, ist der Niedrigtemperaturbereich bzw. -rand (in Abb. 3 hervorgehoben) besonders interessant. Die Funktion, die die r -Werte verbindet, sollte in etwa die Gestalt des markierten Ausschnittes der trogförmigen Funktion in Abb. 3 haben, weil die Überlebenswahrscheinlichkeit umso schneller sinkt, je größer der Betrag von r ist. Für diesen kleinen Teil des Bereichs sollte eine Hyperbel eine gute Näherung sein, woraus z. B. folgt:

$$r=1/(a(b+T)) \quad (\text{Gl. 8})$$

a und b müssen ermittelt werden, wozu ein Verfahren der klassischen Statistik verwendet werden kann. Die Anpassung wurde mittels nichtlinearer Regression (Statgraphics Centurion Version XV; Statpoint Inc., U.S.A.) durchgeführt (Abb. 4). Das Bestimmtheitsmaß und damit die Qualität der Anpassung ist hoch ($R^2=0,997$). Verwendet wurde die in Tab. 1 als "r diskret" bezeichneten Werte.

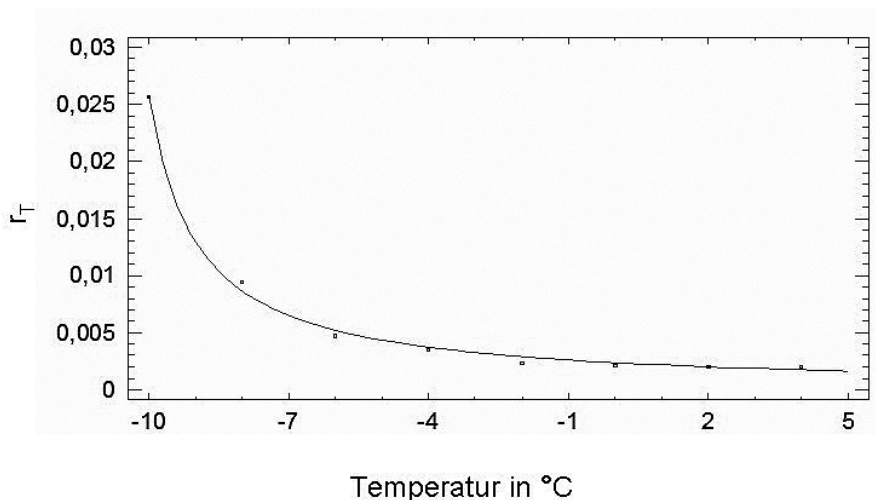


Abb. 4: Sterberate r in Abhängigkeit von der Temperatur (-10 $^{\circ}\text{C}$ bis 4 $^{\circ}\text{C}$)

Alle Punkte liegen offenbar tatsächlich näherungsweise auf einer Hyperbel mit den Konstanten:

$$a = 38,3519; b = 11,0134.$$

(Es ergeben sich etwas andere a und b , wenn man die r direkt eingibt statt deren geometrisches Mittel und so die Regression durchführt, was wegen der Werteverteilung – r ist eine Ratenkonstante – aber nicht vorteilhaft ist).

Gl. 5 nimmt eine exponentielle Abnahme der Überlebenswahrscheinlichkeit im Laufe der Zeit an (Abb. 2). Zahllose Versuche haben aber gezeigt (CASAGRANDE & HAYNES 1976, BROKERHOF et al. 1992, Butts & Schalje 1997, NEDVĚD et al. 1998, BÜRGI & MILLS 2010, STROUSTRUP et al. 2016, etc.), dass der Verlauf de facto sigmoid ist, wie in Abb. 5 dargestellt. Um dies zu berücksichtigen und damit die Qualität des Modells zu erhöhen, sei eine weitere Annahme formuliert:

Die Sterberate r sei nicht nur eine Funktion der Temperatur sondern auch der Überlebenswahrscheinlichkeit p , die ja auch ein Maß für die Konstitution des Individuums sein kann: $r=f(p,T)$. Temperaturstress soll sich also auf Tiere mit bereits geschwächter Konstitution stärker auswirken.

Die Form der sich aus dieser Annahme ergebenden Kurve kann nicht a priori abgeschätzt werden. Also kann man den einfachsten Fall wählen. Das wäre dann ein linearer Zusammenhang, sodass für ein großes p ein niedriger Wert für r vorliegt und umgekehrt. Dies lässt sich leicht durch Minimum-Maximum-Skalierung erreichen:

$$1-p = (r-r_{\min})/(r_{\max}-r_{\min}), \quad (\text{Gl. 9})$$

wobei $r=f(p,T)$ und $r_{\min}, r_{\max}=f(T)$. Gl. 9 lässt sich nach r umformen und nach einigen Rechenschritten erhält man:

$$r=r_{\max}-p(r_{\max}-r_{\min}). \quad (\text{Gl. 10})$$

r_{\max} und r_{\min} sind nach Gl. 8 gegeben durch:

$$r_{\max} = 1/(a_1(b_1+T)) \quad (\text{Gl. 11})$$

$$r_{\min} = 1/(a_2(b_2+T)) \quad (\text{Gl. 12})$$

Durch Einsetzen von Gl. 10 in Gl. 5 erhält man schließlich:

$$\Delta p/\Delta t = -p (r_{\max}-(r_{\max}-r_{\min})p) \quad p_0=1 \quad (\text{Gl. 13})$$

Der Kurvenverlauf ist sigmoid (Abb. 5), was kein Wunder ist, denn Gl. 13 ist offensichtlich eine logistische Differenzgleichung. Gl. 13 hat damit eine explizite Lösung, für die allerdings die Anfangsbedingung $p_0=1$ (die Überlebenswahrscheinlichkeit zum Zeitpunkt 0 sei 1) nicht gegeben ist, wie bereits in der Einleitung erwähnt. Da wir die Forderung $p_0=1$ aber stets voraussetzen, existiert keine Lösung und wir können nur noch mit der Differenzgleichung arbeiten, für die sich keine Einschränkung, die Anfangsbedingungen betreffend, ergibt.

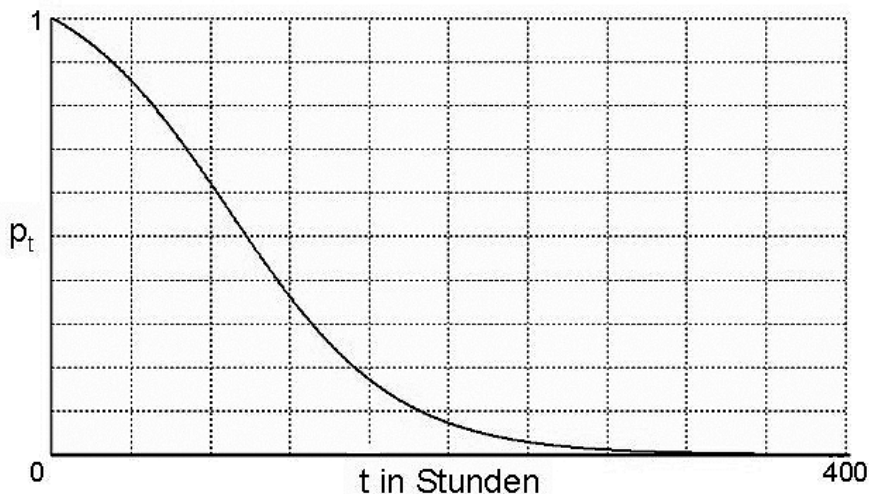


Abb. 5: Überlebenswahrscheinlichkeit p_t zum Zeitpunkt t (sigmoider Verlauf) nach Gl.13.

Da keine Lösung der Differenzgleichung mit der Bedingung $p_0=1$ existiert, können wir die zu schätzenden Parameter a_1 , b_1 , a_2 , b_2 nicht mittels Regression annähern. Es gibt aber andere heuristische Approximationsverfahren, z.B. Simulated Annealing oder Genetische Algorithmen. Um das Problem zu lösen wurde ein einfacher Genetischer Algorithmus konstruiert (mit der IDE Delphi 7-Aurora, Object Pascal, Borland, USA): 100 Individuen, deren Genom aus den zu schätzenden Parametern bestand, bildeten die Population, die für 100 Generationen einem Evolutionsprozess ausgesetzt wurden. Kriterium der Fitness als Basis der Selektion war die Fehlerquadratsumme, die für jedes der Individuen bestimmt wurde, indem die aus Gl. 13 ermittelten p_t -Wertepaare mit den empirischen verglichen wurden. Mutationen erfolgten Gauss-verteilt, wobei nur das fitteste Individuum Nachkommen hatte. Eines davon hatte einen zum Elter identischen Genotyp, alle anderen waren mutiert. Eine günstige Standardabweichung für die Gaussverteilung und damit die durchschnittliche Schrittweite einer Mutation wurde in Vorversuchen gewählt.

Tabelle 2: Schätzwerte für die Parameter aus Gl. 11 und Gl. 12 für verschiedene Versuchsserien.

	a_1	b_1	a_2	b_2
konstante Temperaturen	18,85	11,08	83,54	11,07
zyklische Temperaturänderung	12,34	10,92	85,77	21,79
Kältesee	7,29	11,27	81,08	31,09
Freiland	20,68	10,75	99,7	21,91

Mithilfe der Werte für die Parameter a_1 bis b_2 für konstante Temperaturen (Tab. 2, oberste Zeile) und Gl. 10 kann man die Sterberate r in Abhängigkeit von p und T ermitteln (Abb. 6 links), bzw. mit Gl. 13 die Überlebenslandschaft: p in Abhängigkeit von t und T (Abb. 6 rechts; im Gegensatz zu Abb. 1 hier zweidimensional dargestellt).

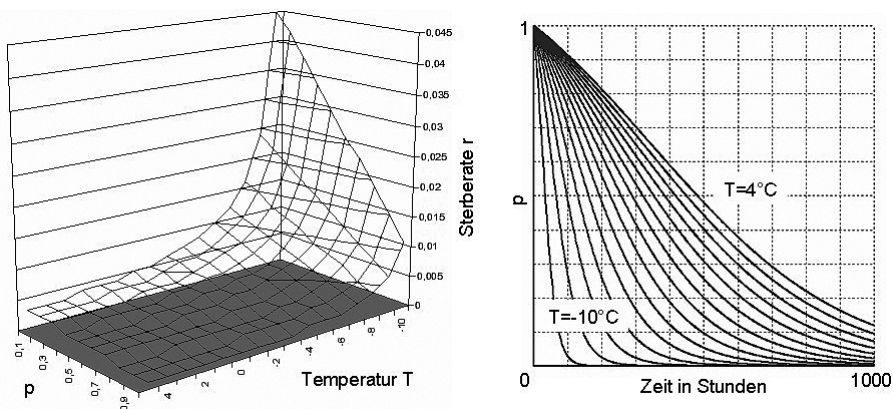


Abb. 6: Sterberate r in Abhängigkeit von p und T (links) und Überlebenslandschaft: p in Abhängigkeit von t und T von -10°C bis 4°C , dargestellt in ein Grad Schritten (rechts).

Wie erwartet, ist die Sterberate (Abb. 6 links) bei niedrigen Temperaturen besonders dann sehr hoch, wenn die Überlebenswahrscheinlichkeit ohnehin schon niedrig ist, also bei geschwächter Konstitution.

Kann man mit einem Modell, das für konstante Temperaturen entwickelt wurde, Rückschlüsse auf die Kälteresistenz der Spezies bei wechselnden Temperaturen ziehen? Um diese Frage zu beantworten, wurden die empirischen Wertepaare t, p_t (=beobachtet) den mit dem Modell für konstante Temperaturen kalkulierten (=erwartet) gegenübergestellt (Abb. 7). Im Idealfall sollten die Werte gleichmäßig um die Gerade $p(\text{erwartet}) = p(\text{beobachtet})$ streuen. Dies ist jedoch nicht der Fall, es kommt zu systematischen Abweichungen. Diese sind zudem noch schwer interpretierbar, weil ein großes p einerseits Folge einer kurzen Expositionszeit als auch der Exposition mit einer hohen Temperatur sein kann (oder von beidem). Beim Versuch 2 mit zyklischer, täglicher Temperaturänderung (Abb. 7a) liegen bei relativ hohem p die vom Modell mit konstanten Temperaturen erwarteten Werte zu niedrig, bei kleinem p zu hoch. Beim langsamen Halbzyklus (Versuchsserie 3) sind die erwarteten p fast immer zu hoch, es sterben also mehr Tiere als vom Modell vermutet. Im Freiland ist die Situation gerade umgekehrt.

- a: Temperaturverlauf zyklisch
Modell: konstante Temp.
b: Temperaturverlauf Kältesee
Modell: konstante Temp.
c: Temperaturverlauf Freiland
Modell: konstante Temp.

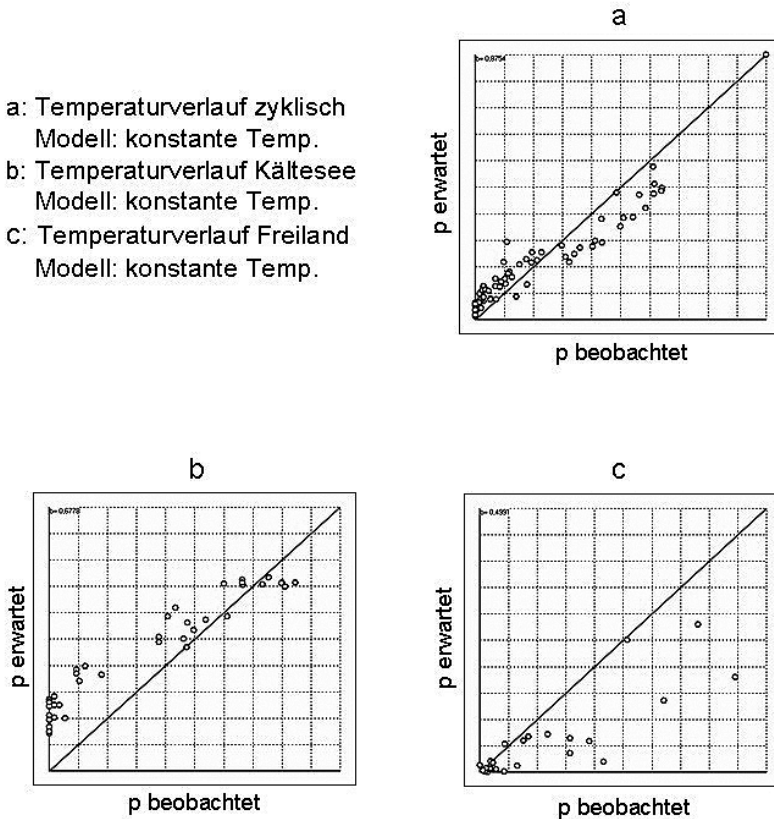


Abb. 7: Die empirischen Werte für p_t (=beobachtet) bei den Modellen mit Temperaturänderung werden den mit dem Modell für konstante Temperaturen kalkulierten (=erwartet) gegenübergestellt. b: Bestimmtheitsmaß.

Die Verwendung Genetischer Algorithmen und von Differenzengleichungen haben den Vorteil, dass man die Schätzung der freien Parameter nicht nur für den Versuch 1 mit konstanten Temperaturen, sondern auch für die Versuche mit sich während der Verlaufs ändernden Temperaturen durchführen kann (Tab. 2). Man kann dann die beobachteten p_t und die vom dazugehörigen Modell für den gleichen Zeitpunkt t kalkulierten p_t gegenüberstellen (Abb. 8)

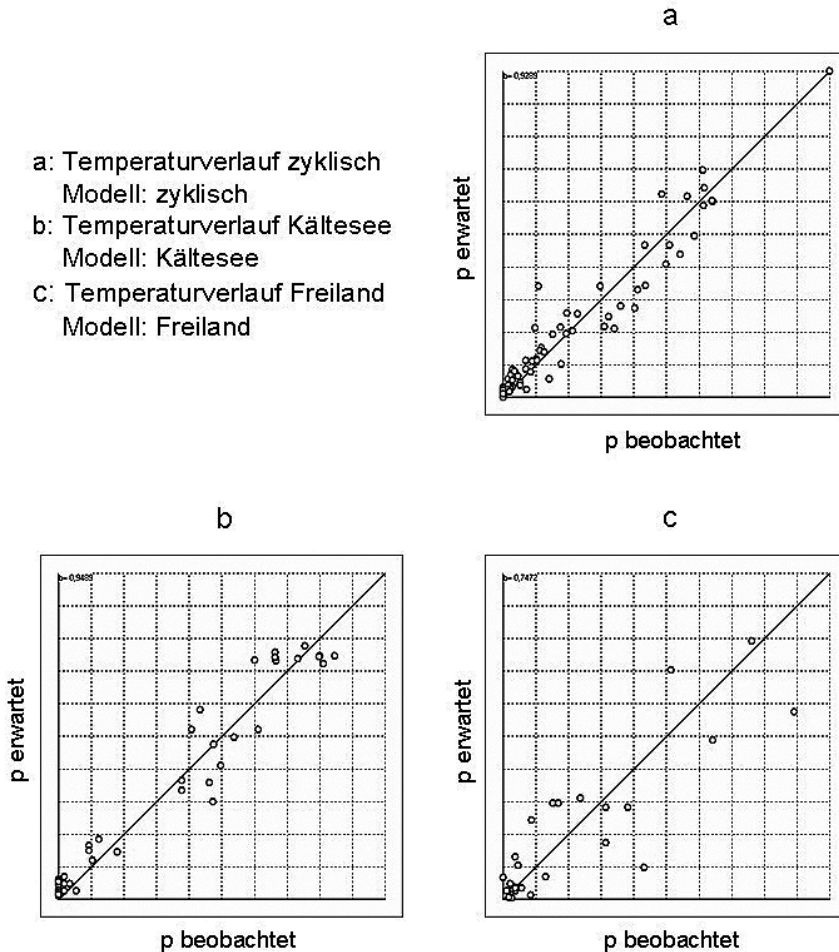


Abb. 8: Für die Modelle mit Temperaturänderung wurden die empirischen Werte für p_t (=beobachtet) den kalkulierten (=erwartet) gegenübergestellt. b: Bestimmtheitsmaß.

Der systematische Fehler ist hier größtenteils korrigiert, die Werte streuen um die Achse $p(\text{beobachtet}) = p(\text{erwartet})$. Die Bestimmtheitsmaße, die angeben, wie gut das Modell die beobachtete Situation erklären kann, sind ebenfalls deutlich höher. Damit aber bietet sich eine wesentlich bessere Möglichkeit zu untersuchen, wo genau das Modell für konstante Temperaturen zu fehlerhaften Aussagen führt, wenn man es auch auf Situationen

anwendet, bei denen die Temperaturen nicht konstant sind. In Analogie zu Abb. 6 ermittelt man für alle Versuchsvarianten die Sterberate r in Abhängigkeit von p und T und vergleicht sie dann mit jener des Modells mit konstant gehaltener Temperatur (Versuchsserie 1), indem man die Differenz der Werte für r bildet ($\Delta r = r(\text{Modell mit variablen Temperaturen}) - r(\text{Modell für konstante Temperaturen})$).

Zyklische Temperaturänderungen im Tagesverlauf (Versuchsserie 2):

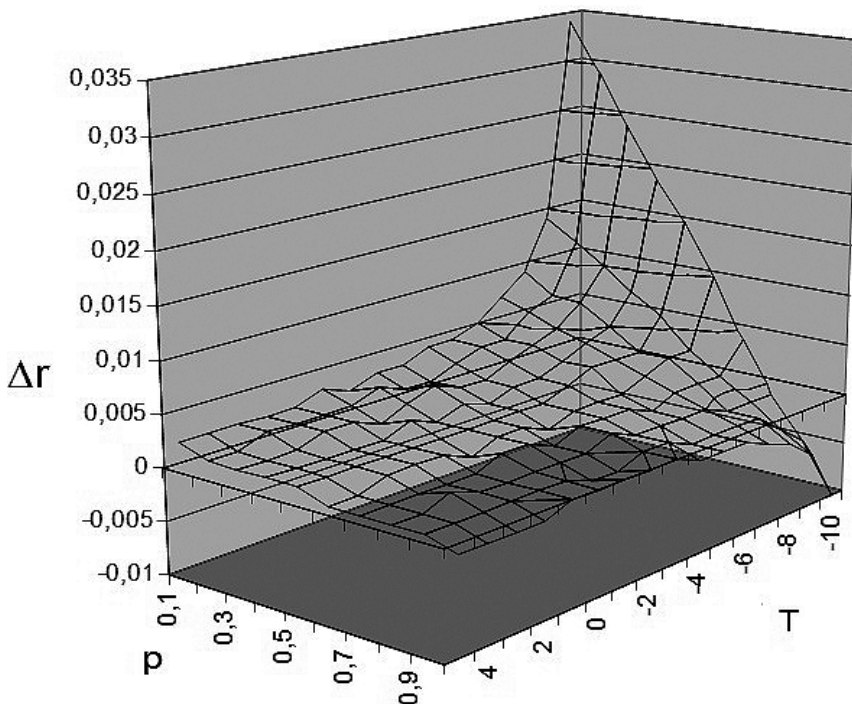


Abb. 9: Differenz Δr zwischen der vom Modell zu Versuchsserie 2 kalkulierten Sterberate und jener von Versuchsserie 1. Δr ist in Abhängigkeit mit Überlebenswahrscheinlichkeit p und Temperatur T dargestellt.

Wesentliche Unterschiede zwischen den Sterberaten der beiden Modelle ergeben sich bei niedrigen Temperaturen und geschwächter Konstitution. Schon ab einer Überlebenswahrscheinlichkeit $p < 0,7$ ist bei sehr niedrigen Temperaturen die Sterberate r erhöht. Die zyklische Temperaturänderung ist also ein deutlicher Stressfaktor. Bei geringem p ist die Sterberate hingegen etwas niedriger als bei konstanten Temperaturen. Dies stimmt gut mit der Interpretation von Abb. 7 überein: bei kleinem p ist der beobachtete Wert kleiner als der erwartete, was bedeutet, dass mehr Individuen sterben als nach dem Modell mit konstanter Temperatur zu vermuten wäre. Bei mittlerem p ist das hingegen nicht der Fall.

Langsamer Halbzyklus (Versuchsserie 3):

In noch größerem Umfang gilt das für die Variante Kältesee. Hier kann das Modell auch

bei p nahe 1 bei tiefen Temperaturen kaum eine geringere Sterberate feststellen als beim Standard (konstante Temperaturen, Versuchsserie 1).

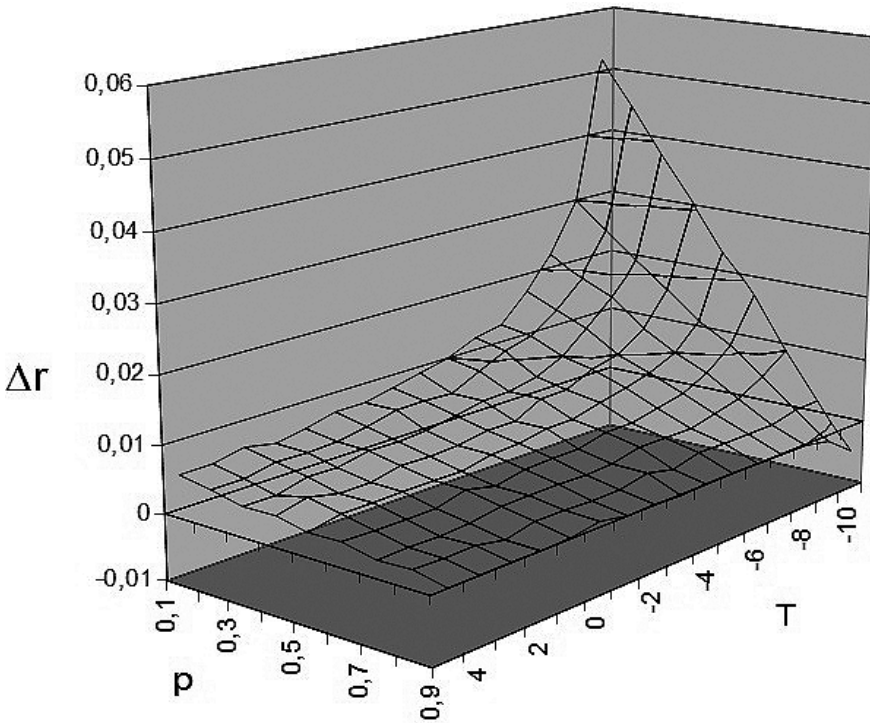


Abb. 10: Differenz Δr zwischen der vom Modell zu Versuchsserie 3 kalkulierten Sterberate und jener von Versuchsserie 1. Δr ist in Abhängigkeit von Überlebenswahrscheinlichkeit p und Temperatur T dargestellt.

In diesem Bereich – tiefe Temperaturen und p nahe 1 – sind allerdings im Versuch gar keine Messungen vorgenommen worden, weshalb hier eine Extrapolation vorliegt. Im Gegensatz dazu ist bei tiefen Temperaturen und bereits kleinem p die Sterberate wesentlich höher als beim Standard (konstante Temperaturen) sowie auch höher als bei zyklischen Temperaturen (man beachte die Skalierung). Auch bei hohen Temperaturen wird die Sterberate bei geringem p vom Modell etwas höher angesetzt – allerdings handelt es sich auch hier um eine Extrapolation. Insgesamt sterben also mehr Individuen als vom Modell mit konstanten Temperaturen vorhergesehen, wie man auch in Abb. 7 erkennen kann.

Temperaturänderung in dem in den Versuchen dieser Serie vorgekommenem Ausmaß ist ein höherer Stressfaktor als konstante Temperatur.

Freiland (Versuchsserie 4):

Abgesehen von zufälligen Fluktuationen ergeben sich Abweichungen nur im Niedrigtemperaturbereich, sind aber auch dort eher gering. Bei "guter Konstitution", also noch hoher Überlebenswahrscheinlichkeit, ist die Sterberate deutlich niedriger als bei konstanter Temperatur, während sie bei geringer Überlebenswahrscheinlichkeit (schlechter Konstitution) merkbar höher ist. Das ergibt insofern Sinn als eine Adaptation (Glycerinbildung, diverse Proteine) kostenintensiv ist und zwar zunächst Vorteile bringt, später aber eben wegen dieser zusätzlichen Kosten nachteilig ist. Im Versuch sind Temperaturen unter ungefähr $-9,5^{\circ}\text{C}$ nicht aufgetreten, werden hier also durch das Modell extrapoliert.

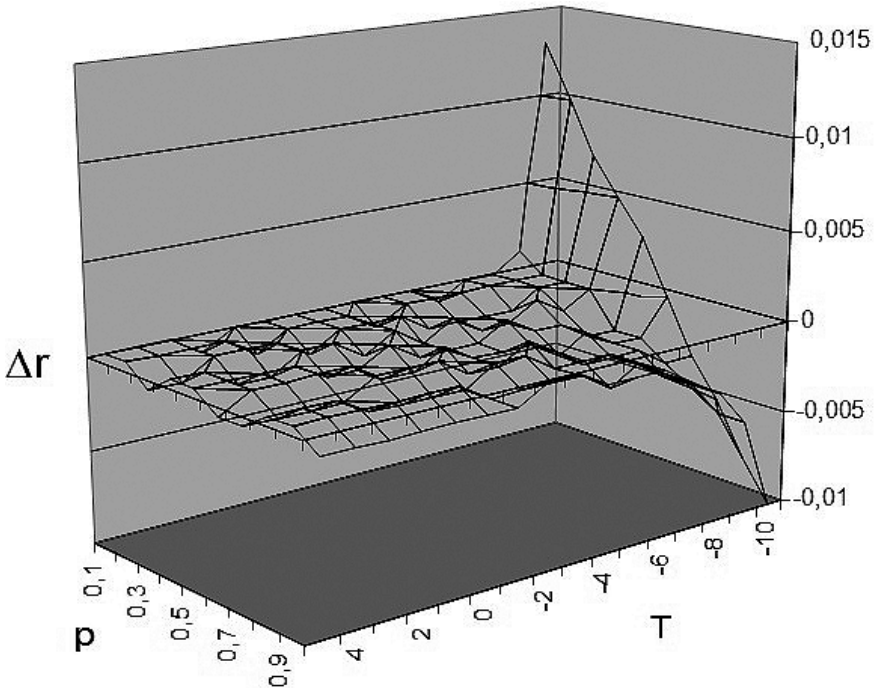


Abb. 11: Differenz Δr zwischen der vom Modell zu Versuchsserie 4 kalkulierten Sterberate und jener von Versuchsserie 1. Δr ist in Abhängigkeit von Überlebenswahrscheinlichkeit p und Temperatur T dargestellt.

Die geringere Sterberate bei hohem p dürfte der Grund sein, weshalb in Abb. 7 p (beobachtet) größer ist als p (erwartet).

Schlussfolgerung

Da die Sterberaten bei allen Versuchen durchwegs höher liegen als beim Standard (konstante Temperaturen) oder vergleichbar sind (Freiland) ist dieser geeignet, die tempera-

turabhängige Überlebensdauer von *T. absoluta* vorsichtig abzuschätzen und damit auch insbesondere Aussagen darüber zu treffen, ob die Art bei uns den Winter im Freiland überstehen kann, bzw. ab wann das im Zuge der Klimaerwärmung der Fall sein wird. Nimmt man relativ hohe Temperaturen an, sollte man auch die Freilandversuche berücksichtigen, nicht nur jene mit konstanten Temperaturen.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass *T. absoluta* unter den gegenwärtigen Klimabedingungen in Österreich im Freiland nicht überwintern kann.

Man kann annehmen, dass die hier entwickelte Analysemethode auch auf andere Neozoen anwendbar ist.

Danksagung

Die Versuchsdurchführung erfolgte an der AGES (Österreichische Agentur für Ernährungssicherheit). Das Projekt wurde durch den Klima- und Energiefonds gefördert. Unser Dank gebührt folgenden Personen: Hochfellner Lisa, Egartner Alois, Miglbauer Teresa, Müllner Katharina, Reinbacher Lara, Pilz Christina, Votzi Julia und Scheifinger Helfried.

Zusammenfassung

Tuta absoluta, ein bedeutender Schädling an Tomatenkulturen, ist eine ursprünglich in Südamerika vorkommende Miniermotte, die sich als Neozoon auch im Süden Europas ausgebreitet hat und im Norden in Gewächshäusern vorkommt. Untersucht werden sollte, ob sich die Spezies unter den klimatischen Bedingungen Österreichs im Freiland etablieren kann. Labor- und Freilandexperimente wurden durchgeführt, um die Überlebensfähigkeit der Puppen bei verschiedenen, während des Versuchsverlaufs je nach Experiment konstanten – oder aber auch variierenden – Temperaturen festzustellen. Die Daten wurden zur Modellentwicklung verwendet, wobei der Fragestellung besondere Bedeutung beigemessen wurde, wie aussagekräftig das für konstante Temperaturen entwickelte Modell auch für variierende Temperaturverläufe ist.

Die Überlebenswahrscheinlichkeit p des Individuums sollte nicht nur von Expositionszeit und Temperatur abhängen, sondern auch von dessen Konstitution, was einen rekursiven Bezug bedingt. Die Änderung von p im Verlauf des Experiments wurde daher mit einer Differenzgleichung beschrieben, was den Vorteil bringt, dass sich auch Temperaturen, die sich im Laufe der Exposition ändern, leicht modellieren lassen. Die Parameter der Differenzgleichung wurden mithilfe eines Genetischen Algorithmus geschätzt und die Modellqualität evaluiert. Die für konstante Bedingungen geschätzten Parameter führten auch zu einer hinreichenden Beschreibung der Überlebenswahrscheinlichkeit, die sich bei im Versuchsverlauf ändernden Temperaturen – insbesondere auch bei Freilandexperimenten – einstellten. Die Überwinterung von *T. absoluta* im Freiland ist in unseren Breiten derzeit nicht möglich.

Literatur

- BALE J.S., HANSEN T.N., NISHINO M. & J.G. BAUST (1989): Effect of cooling rate 630 on the survival of larvae, pupariation, and adult emergence of the gallfly *Eurosta solidaginis*. — *Cryobiology* **26**: 285-289.
- BROKERHOF A., BANKS H.J., & R. MORTON (1992): A model for time-temperature-mortality relationship for eggs of the webbing clothes moth, *Tineola bisselliella* (Lepidoptera: Tineidae). — *J. stored Prod. Res.* **28** (4): 269-277.

- BÜRGI L.P. & N.J. MILLS (2010): Cold tolerance of the overwintering larval instars of light brown apple moth *Epiphyas postvittana*. — Journ. of Insect Physiol. **56**: 1645-1650.
- BUTTS R.A. & G.B. SCHAALJE (1997): Impact of Subzero Temperatures on Survival, Longevity and Natalty of Adult Russian Wheat Aphid (Homoptera: Aphididae). — Environ. Entomol. **26** (3): 661-667.
- CASAGRANDE R.A. & D.L. HAYNES (1976): A Predictive Model for Cereal Leaf Beetle Mortality from Sub-freezing Temperatures. — Environ. Entomol. **5** (4): 761-769.
- ESSL F. & W. RABITSCH (2002): Neobiota in Österreich. — Umweltbundesamt, Wien.
- KALIYAN N., CARILLO M.A., MOREY R.V., WILCKE W.F. & S.A. KELLS (2007): Mortality of Indian Meal Moth (Lepidoptera: Pyralidae) Populations under Fluctuating low Temperatures: Model Development and Validation. — Environ. Entomol. **36** (6): 1318-1327.
- KOWARIK I. (2010): Biologische Invasionen; Neophyten und Neozoen in Mitteleuropa. — 2. Auflage. Eugen Ulmer, Stuttgart.
- NEDVĚD O., LAVY D. & H.A. VERHOEF (1998): Modelling time temperature relationship in cold injury and effect of high temperature interruptions on survival in chill sensitive collembolan. — Functional Ecology **12**: 816-824.
- SINCLAIR B.J., ALVARADO L.E.C. & L.V. FERGUSON (2015): An invitation to measure insect cold tolerance: methods, approaches, and workflow. — Jour. of Thermal Biology **53**: 180-197.
- STROUSTRUP N., ANTHONY W.E., NASH Z.M., GOWDA V., GOMEZ A., LOPEZ-MOYADO I.F., APFELD J. & W. FONTANA (2016): The temporal scaling of *Caenorhabditis elegans* ageing — Nature **530**: 103-107. doi:10.1038/nature16550.
- VAN DAMME V., BERKVENNS N., MOERKENS R., BERCKMOES E., WITTEMANS L., DE VIS R., CASTEEELS H., TIRRY L. & P. DE CLERQ (2015): Overwintering potential of the invasive leafminer *Tuta absoluta* (MEYRICK) (Lepidoptera: Gelechiidae) as a pest in Greenhouse tomato production in Western Europe. — Jour. Pest Science **88** (3): 533-541.

Anschriften der Verfasser: Wolfgang TIEFENBRUNNER
 Bundesamt für Weinbau
 Gölbeszeile 1
 A-7000 Eisenstadt, Austria
 E-Mail: w.tiefenbrunner@bawb.at

Anna MOYSES
 Andreas KÄHRER
 Spargelfeldstrasse 191, AGES
 A-1220 Wien, Austria

Dagmar TIEFENBRUNNER
 Steinzeile 7
 A-7052 Müllendorf, Austria

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Linzer biologische Beiträge](#)

Jahr/Year: 2018

Band/Volume: [0050_2](#)

Autor(en)/Author(s): Tiefenbrunner Wolfgang, Tiefenbrunner Dagmar, Kahrer Andreas, Moyses Anna

Artikel/Article: [Kälteresistenz des Tomatenschädlings Tuta absoluta \(Lepidoptera, Gelechiidae\) – die Anwendung von Genetischen Algorithmen bei der Modellentwicklung 1569-1585](#)