

De invloed van rupsen van het Groot koolwitje (*Pieris brassicae*) op melige koolluizen (*Brevicoryne brassicae*) en vice versa op spruitkoolplanten (*Brassica oleracea*)

Lisenka van Duin

Samenvatting

Van de ruim 1 miljoen bekende insectensoorten is de helft afhankelijk van planten als voedsel. Als reactie op vraat van de planten, gaan de planten zich verdedigen, dit gebeurt onder andere door chemische verdediging. De chemische verdediging kan constitutief zijn of wordt geïnduceerd door vraat. Insecten kunnen op verschillende manieren van planten eten, bijtend-kauwend of prikkend-zuigend. In dit onderzoek wordt gekeken naar twee soorten insecten, een bijtend-kauwende soort en een prikkend-zuigende soort. De bijtend-kauwende soort die ik heb gebruikt is het Groot koolwitje (*Pieris brassicae*) en de prikkend-zuigende soort de melige koolluis (*Brevicoryne brassicae*). Ik heb gekeken naar de invloed die beide soorten op elkaar uitoefenen via de plant. Aan de hand van verschillende artikelen met vergelijkbare experimenten heb ik verwachtingen voor mijn experimenten geformuleerd. Ik heb vijf verschillende soorten experimenten op spruitkoolplanten uitgevoerd. Ik heb gekeken naar de volgende variabelen; positie, overleving van rupsen en bladluizen, het gemiddelde gewicht van de rupsen, aantal gelegde eieren door adulte Grote koolwitjes, het percentage oppervlak van bladpansen opgevreten deel door rupsen, de reproductie van de bladluizen. Bij de meeste experimenten komt als resultaat geen significant verschil tussen controle planten en planten met rups of bladluis. Bij het experiment waarbij, met behulp van bladpansen, naar de voorkeur van rupsen van het Groot koolwitje voor spruitkoolplanten met of zonder melige koolluis werd gekeken is gevonden dat de rupsen een significante voorkeur vertoonden voor bladpansen afkomstig van planten zonder melige koolluis. Bij het experiment waarbij de invloed van rupsen van het Groot koolwitje op de melige koolluis is onderzocht, is er significant verschil gevonden in het aantal bladluizen en de waargenomen positie van de bladluizen tussen planten met en zonder rupsen van het Groot koolwitje. Voor enkele experimenten onderdelen komen de resultaten niet overeen met de verwachtingen. Er wordt dan geen significant verschil gevonden terwijl dat wel werd verwacht, of het omgekeerde. De resultaten van de overige experimenten stemden overeen met verwachtingen gebaseerd op gepubliceerde artikelen.

Inleiding

Van de ruim 1 miljoen bekende insectensoorten is de helft afhankelijk van planten als voedsel, er bestaan verschillende gradaties in dieet specialisme of generalisme.

Insecten die alleen voorkomen op een of meerdere gerelateerde plantensoorten worden monofaag genoemd. Veel Lepidoptera larven (vlinderlarven = rupsen), Hemiptera (wantsen) en Coleoptera (kevers) vallen in deze categorie (Schoonhoven et al. 2005). Oligofage insecten, zoals het Groot koolwitje (*Pieris brassicae*) en de melige koolluis (*Brevicoryne brassicae*), voeden zich met meerdere plantensoorten die tot dezelfde familie behoren, in dit geval de Brassicaceae (Schoonhoven et al. 2005). Polyfage insectensoorten voeden zich met plantensoorten die tot verschillende, fytochemisch niet-verwante families behoren. Polyfage insecten worden ook wel generalisten genoemd. De andere twee, monofaag en oligofaag, zijn de specialisten (Schoonhoven et al. 2005).

Planten verdedigen zich tegen vraat, dit gebeurt onder andere door chemische verdediging. De chemische verdediging kan constitutief zijn of wordt geïnduceerd door insecten die van de plant eten (Schoonhoven et al. 2005). Constitutieve verdediging is onafhankelijk van beschadiging aan de plant, geïnduceerde verdediging treedt in werking als reactie op vraat. Chemische verdediging kan direct of indirect zijn. Directe verdediging heeft een negatief effect op de plantenetende insecten. Een negatief effect is een effect dat groei, ontwikkeling of reproductie op deze insecten afremt of helemaal stopt (Schoonhoven et al. 2005). Een veel voorkomende vorm van indirecte verdediging is dat vluchtige stoffen worden geproduceerd die de natuurlijke vijanden van de plantenetende insecten aantrekken (Schoonhoven et al. 2005).

Plantenetende insecten kunnen op verschillende manieren plantmateriaal opnemen, de belangrijkste voedingswijzen zijn bijtend-kauwend of prikkend-zuigend. De rupsen van het Groot koolwitje zijn bijtend-kauwende insecten en de melige koolluis zijn prikkend-zuigende insecten (Schoonhoven et al. 2005). De eersten vreten het bladmateriaal over de gehele dikte op en de laatste zuigen alleen het phloemsap op uit het transportweefsel in bladeren en stengel.

In de volgende artikelen werden experimenten gedaan die vergelijkbaar zijn met de experimenten die ik ga uitvoeren, hierop baseer ik welke resultaten ik verwacht.

In De Vos et al. (2005) wordt gekeken naar de reactie van *Arabidopsis thaliana* planten op het Klein koolwitje (*Pieris rapae*; specialist op Brassicaceae) en op de groene perzikluis (*Myzus persicae*; generalist). In de inleiding van het artikel wordt vermeld dat de rupsen van het Klein koolwitje jasmijnzuur productie induceren wat indirect salicylzuur, jasmijnzuur en ethyleen induceert. Groene perzikluis zou salicylzuur en jasmijnzuur productie induceren, hiervan wordt jasmijnzuur het meeste geproduceerd. Als de salicylzuur aanmaak wordt geblokkeerd is de plant gevoeliger voor pathogeen. In het geval van jasmijnzuurblokkade is de plant gevoeliger voor planteneters en, in mindere mate, voor necrotrofische pathogeen. Wanneer salicylzuur wordt geactiveerd is er minder jasmijnzuur signalering. De auteurs hebben het volgende experiment uitgevoerd; vijf L1 rupsen werden op *Arabidopsis*-planten geplaatst. Deze rupsen induceerden vooral jasmijnzuurproductie en een beetje ethyleenproductie. Ook hebben ze 40 groene perzikluizen op *Arabidopsis* geplaatst, waaronder zich nymphen en adulte luizen bevonden. Als resultaat werd gevonden dat de luizen geen verandering in de productie van jasmijnzuur, ethyleen en salicylzuur induceren. Op basis van deze uitkomsten verwacht ik dat de rupsen van het Groot koolwitje hinder ondervinden van elkaar en niet zo zeer van de melige koolluizen.

Rodrigues-Saona et al. (2005) voerden experimenten uit met rupsen (*Spodoptera exigua*) en luizen (*Macrosiphum euphorbiae*). Bij de experimenten werden vier behandelingsgroepen tomatenplanten gebruikt. Er waren controleplanten, tomatenplanten met alleen rups of alleen luis en planten met beide insecten. Als beide insecten op de planten werden gezet werden ze op verschillende bladeren geplaatst waardoor ze geen rechtstreekse interactie met elkaar hadden. In een soort gelijk experiment als het experiment van De Vos et al. (2005) werd op tomatenplanten van elke behandelingsgroep een rups geplaatst. Na vijf dagen werd het percentage opgegeten blad genoteerd.

Ook werden er op planten van elke behandelingsgroep 40 bladluizen geplaatst, aan de hand van het aantal luizen van 4-5 planten werd de groei bepaald. In beide experimenten is er, zowel bij de rupsen als de luizen, geen verschil gevonden tussen de verschillende behandelingsgroepen. Op basis van deze experimenten verwacht ik geen verschil in het percentage opgegeten ponsblad door rupsen van ponsen van controle bladeren en ponsen van bladeren waar luizen op hebben gezeten. Ook verwacht ik geen verschil in reproductie van bladluizen op planten met en zonder rupsen.

Inbar et al (1999b) hebben gekeken naar het effect van witte vlieg (*Bemisia artemisifolii*) op rupsen (*Trichoplusia ni*) op tomatenplanten. Beide soorten zijn generalist. Hierbij werden L1 rupsen in een Petrischaal met een diameter van 15 cm geplaatst. Ze werden gevoerd met bladeren geïnfecteerd met witte vlieg (10 individuen/cm²) of met controle bladeren, die elke dag werden ververs. Bij dit experiment werd onder andere gekeken naar de overleving, gewicht en relatieve groei van de rupsen. Er is geen verschil in overleving gevonden, van rupsen die gevoerd werden met bladeren met witte vlieg is het gewicht hoger en de ontwikkeling langer. Op basis van dit experiment verwacht ik geen verschil in overleving van de rupsen van het Klein koolwitje op spruitkoolplanten met en zonder melige koolluis. Het gewicht van de rupsen op spruitkoolplanten met melige koolluis verwacht ik hoger dan het gewicht van de rupsen op planten zonder bladluizen.

In een van de experimenten van Rodrigues-Saona et al. (2005) worden 10 rupsen in een Petrischaal geplaatst met ponsen van systemische bladeren van de planten met verschillende behandelingen, de rupsen hebben geen keuzemogelijkheid. Het experiment duurt 7 dagen waarbij de bladponsen elke dag worden ververs. Er wordt gekeken naar het gewicht, tijd voordat ze zich gaan verpoppen, het popgewicht, tijd tot het uitkomen van de vlinders en de overleving van de vlinders.

De resultaten waren dat de rupsen het op de ponsen van planten met rups minder goed doen dan op ponsen van controle planten of ponsen van planten met luis. De rupsen doen het beter op ponsen van planten met luis, dan met ponsen van controle planten. Er werd geen verschil gevonden voor ontwikkelingstijd en het gewicht van de poppen. Tussen ponsen van planten met rups en ponsen van planten met beide insecten is er geen verschil. Naar aanleiding van dit experiment verwacht ik dat de rupsen geen hinder ondervinden van ponsen waar melige koolluis op heeft gezeten en er voorkeur voor zouden hebben ten opzichte van de controle ponsen.

In een ander experiment van Rodrigues-Saona et al. (2005) worden vrouwtjesmotten in een windtunnel losgelaten. In de windtunnel staan vier planten 30 cm van elkaar opgesteld, twee van elke behandelingssoort. De door luis of rups geïnfecteerde bladeren worden afgedekt. Elke experiment wordt 5x uitgevoerd. In dit experiment wordt gekeken naar het aantal gelegde eieren en het aantal eipakketten. Op de tomatenplanten met luis zijn de meeste eieren en eipakketten gevonden, daarna volgen de controle planten en op de rups beschadigde planten werden de minste eieren gevonden. Er is geen significant verschil gevonden tussen controle planten en planten met beide soorten insecten. Bij mijn experiment verwacht ik dat vrouwtjes van het Groot koolwitje meer eieren leggen op de planten met bladluis ten opzichte van de controle planten.

Er zijn ook verschillende experimenten gedaan met witte vlieg (*Bemisia artemisifolii*) en een bladmineerder (*Liriomyza trifolii*) op tomaat (*Lycopersicon esculentum*). Beide soorten zijn generalist, de witte vlieg zuigt phloeemsap op. Bij de uitgevoerde experimenten (Mayer et al. 2002; Inbar et al. 1999a) wordt gekeken naar het effect van witte vlieg op de bladmineerder. Hierbij worden 24 uur lang 5 of 10 adulte bladmineerders bij witte vlieg- geïnfecteerde tomatenplanten en controleplanten geplaatst. De voorkeur wordt gemeten aan de hand van aantal eieren en voedingspunctures per blad/cm² (Mayer et al. 2002; Inbar et al. 1999a) en de larvale overleving (Mayer et al. 2002). Adulte bladmineerders hebben voorkeur voor controle planten, op de door witte vlieg geïnfecteerde planten waren 30.6 % minder eieren per plant en werd er minder vaak gevoed. Op de controleplanten was de overleving van de larven 26,5 % hoger (Inbar et al. 1999a). Op de controleplanten hebben de bladmineerders voorkeur voor oudere bladeren en op de witte vlieg geïnfecteerde planten hebben ze voorkeur voor jongere bladeren (Mayer et al. 2002). Als er witte vliegen op de door bladmineerder geïnfecteerde planten worden geplaatst wordt er geen verschil gevonden. De witte vliegen hebben voorkeur voor jonge bladeren (Inbar et al. 1999a). Op basis van deze uitkomsten verwacht ik dat de vlinders en rupsen voorkeur hebben voor de controle planten, boven de bladluis geïnfecteerde planten mits de bladmineerder, als bijtend/kauwend insect, gelijk gesteld zou kunnen worden aan de rupsen en vlinders. Voor de spruitkoolplanten wordt aangenomen dat ze hetzelfde reageren als de tomatenplanten. De bladluizen zouden geen voorkeur hebben.

Op de verschillen in de artikelen en de verwachtingen kom ik terug in de discussie.

In mijn onderzoek heb ik gekeken naar de invloed van rupsen van het Groot koolwitje (*Pieris brassicae*) op melige koolluizen (*Brevicoryne brassicae*) en vice versa op spruitkoolplanten *Brassica oleracea*.

Dit heb ik gedaan aan de hand van vijf verschillende experimenten.

1. De ontwikkeling van rupsen van het Klein koolwitje (*Pieris rapae*) op spruitkoolplanten met melige koolluis, waarbij ik let op positie, overleving en het gemiddelde gewicht van de rupsen.
2. De voorkeur van L2 rupsen van het Groot koolwitje voor spruitkoolplanten met of zonder melige koolluis; dit doe ik met behulp van bladponzen, waarbij ik het opgegeten percentage van de ponsen schat en de positie van de rupsen noteer.
3. Eileggedrag van het Groot koolwitje met een keuze tussen spruitkoolplanten met melige koolluis en controleplanten; hierbij let ik op het aantal gelegde eieren per plantensoort.
4. Invloed van rupsen van het Groot koolwitje op de melige koolluis; hier wordt gekeken naar de positie, overleving en het aantal bladluizen.
5. Invloed van rupsen van het Groot koolwitje op de reproductie van melige koolluis; bij dit experiment let ik, naast positie en overleving, ook op de reproductie van de luizen.

Mijn hypothesen zijn:

1. De rupsen van het Klein koolwitje op spruitkoolplanten met en zonder melige koolluis hebben evenveel overlevingskans. Rupsen op spruitkoolplanten met melige koolluis hebben een hoger gemiddeld gewicht dan de rupsen op planten zonder bladluizen
2. De rupsen van het Groot koolwitje hebben voorkeur voor ponsen van bladeren van spruitkoolplanten waar melige koolluis op heeft gezeten
3. De vrouwtjes van het Groot koolwitje hebben voorkeur voor de planten met bladluis voor ovipositie

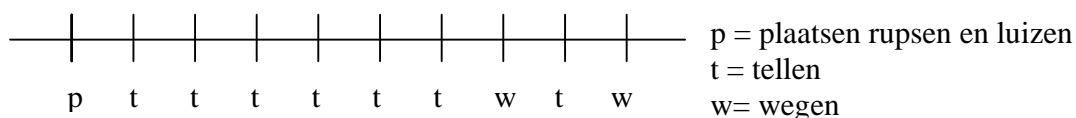
4. Er is geen verschil in positie, overleving en reproductie van melige koolluis op planten met of zonder rupsen van het Groot koolwitje

Materiaal en methode

1 De ontwikkeling van rupsen van het Klein koolwitje (*Pieris rapae*) op spruitkoolplanten met melige koolluis (*Brevicoryne brassicae*)

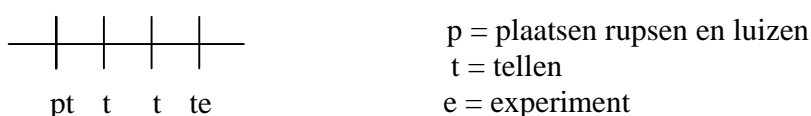
Twintig spruitkoolplanten stonden op een omgekeerde kleine schotel, dat weer in een grote schotel met een laagje water stond. Dit was om te voorkomen dat de ongevleugelde bladluizen zich in de kas zullen gaan verspreiden. De planten stonden op enige afstand (10 á 15 cm) naast elkaar. Deze planten stonden in een kascompartiment van het kassencomplex achter Binnenhaven 5. De condities waren: 25 °C overdag, 18 °C 's nachts, 14 uur licht (SON-T) en 60 – 70 % RH.

Op 10 planten werden aan de onderzijde van het vijfde blad 25 melige koolluizen, van verschillende ontwikkelingsstadia, geplaatst met behulp van een klemkooitje. De overige planten waren vrij van bladluizen. Na het plaatsen van de bladluizen werden op dezelfde dag op elke plant op blad 4 twee eirupsen van het Klein koolwitje geplaatst met behulp van een klemkooi, op blad 5 werden er drie rupsen geplaatst op dezelfde manier. De rupsen werden aan de onderzijde van het blad geplaatst. Elke dag werden de rupsen geteld en de positie waar ze zich bevonden genoteerd. Dit werd zes keer gedaan, waarna op de achtste dag de rupsen gewogen werden. Op de negende en tiende dag werd er weer geteld en de positie genoteerd. Op de tiende dag werden de rupsen weer gewogen.



2a De voorkeur van L2 rupsen van het Groot koolwitje (*Pieris brassicae*) voor spruitkoolplanten met of zonder melige koolluis (*Brevicoryne brassicae*)

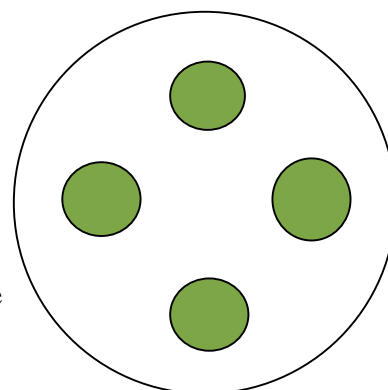
De twintig spruitkoolplanten werden voorbereid op dezelfde manier als experiment 1. Er werden echter geen rupsen op de bladeren geplaatst.



De melige koolluizen werden vier dagen geteld. Op de vierde dag werden van elke plant een systemisch en een lokaal blad (bladnr. 5) geplukt, en voor zover nodig werden de bladluizen verwijderd.

Van deze bladeren werden er ponsen gemaakt van dezelfde grootte (1,5 cm), waarbij de nerven zoveel mogelijk vermeden werd. Van elk blad werden twee ponsen gemaakt.

De ponsen werden tegen over elkaar op een filtreerpapier in een Petrischaal met een diameter van 5 cm geplaatst. In elk Petrischaaltje bevonden zich twee ponsen van een blad van een controle plant en twee



van een blad van behandelde plant (zie schema 2).

Uiteindelijk waren er twee series van tien Petrischaaltjes, een met systemische bladeren en een met lokale bladeren. Op de filtreerpapierjes werd 100 µl water gedruppeld om te voorkomen dat de bladpansen zouden gaan uitdrogen.

In elk Petrischaaltje werden vier rupsen van het Groot koolwitje in larve stadium 2/3 in het midden geplaatst. In een klimaatkamer van 25 °C werd om het half uur het percentage opgegeten blad genoteerd. Ook werd het aantal rupsen die op de pansen zaten genoteerd. Hierbij werd onderscheid gemaakt tussen pansen van bladeren waar bladluis op heeft gezeten en pansen van controlebladeren. Dit werd drie uur lang gedaan.

2b

Zie experiment 2a, ditmaal werden er grotere Petrischalen gebruikt met een diameter van 9 cm. Ook werden er pansen gemaakt met een doorsnede van 2,5 cm in plaats van 1,5 cm.

Er werd gebruik gemaakt van L5 rupsen omdat jongere rupsen niet beschikbaar waren. In elke Petrischaal werd een rups geplaatst.

2c

Zie ook experiment 2a, bij dit experiment werden grote Petrischalen (9 cm) gebruikt en kleine pansen (1,5 cm). De rupsen waren in het L3 en L4 stadium.

3a Eileggedrag van het Groot koolwitje (*Pieris brassicae*) met een keuze tussen spruitkoolplanten met melige koolluis (*Brevicoryne brassicae*) en controleplanten

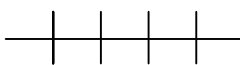
De twintig planten werden voorbereid als beschreven in experiment 1.

Op tien ervan werd een klemkooitje op het vierde blad geplaatst met 20 melige koolluizen. Op de tien andere planten werd op dezelfde plaats een leeg klemkooitje geplaatst. Na 24 uur werden deze verwijderd. Drie dagen lang werden de bladluizen geteld en het aantal genoteerd.

Ook werden er 30 Grote koolwitjes, 15 vrouwtjes en 15 mannetjes die net uit de pop waren gekomen, voorbereid door ze in een vliegkooi (95 cm breed x 75 cm hoog x 65 cm diep) in een kascompartiment te plaatsen met 10% -suikerwater oplossing ter beschikking. De temperatuur was ca. 23 ± 2 °C en de kooien werden gedurende het experiment belicht door 500 Watt SON-T lampen die ca. 50 cm boven het dak van de kooien hangen.

Na 72 uur werden ze per paar (een mannetje en een vrouwtje) in kleine vlinderkooien geplaatst (45 x 75 x 65). In elk van die kooien kwam een plant met bladluis en een controle plant, die naast elkaar werden gezet op ca. 10 cm afstand van elkaar.

Na 60 minuten werd er geteld hoeveel eieren en aantal groepjes eieren er gelegd waren en op welke plant, per vlinderkooi.



pt v t e

p = plaatsen luizen
v = verwijderen klemkooi
t = tellen
e = experiment

3b

Zie experiment 3a, in dit geval werden er 15 luizen per plant gebruikt en werden er totaal 30 planten gebruikt.

4a Invloed van rupsen van het Groot koolwitje (*Pieris brassicae*) op de melige koolluis (*Brevicoryne brassicae*)

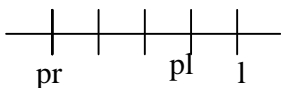
Er worden twintig spruitkoolplanten klaargemaakt als in experiment 1.

Op tien van de planten werd op het zesde blad een filtreerpapiertje aangebracht waarop 50 ei-rupsen van het Groot koolwitje zijn overgezet die diezelfde dag zijn uitgekomen. De tien overige planten waren controle planten en blijven schoon. De rupsen bleven tot en met de vijfde dag op de planten.

Op de vierde dag werden er 10 melige koolluizen van zoveel mogelijk gelijke grootte (zo groot mogelijk, indien beschikbaar) geplaatst op het blad waar de rupsen het meest van gegeten hebben. Dit gebeurde bij elke plant, op de controleplanten kwamen de bladluizen op, zo mogelijk, hetzelfde bladnummer als bij de planten met rupsen.

Om de 30 minuten werd genoteerd waar de luizen zich bevonden, ook het aantal werd bijgehouden. Dit gebeurde drie uur lang.

Op dag vijf, 24 uur later, werden nogmaals positie genoteerd en aantal bladluizen teruggeteld.



pr = plaatsen rupsen
pl = plaatsen bladluizen en experiment
l = vervolg experiment

4b

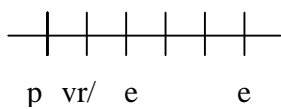
Er werd hetzelfde experiment uitgevoerd als experiment 4a, ditmaal werden er ca. twee weken jongere planten gebruikt en minder ei-rupsen per plant, namelijk 25.

5a Invloed van rupsen van het Groot koolwitje (*Pieris brassicae*) op de reproductie van melige koolluis (*Brevicoryne brassicae*)

Er werden twintig spruitkoolplanten klaargemaakt als eerder beschreven onder experiment 1. Op tien planten werden met behulp van een filtreerpapiertje 25 ei-rupsen van het Groot koolwitje op blad 4 geplaatst.

De rupsen bleven 48 uur op de planten waarna ze werden verwijderd. Er werden acht adulte koolluizen geplaatst op alle planten op blad 5 of 6.

Na 3, 24 en 96 uur na het plaatsen van de luizen werd het aantal luizen geteld.



pr = plaatsen rupsen

vr = verwijderen rupsen

l = plaatsen bladluizen en na 3 u experiment

e = experiment

5b

Zie experiment 5a, de rupsen bleven echter op de planten.

Resultaten

1 De ontwikkeling van rupsen van het Klein koolwitje op spruitkoolplanten met melige koolluis (*Brevicoryne brassicae*)

Gewicht van de rupsen

Er is geen significant verschil in het gemiddelde gewicht per rups bij de planten waar bladluizen op hebben gezeten en controle planten (Mann Whitney U-toets. $U = 27,5$ (dag 8) en $U = 43,5$ (dag 10), k.w. = 23 (2-zijdig)).

Positie van de rupsen

Bij alle onderzochte tijdstippen is er geen significant verschil in positie van de rupsen op de planten tussen de planten waar bladluis op heeft gezeten en controle planten (Kolmogorov-Smirnov two-sample test ($N = 10$)).

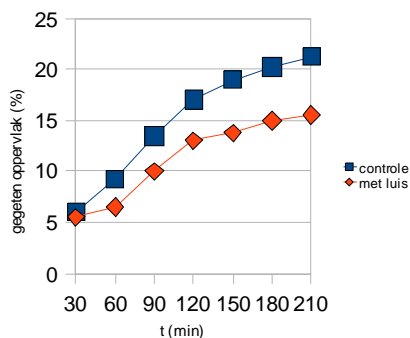
Overleving van de rupsen

Op alle onderzochte tijdstippen is er geen significant verschil gevonden in overleving van de rupsen tussen planten met en zonder luizen. (Mann Whitney U, U is respectievelijk 50, 45, 29.5, 45, 46, 43.5, 38 en 41, k.w. = 23 (2- zijdig)).

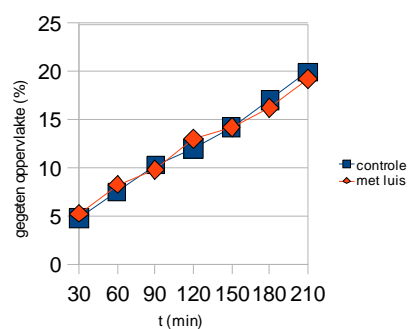
2a De voorkeur van L2 rupsen van het Groot koolwitje (*Pieris brassicae*) voor spruitkoolplanten met of zonder melige koolluis (*Brevicoryne brassicae*)

Percentage opgegeten ponsen door rupsen

Bij de lokale bladeren lijkt er voorkeur te zijn voor de ponsen van de bladeren van de controle planten, dit verschil is echter niet significant (Wilcoxon matched-pairs signed-ranks test; per tijdstip berekend) (grafiek 1). De rupsen hebben geen duidelijke voorkeur bij de ponsen van de systemische bladeren (grafiek 2).



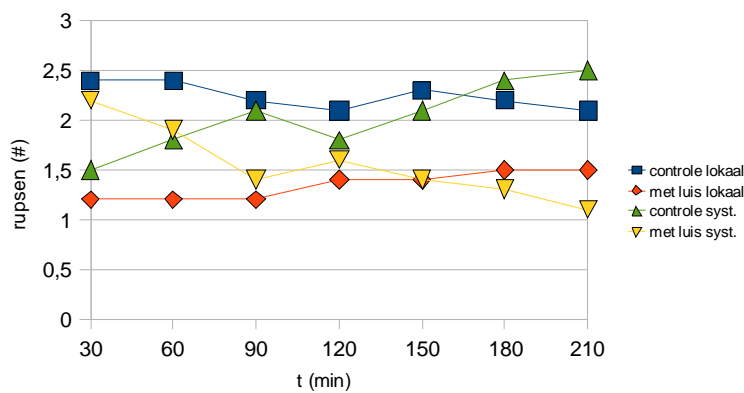
Grafiek 1 Percentage gegeten door rupsen, lokaal blad



Grafiek 2 Percentage gegeten door rupsen, systemisch blad

Keuze rupsen

Bij de keuze van de rupsen is er per waarnemingstijdstip een trend bij 30 en 60 minuten voor de controle bladeren bij de lokale bladeren. Bij de systemische bladeren is er alleen significant verschil bij 210 minuten na het plaatsen van de rupsen. Bij de andere tijdstippen is er geen significant verschil. Over het geheel genomen is er significant verschil tussen de keuze van rupsen van bladeren van planten waar wel bladluizen op heeft gezeten als rupsen van bladeren van controle planten, bij zowel lokale als systemische bladeren (binomial toets, $p < 0.05$; som van de waarnemingen). De rupsen bevinden zich meer op de rupsen van de bladeren van de controleplanten (zie grafiek 3).



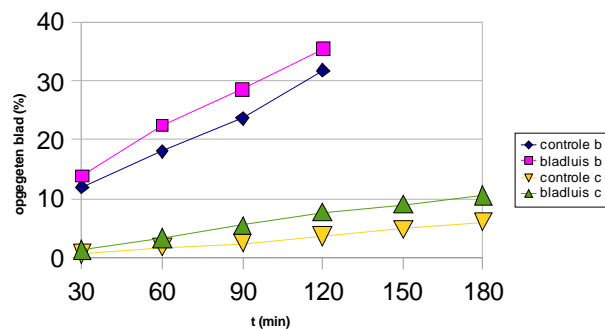
Grafiek 3 Gemiddeld aantal rupsen per blad, lokaal en systemisch blad

2b en c

Percentage opgegeten ponsen door L5-rupsen

Bij beide experimenten werd alleen gekeken naar de lokale bladeren. Bij experiment 2b is er in het begin om de 15 minuten gekeken, omdat de rupsen in het begin veel aten.

Bij zowel experiment 2b als 2c (L3 en L4-rupsen) is er geen significant verschil gevonden tussen het opgegeten percentage bladponsen van bladeren waar bladluizen opgezeten hebben en controle bladeren (Wilcoxon matched-pairs signed-ranks test; per tijdstip berekend) (zie grafiek 4).



Grafiek 4 Percentage opgegeten blad, experiment 2b en 2c

Keuze rupsen

In experiment 2b is er geen significant verschil gevonden tussen de keuze van de rupsen.

In experiment 2c is er significant verschil gevonden bij de laatste drie tijdstippen, namelijk bij 120, 150 en 180 minuten (binomial toets, $p < 0.05$).

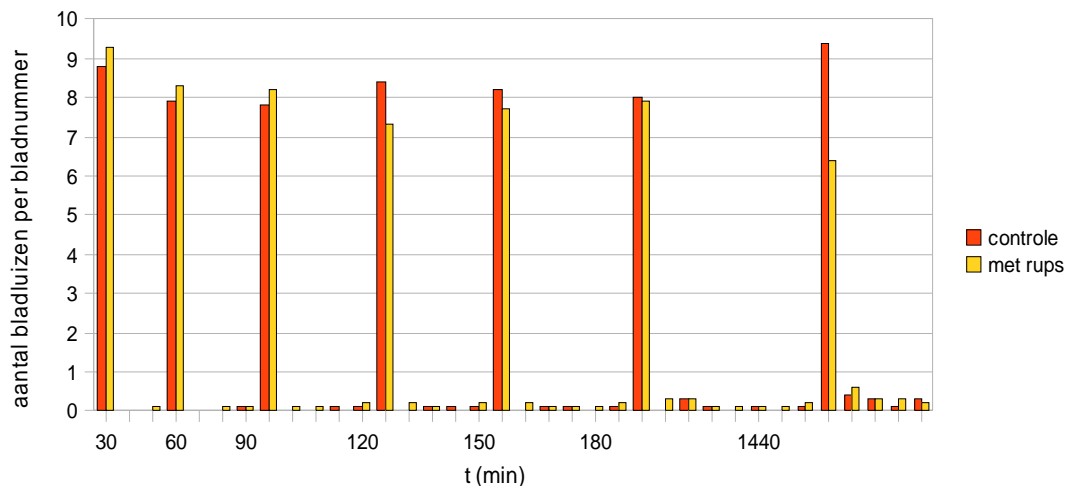
3 Eileggedrag van het Groot koolwitje (*Pieris brassicae*) met een keuze tussen spruitkoolplanten met melige koolluis (*Brevicoryne brassicae*) en controleplanten

Bij dit experiment heb ik de resultaten van experiment 3a en 3b samengenomen omdat er weinig bruikbare herhalingen waren, namelijk 18. Er is geen significant verschil gevonden tussen de planten met luis en de controle planten (tekentoeets, $N = 18$, $x = 8$, $p = 0,407$).

4a Invloed van rupsen van het Groot koolwitje (*Pieris brassicae*) op de melige koolluis (*Brevicoryne brassicae*)

Positie op de plant

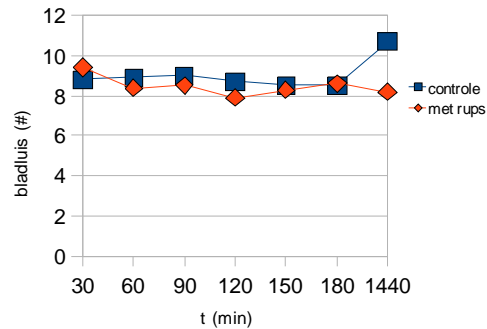
Bij dit experiment is er significant verschil in de waargenomen positie van de bladluizen tussen planten met en zonder rupsen van het Groot koolwitje vanaf 24 uur na het plaatsen van de bladluizen (Kolmogorov-Smirnov two-sample test $K_D = 0.68$, kritieke $K_D = 0.63$ ($N = 10$)). Hierbij is er meer spreiding in positie van de bladluizen op planten waar rupsen van hebben gegeten (zie grafiek 5).



Grafiek 5 Verspreiding van de bladluizen op de planten. Elk staafpaar geeft een bladnummer aan. De luizen zijn geplaatst op bladnummer 6 en dit geeft daarom het hoogst aantal luizen aan. 1440 is 24 uur na het plaatsen van de bladluizen

Aantal bladluizen

Bij het aantal bladluizen is er alleen na 24 uur na het plaatsen van de bladluizen significant verschil gevonden (Mann Whitney U-toets, $U = 22,5$, $k.w. = 23$ (2-zijdig)), waarbij er meer bladluizen zijn gevonden op de controle planten (zie grafiek 6).

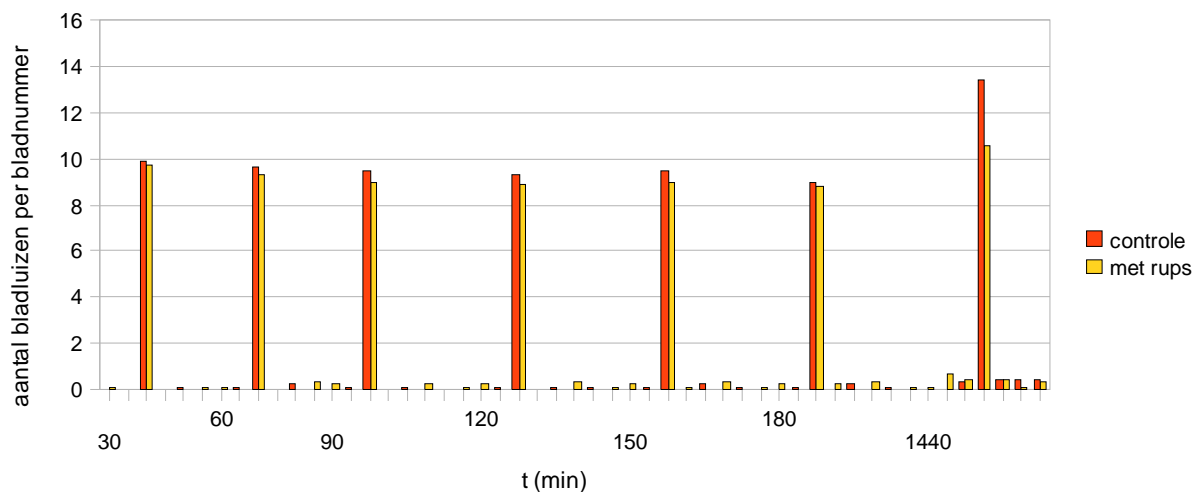


Grafiek 6 Aantal bladluizen per tijdstip

4b Experiment met jongere spruitkoolplanten

Positie op de plant

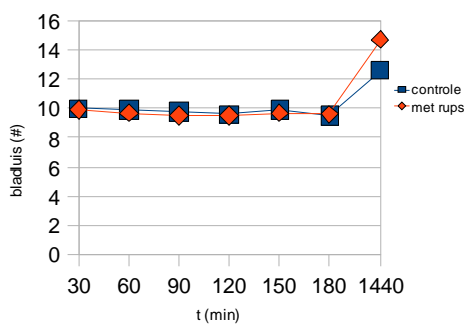
Ook bij het experiment waarbij jongere planten zijn gebruikt en minder rupsen is er, vanaf 24 uur na het plaatsen van de bladluizen, significant verschil in positie van de bladluizen tussen planten met en zonder rupsen van het Groot koolwitje (Kolmogorov-Smirnov two-sample test $K_D = 0.75$, kritieke $K_D = 0.52$ ($N = 10$)). Hierbij is er meer spreiding in positie van de bladluizen op planten waar rupsen van hebben gegeten (zie grafiek 7).



Grafiek 7 Gemiddeld aantal bladluizen per bladnummer. 1440 is 24 uur na het plaatsen van de bladluizen. Elk paar geeft een bladnummer aan. De luizen zijn geplaatst op bladnummer 4 en geven daarom de hoogste waarde aan

Aantal bladluizen

Bij het aantal bladluizen is er geen significant verschil tussen planten waar rupsen op hebben gezeten en controle planten (Mann Whitney U-toets, $U = 45; 40; 39; 48; 40; 58; 30$, k.w. = 23 (2-zijdig)) (zie grafiek 8).

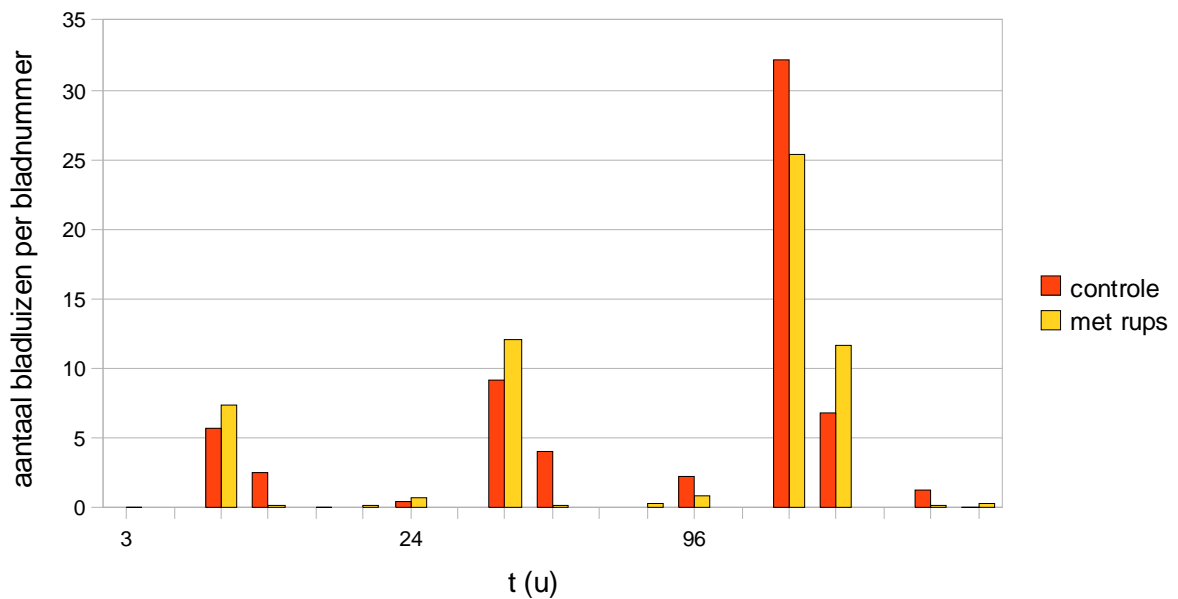


Grafiek 8 Gemiddeld aantal bladluizen per plant

5a Invloed van rupsen van het Groot koolwitje (*Pieris brassicae*) op de reproductie van melige koolluis (*Brevicoryne brassicae*)

Positie van de bladluizen op de plant

Bij alle onderzochte tijdstippen is er geen significant verschil in positie van de bladluizen op de planten tussen de planten waar rupsen op heb gezeten en controle planten (Kolmogorov-Smirnov two-sample test $K_D = 0.25$ (3u), 0.26 (24u) en 0.12 (96u), kritieke $K_D = 0.67$ (3u), 0.52 (24u) en 0.30 (96 u) ($N = 10$)) (zie grafiek 9).



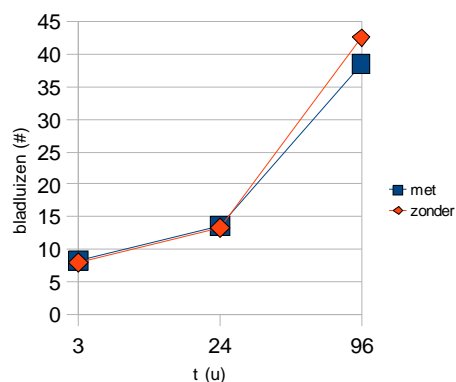
Grafiek 9 Verspreiding van de bladluizen. Elke staafpaar geeft de gemiddelde aantal bladluizen per bladnummer aan. De luizen zijn geplaatst op bladnummer 5, daarom geeft dit de hoogste waarde aan

Reproductie van de bladluizen

Bij dit experiment heb ik voor de reproductie alleen duidelijke gegevens na 96 uur na het plaatsen van de 8 grote bladluizen. Voor de twee tijdstippen ervoor heb ik het niet goed bijgehouden. Na 96 uur is er geen significant verschil in reproductie van bladluizen op planten waar rupsen op hebben gezeten en controle planten (Mann Whitney U-toets, $U = 39,5$, k.w. = 23 (2-zijdig)).

Overleving van de bladluizen

Voor de overleving van de grote bladluizen heb ik alleen gegevens van 3 en 96 uur na het plaatsen van de bladluizen. Voor beide tijdstippen geldt dat er geen significant verschil is gevonden in overleving van de grote bladluizen (Mann Whitney U-toets, $U = 44,5$ (3 u) en $43,5$ (96 u), k.w. = 23 (2-zijdig)).

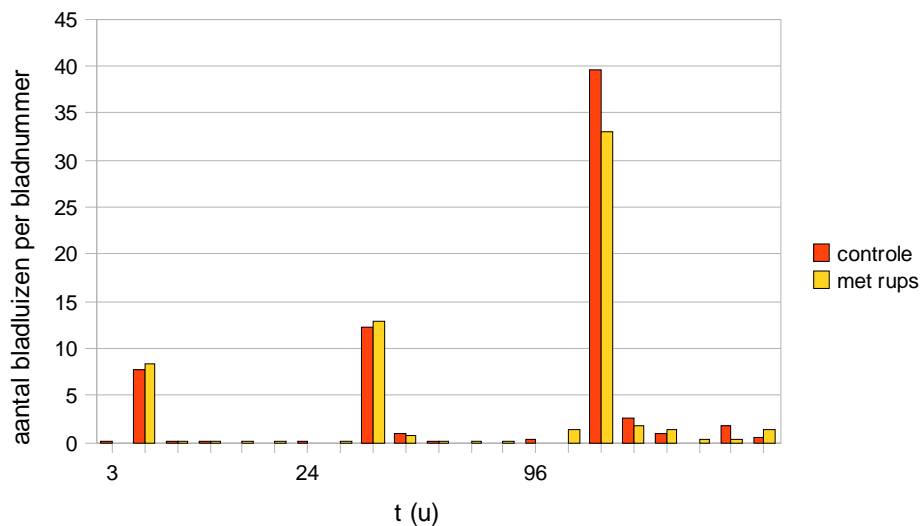


Grafiek 10 Gemiddeld aantal bladluizen per plant. Met is met rupsen, zonder zijn de controle planten

5b

Positie van de bladluizen op de plant

Bij alle onderzochte tijdstippen is er geen significant verschil in positie van de bladluizen op de planten tussen de planten waar rupsen op heb gezeten en controle planten (Kolmogorov-Smirnov two-sample test $K_D = 0.05$ (3u), 0.03 (24u) en 0.03 (96u), kritieke $K_D = 0.65$ (3u), 0.52 (24u) en 0.29 (96 u) ($N = 10$)) (zie grafiek 11).



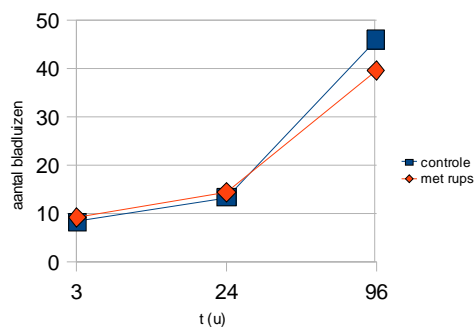
Grafiek 11 Verspreiding van de bladluizen op de planten. Elk staafpaar geeft een bladnummer aan. De luizen zijn geplaatst op bladnummer 5 en geeft daarom het hoogste gemiddelde aantal aan

Reproductie van de bladluizen

Bij het experiment waar de rupsen op de planten blijven is er ook geen significant verschil gevonden bij de reproductie van de grote bladluizen (Mann Whitney U-toets, k.w. = 23 (2-zijdig)). Dit geldt voor alle tijdstippen, waarbij U respectievelijk 49, 43,5 en 32,5 is.

Overleving van de bladluizen

Er is geen significant verschil gevonden bij de overleving van de grote bladluizen, hierbij is U respectievelijk 44, 43 en 41 (Mann Whitney U-toets, k.w. = 23 (2-zijdig)).



Grafiek 12 Gemiddeld aantal bladluizen per plant

Discussie

Naar aanleiding van de in de inleiding besproken artikelen zijn er verschillende verwachtingen af te leiden over de uitkomsten van hetzelfde experiment. Dit geldt vooral voor de experimenten waarbij gekeken wordt naar de invloed van melige koolluis op de voorkeur van rupsen en vlinders. In de meeste gevallen hebben ze voorkeur voor planten/ bladeren waar luis op zit of heeft gezeten. In mijn hypothesen heb ik dat dan ook als uitgangspunt genomen. De melige koolluis heeft in de meeste artikelen geen voorkeur of er is geen verschil in groei.

Het verschil in de verwachtingen kan verklaard worden doordat er in de artikelen experimenten werden gedaan met verschillende insecten en andersoortige experimenten.

Ik heb verschillende artikelen (Thaler et al. 2001, Thaler et al. 2002, Rodriguez-Saona & Thaler, 2005, Bruinsma et al., 2007) gevonden, maar deze blijken niet bruikbaar te zijn voor vergelijking met mijn experimenten. Er is weinig literatuur te vinden over dit soort onderzoeken omdat er nog weinig onderzoek is gedaan naar effecten van aantasting door een bijtend-kauwend plantenetend insect voorafgaand aan aantasting door een prikkend-zuigende soort of vice versa.

1 De ontwikkeling van rupsen van het Klein koolwitje op spruitkoolplanten met melige koolluis (*Brevicoryne brassicae*)

Gewicht van de rupsen

Na verloop van tijd is er minder verschil tussen de ontwikkeling van de rupsen op planten met en zonder bladluis.

Positie van de rupsen

Er is geen significant verschil gevonden in de positie van de rupsen bij de planten met en zonder bladluizen.

Overleving van de rupsen

Er is geen significant verschil gevonden in de overleving van de rupsen bij de planten met en zonder bladluizen. Er lijkt een iets grotere overleving van de rupsen te zijn op de controle planten.

Helaas zaten er op alle spruitkoolplanten met melige koolluis ook groene perzikluizen (*Myzus persicae*) variërend in aantal tussen de 3 en 80 met een mediaan van circa 24, dit zou de uitkomst beïnvloed kunnen hebben. De rupsen zouden dan door meer bladluizen wellicht een lager gemiddeld gewicht dan verwacht gekregen kunnen hebben.

In de inleiding verwachtte ik dat naar aanleiding van het artikel van Inbar et al (1999b) het gewicht van de rupsen op spruitkoolplanten met melige koolluis hoger dan het gewicht van de rupsen op planten zonder bladluizen, maar ik heb geen verschil gevonden. Een verklaring hiervoor zou kunnen zijn dat de planten ook geïnfecteerd waren met groene perzikluis. Ik verwachtte geen verschil in overleving van de rupsen van het Klein Koolwitje op spruitkoolplanten met en zonder melige koolluis, dit heb ik ook niet gevonden. Dit komt overeen met de verwachting.

2 De voorkeur van L2 rupsen van het Groot Koolwitje (*Pieris brassicae*) voor spruitkoolplanten met of zonder melige koolluis (*Brevicoryne brassicae*)

Percentage opgegeten ponsen door rupsen

Bij de combinatie van kleine Petrischaaltjes (5 cm), kleine ponsen (1,5 cm) en vier rupsen van het L2/3 stadium wordt er zowel bij lokale bladeren als de systemische bladeren geen significant verschil gevonden tussen het percentage van de opgegeten ponsen van bladeren waar luizen op hebben gezeten en controle bladeren.

Bij de andere gebruikte combinaties (grote Petrischaaltjes, grote ponsen en L5-rupsen en grote Petrischaaltjes, kleine ponsen en L3 en L4-rupsen) is er bij de lokale bladeren geen significant verschil gevonden. Er is bij beide keren wel gemiddeld iets meer gegeten van de bladeren waar bladluis op heeft gezeten.

Keuze rupsen

De rupsen bevinden zich bij de waargenomen tijdstippen gemiddeld vaker op de ponsen van de controle planten, hierbij zijn ze niet altijd aan het eten.

Op basis van het artikel van Rodrigues-Saona et al. (2005) waren mijn verwachtingen dat de rupsen geen hinder zouden ondervinden van ponsen waar melige koolluis op heeft gezeten en er wellicht meer van zouden nemen dan van controle ponsen of, bij een ander experiment, dat ze voorkeur hebben voor controle ponsen.

Bij de herhalingen van dit experiment zijn er verschillende uitkomsten: de rupsen hebben voorkeur voor de ponsen van controle planten of juist geen voorkeur.

Als er geen voorkeur is wordt er iets meer gegeten van de ponsen waar luizen op hebben gezeten. Mijn hypothese voor dit experiment werd dus niet bevestigd door mijn resultaten. Het verschil in resultaten ten opzichte van het artikel kan komen door het feit dat in mijn experiment de rupsen keuze hadden tussen ponsen van bladeren van controle planten en ponsen van bladeren van planten met bladluizen. Ook werden de ponsen in mijn experiment niet ververst.

3 Eileggedrag van het Groot koolwitje (*Pieris brassicae*) met een keuze tussen spuitkoolplanten met melige koolluis (*Brevicoryne brassicae*) en controleplanten

Het aantal bladluizen is bijgehouden om te kijken of er niet te veel verschillen zijn in aantal. In eerste serie waren er gemiddeld 42 luizen per plant, variërend van 29 tot 61. In de tweede serie waren er gemiddeld 15 luizen per plant, variërend van 10 tot 21 luizen per plant. In het geheel waren er gemiddeld 28 luizen per plant, variërend van 10 tot 61 per plant.

Mijn hypothese was dat de vlinders voor de ovipositie voorkeur hebben voor planten met koolluis op basis van het artikel van Rodrigues-Saona et al. (2005). Er is geen significant verschil gevonden in het aantal gelegde eieren door de volwassen vrouwtjes van de Grote koolwitjes op de spuitkoolplanten met bladluis en controle planten. Dit komt niet overeen met mijn verwachting. Een verklaring voor het niet vinden van een mogelijk significant verschil kan zijn dat er te weinig herhalingen zijn uitgevoerd. Ook is er maar 60 minuten gewacht na het plaatsen van de planten bij de vlinders, beter zou 3 of 4 uur geweest zijn. Daarbij komt dat ook het aantal bladluizen per plant laag was en niet gelijk in aantal. Bij een hoger aantal bladluizen zou er een verschil gevonden kunnen worden.

4 Invloed van rupsen van het Groot koolwitje (*Pieris brassicae*) op de melige koolluis (*Brevicoryne brassicae*)

Positie op de plant

Na 24 uur na het begin van het experiment wordt er significant verschil gevonden tussen spuitkoolplanten met en zonder rupsen van het Grote koolwitje, waarbij er meer verspreiding van de bladluizen wordt gevonden bij de planten met rupsen.

Aantal bladluizen

Alleen in experiment 4a, met de oudere planten, is er na 24 uur verschil gevonden in het aantal bladluizen, met meer luizen op de controle planten.

Ik verwachtte geen verschil in positie van de luizen en aantal luizen naar aanleiding van Inbar et al. (1999a), Mayer et al. (2002) en Rodrigues-Saona et al. (2005). Er wordt pas na 24 uur na het begin van het experiment een verschil gevonden bij de positie op de plant. Ik kan hier geen verklaring voor bedenken. Bij de oudere planten is er na 24 uur een verschil gevonden in aantal bladluizen.

5 Invloed van rupsen van het Groot koolwitje (*Pieris brassicae*) op de reproductie van melige koolluis (*Brevicoryne brassicae*)

Positie van de bladluizen op de plant

Er is bij beide experimenten geen verschil gevonden in positie van de bladluizen op de planten tussen planten waar wel en geen rupsen op hebben gezeten.

Reproductie van de bladluizen

Bij beide experimenten is er geen verschil gevonden in reproductie van grote bladluizen. Bij experiment 5b, waarbij de rupsen op de planten bleven, komt de waarde van U steeds dichterbij de kritieke waarde.

Overleving van de bladluizen

Ook bij de overleving van de bladluizen is er geen verschil gevonden.

Ook bij dit experiment verwachtte ik geen verschil in positie van de luizen, reproductie en overleving van de luizen naar aanleiding van Inbar et al. (1999a), Mayer et al. (2002) en Rodrigues-Saona et al. (2005). In dit experiment wordt er bij alle onderdelen geen verschil gevonden, dit komt overeen met de verwachtingen.

De uitkomsten van experiment 4 en 5 zijn verschillend, dit kan verklaard worden doordat de experimenten niet helemaal gelijk waren.

In experiment 4a werden 50 ei-rupsen van het Grote koolwitje gebruikt die het hele experiment op de planten bleven. In experiment 4b werden circa twee weken jongere planten gebruikt omdat er geen planten van dezelfde leeftijd beschikbaar waren. Omdat deze planten kleiner zijn heb ik 25 ei-rupsen gebruikt in plaats van 50. Bij zowel experiment 4a als 4b heb ik tien melige koolluizen gebruikt.

In experiment 5 werden planten van dezelfde leeftijd als experiment 4b gebruikt. Hierbij heb ik bij zowel experiment 5a als 5b 25 ei-rupsen en acht luizen gebruikt. In experiment 5a werden de rupsen na 48 uur verwijderd en bij experiment 5b bleven de rupsen tijdens het hele experiment op de planten. Bij experiment 4 heb ik zeven keer de luizen geobserveerd tot 24 uur na het plaatsen van de luizen en bij experiment 5 heb ik drie keer de luizen geobserveerd tot 96 uur na het plaatsen van de luizen. Bij experiment 4b en 5b zouden vergelijkbare uitkomsten verwacht worden. Dit is echter niet gebeurd.

Conclusies

Op basis van de uitkomsten van de experimenten kan ik het volgende concluderen:

1. Er is geen verschil in gewicht, positie en overleving van rupsen van het Klein koolwitje op spruitkoolplanten met en zonder melige koolluis.
2. Er is geen verschil in voorkeur van de rupsen van het Groot koolwitje, in termen van de hoeveelheid weggevreten bladoppervlak, voor ponsen van bladeren van spruitkoolplanten waar melige koolluis op heeft gezeten. De rupsen van het Groot koolwitje worden wel significant vaker gevonden op de controle-ponsen.
3. De vrouwtjes van het Groot koolwitje hebben geen voorkeur voor planten met of zonder bladluis voor ovipositie.
4. Er is geen verschil in overleving en reproductie van melige koolluis op planten met of zonder rupsen van het Groot koolwitje. Er is significant verschil in positie vanaf 24 uur na het plaatsen van de bladluizen op de planten.

Er zou meer onderzoek naar de interactie tussen bijtend/kauwende insecten, prikkend/zuigende insecten en de planten waarop ze leven gedaan kunnen worden, omdat in de natuurlijke omgeving vaak een combinatie van meerdere insectensoorten op een plant voorkomt.

Er zouden meer verschillende dichtheden van de gebruikte insecten getest moeten worden voor een beter beeld van de werkelijkheid. Ook kan er gevarieerd worden in de inductietijd van de insecten op de planten. Een andere mogelijkheid is het verwijderen van de eerder geïnduceerde insectensoort voordat de volgende soort op de plant wordt geplaatst. Dit is noodzakelijk om de rol van veranderingen in de plant te kunnen vaststellen. Aangezien directe interacties tussen de insecten niet uitgesloten kunnen worden. Zo kan er beter gekeken worden naar de reactie van de tweede insectensoort op de invloed van de eerste soort via de plant.

Literatuur

- Bruinsma M, Dam NM van, Loon JJA van, Dicke M (2007) *Jasmonic Acid-Induced Changes in Brassica oleracea Affect Oviposition Preference of Two Specialist Herbivores*. J Chem Ecol. 33: 655-668
- De Vos M, Oosten VR van, Poecke RMP van, Pelt JA van, Pozo MJ, Mueller MJ, Buchala AJ, Métraux JP, Loon LC van, Dicke M en Pieterse CMJ (2005) *Signal Signature and Transcriptome Changes of Arabidopsis during Pathogen and Insect attack*. MPMI vol. 18 nr 9: 923-937
- Inbar M, Doostdar H, Leibe GL, Mayer RT (1999a) *The role of the plant rapidly induced responses in asymmetric interspecific interactions among insect herbivores*. J Chem Ecol vol. 25 no 1961-1979
- Inbar M, Doostdar H, Mayer RT (1999b) *Effect of Sessile Whitefly nymphs (Homoptera:Aleyrodidae) on Leaf-Chewing Larvae (Lepidoptera: Noctuidae)*. Environ. Entomol. 28(3): 353-357
- Mayer RT, Inbar M, McKenzie CL, Shatters R, Borowicz V, Albrecht U, Powell CA en Doostdar H (2002) *Multitrophic Interactions of the Silverleaf Whitefly, Host Plants, Competing herbivores and Phytopathogens*. Insects Biochemistry and Physiology 51:151-169
- Rodriguez - Saona C, Chalmers JA, Raj S, Thaler JS (2005) *Induced plant responses to multiple damagers: differential effects on a herbivore and its parasitoid*. Oecologia 143: 566-577
- Rodriguez - Saona C, Thaler JS (2005) *The Jasmonate Pathway alters herbivore feeding behaviour: consequences for plant defences*. Entomol Exp Appl 115: 125-134
- Schoonhoven LM, Loon JJA en Dicke M (2005) *Insect-plant biology*. Oxford University press, New York
- Thaler JS, Fidantsef AL, Bostock RM (2002) *Antagonism between jasmonate- and salicylate-mediated induced plant resistance: effects of concentration and timing of elicitation on defense-related proteins, herbivore, and pathogen performance in tomato*. J Chem Ecol vol. 28: 1131-1159
- Thaler JS, Stout MJ, Korban R, Duffey SS (2001) *Jasmonate-mediated induced plant resistance affects a community of herbivores*. Ecol. Entomol. 26: 312-324

