



LfL

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft

Monitoring der Umweltwirkungen des Bt-Gens

**Forschungsprojekt im Auftrag des Bay-
erischen Staatsministeriums für Umwelt,
Gesundheit und Verbraucherschutz**



7

2005

Schriftenreihe

ISSN 1611-4159

Impressum:

Herausgeber: Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL)
Vöttinger Straße 38, 85354 Freising-Weihenstephan
Internet: <http://www.LfL.bayern.de>

Redaktion: Institut für Pflanzenschutz
Lange Point 10, 85354 Freising-Weihenstephan
Tel.: 08161/71-5651
E-Mail: Pflanzenschutz@LfL.bayern.de

1. Auflage August / 2005

Druck: ES-Druck, 85356 Freising

© LfL

Die Beiträge in dieser Schriftenreihe geben die Meinung des Autors wieder.



LfL

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft

Monitoring der Umweltwirkungen des Bt-Gens

**Forschungsprojekt im Auftrag des Bayerischen Staatsministeriums für
Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz (StMUGV)**

Projektbearbeiter:

Dr. Andreas Lang, Michael Arndt, Institut für Pflanzenschutz

Dr. Robert Beck, Abteilung Qualitätssicherung und Untersuchungswesen

Dr. Johannes Bauchhenß, Institut für Agrarökologie, Ökologischen Landbau und Bodenschutz

Koordinatoren: Dr. Günter Pommer, Michael Arndt

Laufzeit: 01.05.2000 – 31.12.2004

Zusammenfassung der Arbeitsgruppen

1	Einleitung	7
2	Problemstellung und Zielsetzung, Versuchskonzeption	8
3	Darstellung der Ergebnisse nach Arbeitsgruppen	11
3.1	Insekten und Spinnen	11
3.1.1	Blattläuse und Antagonisten	11
3.1.1.1	Aufgabenstellung	11
3.1.1.2	Umfassende Dokumentation und Auswertung der verwendeten Literatur	11
3.1.1.3	Voraussetzungen, unter denen die Arbeiten durchgeführt wurden	12
3.1.1.4	Planung und Ablauf der Arbeiten.....	12
3.1.1.5	Zusammenstellung der Gesamtproblematik und bisher bekannt gewordener Ergebnisse auf dem Gebiet der Aufgabenstellung	13
3.1.1.6	Angewandte wissenschaftliche und technische Methoden	14
3.1.1.7	Während der Durchführung des Forschungsvorhabens bekannt gewordene Fortschritte auf diesem Gebiet bei anderen Stellen.....	15
3.1.1.8	Darstellung und Bewertung der Ergebnisse	15
3.1.1.9	Zusammenfassung.....	18
3.1.1.10	Anhang mit Tabellen, Abbildungen, Literaturverzeichnis.....	20
3.1.2	Schmetterlinge	30
3.1.2.1	Aufgabenstellung	30
3.1.2.2	Umfassende Dokumentation und Auswertung der verwendeten Literatur	30
3.1.2.3	Voraussetzungen, unter denen die Arbeiten durchgeführt wurden	31
3.1.2.4	Planung und Ablauf der Arbeiten.....	31
3.1.2.5	Zusammenstellung der Gesamtproblematik und bisher bekannt gewordener Ergebnisse auf dem Gebiet der Aufgabenstellung	33
3.1.2.6	Angewandte wissenschaftliche und technische Methoden	35
3.1.2.7	Während der Durchführung des Forschungsvorhabens bekannt gewordene Fortschritte auf diesem Gebiet bei anderen Stellen.....	37
3.1.2.8	Darstellung und Bewertung der Ergebnisse	38
3.1.2.9	Zusammenfassung.....	41
3.1.2.10	Anhang mit Tabellen, Abbildungen, Literaturverzeichnis.....	43
3.2	Nematoden	62
3.2.1	Aufgabenstellung	62
3.2.2	Umfassende Dokumentation und Auswertung der verwendeten Literatur	62
3.2.3	Voraussetzungen, unter denen die Arbeiten durchgeführt wurden.....	63

3.2.4	Planung und Ablauf der Arbeiten	64
3.2.5	Zusammenstellung der Gesamtproblematik und bisher bekannt gewordener Ergebnisse auf dem Gebiet der Aufgabenstellung	65
3.2.6	Angewandte wissenschaftliche und technische Methoden	66
3.2.7	Während der Durchführung des Forschungsvorhabens bekannt gewordene Fortschritte auf diesem Gebiet bei anderen Stellen.....	67
3.2.8	Darstellung und Bewertung der Ergebnisse.....	67
3.2.9	Zusammenfassung.....	69
3.2.10	Anhang mit Tabellen, Abbildungen, Literaturverzeichnis.....	70
3.3	Bodenmikrobiologie	82
3.3.1	Aufgabenstellung	82
3.3.2	Umfassende Dokumentation und Auswertung der verwendeten Literatur	82
3.3.3	Voraussetzungen unter denen die Arbeiten durchgeführt wurden.....	82
3.3.4	Planung und Ablauf	82
3.3.5	Zusammenstellung der Gesamtproblematik und bisher bekannt gewordener Ergebnisse auf dem Gebiet der Aufgabenstellung	83
3.3.6	Angewandte wissenschaftliche und technische Methoden	83
3.3.7	Während der Durchführung des Forschungsvorhabens bekannt gewordene Fortschritte auf diesem Gebiet bei anderen Stellen.....	84
3.3.8	Darstellung und Bewertung der Ergebnisse.....	85
3.3.9	Zusammenfassung.....	86
3.3.10	Tabellen, Abbildungen und Literatur	87
3.4	Collembolen und Lumbriciden	92
3.4.1	Aufgabenstellung	92
3.4.2	Umfassende Dokumentation und Auswertung der verwendeten Literatur	92
3.4.3	Voraussetzungen, unter denen die Arbeiten durchgeführt wurden.....	93
3.4.4	Planung und Ablauf der Arbeiten	94
3.4.5	Zusammenstellung der Gesamtproblematik und bisher bekannt gewordener Ergebnisse auf dem Gebiet der Aufgabenstellung	94
3.4.6	Angewandte wissenschaftliche und technische Methoden	94
3.4.7	Zusammenfassung.....	97

Zusammenfassung der Arbeitsgruppen

Im Rahmen des vom Bayerischen Staatsministeriums für Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz (StMUGV) geförderten Forschungsprogramms „Begleitforschung und Überwachung in Verkehr gebrachter gentechnisch veränderter Organismen“ hat die Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) das Teilprojekt „Monitoring der Umweltwirkungen des Bt-Gens“ übernommen.

Während vierjähriger Feldversuche (2000-2003) wurde untersucht, ob durch den Anbau von Bt-Mais, der durch ein insektizidwirksames Protein (Cry1Ab) aus dem Bakterium *Bacillus thuringiensis* vor einem Befall durch den Maiszünsler geschützt ist, Auswirkungen auf Nichtzielorganismen gegeben sind. Neben der Erforschung eventueller Effekte auf ausgewählte Insektengruppen im Maisbestand und am Maisfeldrand wurden zusätzlich bodenmikrobiologische Parameter und Gruppen der Bodenfauna berücksichtigt, da über Ernterückstände und Wurzelausscheidungen Bt-Toxine auch in den Boden gelangen.

Die Untersuchungen erfolgten auf fünf staatlichen Versuchsgütern (Grub, Puch, Bauermannshof, Neuhof, Schwarzenau) auf stationären Versuchspartzellen durch einen vergleichenden Anbau von Bt-Mais (Bt-176 'Navares' und MON810 'Novelis') und den konventionellen isogenen Sorten ('Antares' und 'Nobilis'). Der Umfang des Bt-Maises im Daueranbau betrug je Standort 0.6 ha. Um mögliche Umweltwirkungen von Bt-Mais mit praxisüblichen Spritzmaßnahmen vergleichen zu können, wurde jeweils eine Hälfte dieser Versuchsanlage mit einem Insektizid (Baythroid) zur Maiszünslerbekämpfung behandelt. Zusätzlich standen für Untersuchungen jährlich weitere Bt-Maisflächen mit ca. 2 ha auf wechselnden Schlägen der Staatsbetriebe und Bodendauerbeobachtungsflächen (BDF) in Praxisbetrieben zur Verfügung.

Zusammenfassend ergaben sich aus dem sehr umfangreichen Datenmaterial folgende Ergebnisse:

1. Die untersuchten Parameter zur Bodenmikrobiologie (mikrobielle Biomasse, Enzymaktivität) zeigten bei Bt-Mais keine Veränderungen gegenüber dem konventionellen Maisanbau.
2. Für die Indikatororganismen der bodenzoologischen Untersuchungen (Regenwürmer, Springschwänze, Nematoden) waren keine signifikanten Einflüsse von Bt-Mais nachzuweisen.
3. Bei den meisten der im Bt-Mais und den Kontrollflächen erfassten Nicht-Zielorganismen (Blattläuse, Zikaden, Thripse, Schlupfwespen, Florfliegen, Schwebfliegenlarven, Marienkäfer, räuberische Wanzen und Spinnen) ergaben sich keine oder nur geringe Effekte von Bt-Mais. Demgegenüber waren bei Insektizidanwendung bei einigen Tiergruppen deutlich reduzierte Populationsdichten feststellbar.
4. Im Labor durch Fütterungsversuche mit Pollen von Bt-Mais (Bt176) nachgewiesene negative Effekte auf Schmetterlingsraupen ließen sich im Freiland nicht bestätigen. Durch eine Mantelsaat könnten dieses Risiko und auch eine Auskreuzung von Bt-Mais auf benachbarte Maisbestände mit herkömmlichen Sorten zusätzlich ausgeschlossen werden.

Abschließend ist festzustellen, dass mit dem Anbau von Bt-Mais (Cry1Ab), der eine effektive Bekämpfung des Maiszünslers ermöglicht, nach vorliegendem Kenntnisstand keine anderen Risiken und Nebenwirkungen verbunden sind, als durch Anwendung von seit vielen Jahren auch im Ökolandbau zugelassenen *Bacillus thuringiensis* Präparaten.

Aus ökotoxikologischer Sicht ist ein direkter Vergleich allerdings nur eingeschränkt gültig.

Im Hinblick auf eine gute fachliche Praxis im Pflanzenschutz, nach der Pflanzenschutzmaßnahmen nur gezielt, d.h. orientiert am Schaderregerauftreten durchzuführen sind, sollte Bt-Mais als „Versicherungsmaßnahme“ nur für bekannte Befallslagen in Betracht kommen. Mit Bt-Sorten wird praktisch vorbeugend über die gesamte Vegetationsperiode ein Insektizid angewandt, wodurch nicht zuletzt eine Selektion resistenzbrechender Zünsler gefördert werden kann.

1 Einleitung

Der Anbau gentechnisch veränderter Pflanzen (GVP) nahm in den letzten Jahren weltweit kontinuierlich zu und beträgt inzwischen über 81 Mio. Hektar. Während fünf Länder (USA, Argentinien, Kanada, Brasilien und China) rund 99% der Anbaufläche abdecken, wurden in Europa GVP bislang vorwiegend zu Forschungs- und Genehmigungszwecken angebaut. Grund dafür war ein 1998 von sechs EU-Mitgliedstaaten erwirktes Zulassungsmoratorium, welches infolge verschiedener Studien über die Sicherheit von GVP bis 2004, mit Ausnahme in Spanien, einen kommerziellen Anbau verhinderte.

Ziel des vom Staatsministerium für Landesentwicklung und Umweltfragen (StMLU), seit 14.10.03 Staatsministerium für Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz (StMUGV), geförderten Forschungsprojektes „Monitoring der Umweltwirkungen des Bt-Gens“ an der LfL (vormals LBP) war, nicht durch realitätsferne Modellsysteme vermutete Auswirkungen von Bt-Mais auf die Umwelt nachzuweisen, sondern Erkenntnisse im Rahmen eines möglichst breit angelegten praktischen Anbaus zu gewinnen. Deshalb war geplant, in das Monitoring landesweit sogenannte Bodendauerbeobachtungsflächen (BDF) in Praxisbetrieben mit aufzunehmen. Wegen der allgemein geringen Akzeptanz von GVP nahm das Interesse der Landwirte an einem Vergleichsanbau konventioneller und gentechnisch veränderter Maissorten verständlicherweise ab und der gewünschte Umfang von BDF konnte bei weitem nicht erreicht werden. Während des vierjährigen Versuchszeitraums ging die Anzahl von anfänglich fünf auf null Standorte in 2003 zurück. Die Untersuchungen erfolgten deshalb schwerpunktmäßig auf stationären Dauerfeldversuchen und im Praxisanbau von fünf staatlichen Versuchsgütern. Außerdem mussten einige der ursprünglichen Zielsetzungen in Absprache mit dem Auftraggeber geändert bzw. teilweise ganz aufgegeben werden. Dies betraf hauptsächlich die Arbeitsbereiche „Bienen“ und „Zünslerresistenz“. Beide Themen waren auch Gegenstand mehrjähriger BMBF-Projekte (Auswirkungen von Bt-Maispollen auf die Honigbiene, Förderkennzeichen 0312631J und Ökologische Auswirkungen von insektenresistentem Bt-Mais auf verschiedene Insekten und den Maiszünsler, Förderkennzeichen 031216), deren Ergebnisse erst nach Abschluss dieser Forschungsvorhaben veröffentlicht werden.

Der vorliegende Endbericht zum Bt-Mais-Monitoring enthält die wesentlichen Erkenntnisse zu den bearbeiteten Nichtziel-Organismen, getrennt nach den vier beteiligten Arbeitsgruppen:

1. Insekten und Spinnen
2. Nematoden
3. Bodenmikrobiologie
4. Regenwürmer und Springschwänze.

Die einzelnen Beiträge wurden gemäß den im Bewilligungsschreiben des StMLU vom 13.04.2000 unter § 3 gewünschten Vorgaben gegliedert. Vorangestellt sind einige allgemeine Ausführungen zur Problemstellung, Zielsetzung und Versuchsanstellung.

2 Problemstellung und Zielsetzung, Versuchskonzeption

Am 12. März 2001 verabschiedete das Europäische Parlament die Richtlinie 2001/18/EG über die absichtliche Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen in die Umwelt. Diese Richtlinie schreibt vor, dass neben einer Risikoanalyse vor der Zulassung eines genetisch veränderten Organismus (GVO) auch ein Monitoringplan ausgearbeitet und eingerichtet werden muss, womit mögliche Auswirkungen auf die Umwelt und die menschliche Gesundheit nach der Ausbringung erfasst werden sollen. Die Richtlinie unterscheidet hierbei zwei verschiedene Arten von Monitoring: Zum einen das fallspezifische Monitoring („case specific monitoring“), und zum anderen die allgemeine überwachende Beobachtung („general surveillance“). Das „case specific monitoring“ ergibt sich bei Bedarf aus den Ergebnissen der Risikoanalyse vor der Freisetzung, d.h. ein mögliches und spezifisches Problem soll nach dem Inverkehrbringen eines GVO gezielt beobachtet und verfolgt werden. Der „general surveillance“-Monitoringplan muss für jeden GVO aufgestellt werden und soll der Erfassung unvorhergesehener Effekte von GVOs dienen (Wilhelm et al. 2002).

Das damalige Bayerische Staatsministerium für Landesentwicklung und Umweltfragen finanzierte seit dem Jahr 2000, also bereits vor der Verabschiedung der o.g. EU-Richtlinie, ein umfangreiches Forschungsprogramm zum, das die Bearbeitung relevanter Faktoren der Risikoanalyse und des Monitorings zum Inhalt hatte. An diesem vierjährigen Projekt waren die Technische Universität München (Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung und Lehrstuhl für Vegetationsökologie), das Bayerische Landesamt für Umweltschutz (LfU) und die Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) beteiligt. Die LfL hat dabei das Teilprojekt "Monitoring der Umweltwirkungen des Bt-Gens" übernommen.

Mit Hilfe der Gentechnik ist es möglich, Gene für insektizide Toxine aus dem Bakterium *Bacillus thuringiensis* (Bt) auf den Mais zu übertragen. Dieser gentechnisch veränderte Bt-Mais exprimiert Bt-Endotoxine (CryA1b) mit hoher Spezifität und ist damit gegen Maiszünslerbefall geschützt. Die Untersuchungen an der LfL befassten sich hauptsächlich mit der Frage, ob auch Nichtzielorganismen durch den Einsatz des Bt-Gens betroffen sein können. Im Sinne einer nachhaltigen und umweltverträglichen Landwirtschaft wurde dabei besonderes Augenmerk auf die Schutzziele „Artenschutz“, „Bodenfruchtbarkeit“ und „Biologische Kontrolle“ gelegt. Unter „Artenschutz“ fällt hierbei die eventuelle Gefährdung geschützter und/oder seltener Arten, welche im Agrarökosystem leben. Im Hinblick auf die „Bodenfruchtbarkeit“ ist von Bedeutung, inwieweit Bt-Toxine über Ernterückstände oder Wurzelausscheidungen Auswirkungen auf Bodenorganismen haben. Unter dem Aspekt „Biologische Kontrolle“ wurde untersucht, ob der Anbau von Bt-Mais eventuell den positiven Effekt von Nützlingen zur natürlichen Bekämpfung von Schadorganismen fördert.

Tab. 1 zeigt die ausgewählten „Nicht-Zielorganismen“, die von vier Arbeitsgruppen näher untersucht wurden. Der Schwerpunkt der Arbeiten lag dabei auf dem „case specific“-Monitoring, d.h. mögliche Umweltwirkungen von Bt-Mais wurden im Freiland direkt anhand eines vergleichenden Anbaus von Bt-Mais und den isogenen konventionellen Sorten getestet. Neben diesem Schwerpunkt wurden aber auch Aspekte der primären Risikoanalyse und der „general surveillance“ einbezogen. Das Forschungsprojekt beinhaltete daher sowohl eine freilandrelevante Risikoabschätzung des Anbaues von Bt-Mais als auch methodische Fragen, die zukünftig für ein Monitoring gentechnisch veränderter Pflanzen noch zu lösen sind. Letzteres berührt vor allem die Punkte möglicher monitoring-relevanter Prozesse, die Auswahl geeigneter Monitoringparameter sowie die Definition

und Auswahl geeigneter Referenzsysteme im Vergleich zum Anbau von GVPs. Um eine objektive Beurteilung denkbarer Umweltauswirkungen von Bt-Mais zu ermöglichen, wurden im Rahmen der Versuchsanstellung auch praxisübliche chemische Maßnahmen zur Maiszünslerbekämpfung durchgeführt. Für die Zielsetzungen des Projektes waren deshalb verschiedene Versuchsanstellungen notwendig.

Tab.1: Untersuchungsumfang im Projekt „Monitoring der Umweltwirkungen des Bt-Gens“. Angegeben sind die untersuchten Variablen (Indikatoren) mit den jeweiligen Versuchsanstellungen

Indikatoren	Labor	Daueranbau Körnermais	Praxisanbau	BDF-Flächen
Bodenmikrobiologie		X		X
Collembolen		X		
Regenwürmer		X		X
Bodennematoden	X	X		
Blattläuse und Antagonisten		X		
Tagfalter	X	X	X	
Bienen, Zünslerresistenz*			X	
Fusariumtoxine*		X	X	X

* diese Untersuchungen wurden aufgegeben

Versuchskonzeption

Die direkten Umweltwirkungen des Bt-Gens wurden anhand vergleichender Untersuchungen geprüft. Dazu erfolgte der Anbau von Bt-Mais und Mais der isogenen Sorte ohne Bt-Konstrukt bei gleichen Standortbedingungen. Als Bt-Maissorten wurden Mon810 von Monsanto („Novelis“) und Bt176 von Syngenta („Navares“) ausgewählt, da sie sich in der Expression von CryA1b qualitativ und quantitativ deutlich unterscheiden. Neben dem in der Einleitung bereits erwähnten Vergleichsanbau auf Bodendauerbeobachtungsflächen (BDF) mit üblichen Fruchtfolgen wurden die meisten Untersuchungen auf stationären Versuchsfeldern von Staatsbetrieben mit Daueranbau von Körnermais durchgeführt. Tab. 2 gibt einen Überblick über die fünf Standorte und Abb. 1 zeigt den einheitlichen Versuchsplan. Die Hälfte des Versuches mit acht Großparzellen von jeweils 1500 qm wurde in jedem Jahr einmal mit einem Insektizid (Baythroid 50) gegen den Maiszünsler behandelt, um somit unterschiedlich intensive Eingriffe und die Umweltwirkung von Bt-Mais mit der üblichen Praxis der Zünslerbekämpfung vergleichen zu können. Großparzellen wurden gewählt, um eine gegenseitige Beeinflussung (Randeffekte) der Versuchsglieder möglichst zu vermeiden. Allerdings mussten dadurch, je nach Inhomogenität der Böden, mehr oder weniger große Streuungen bei den Ergebnissen der bodenmikrobiologischen und bodenfaunistischen Untersuchungen auf den Standorten in Kauf genommen werden.

Durch den vierjährigen Daueranbau von Körnermais gelangten große Mengen an Ernteresten in den Boden, weshalb mit einem hohen Eintrag von Bt-Toxinen in den Boden und gegebenenfalls mit einer Anreicherung zu rechnen war. Neben diesem worst-case-scenario erfolgte auf drei der Staatsbetriebe zusätzlich ein „Praxisanbau“ mit jeweils einem Schlag von ca. 2 ha Größe der gleichen Sorte mit und ohne Bt-Gen (Bt176) in etwa 1

km Entfernung voneinander. In diesen Praxisflächen wurden flugfähige oder gut bewegliche Insekten untersucht.

Tab. 2: Standorte der stationären Dauermaisversuche

Staatsgut	Lkr.	Reg.- Bez.	Wetter- Station Nr.	Höhe über NN	Bodentyp	Ackerzahl Bodenart	Temp. Jahres- mittel °C	Niedersch. mm langj. Mittel
Baumannshof	PAF	Obb.	36	365	Braunerde	25 hS	7,8	636
Puch	FFB	Obb.	5	550	Rendzina	66 lS	8,0	920
Grub	EBE	Obb.	124	525	Parabraunerde	43 sL	7,4	967
Neuhof	DON	Schw.	99	516	Pseudogley	58 uL	7,6	764
Schwarzenau	KT	Ufr.	39	200	Pararendzina	74 uL	8,5	620

Bt176 (Navares)	Konventionell (Antares)	Bt Mon810 (Novelis)	Konventionell (Nobilis)
ohne Insektizid	ohne Insektizid	ohne Insektizid	ohne Insektizid
Bt176 (Navares)	Konventionell (Antares)	Bt Mon810 (Novelis)	Konventionell (Nobilis)
mit Insektizid	mit Insektizid	mit Insektizid	mit Insektizid

Abb.1: Versuchsplan für den stationären Dauermaisbau

Bei einigen der in Tab. 1 enthaltenen Indikatoren wurden neben den Felduntersuchungen zusätzlich Laborexperimente durchgeführt, um unter kontrollierten Bedingungen Ursache-Wirkungs-Beziehungen nachweisen zu können, die im Freiland mit vertretbarem Aufwand i.d.R. statistisch nur schwer abzusichern sind. Gerade im Hinblick auf den zukünftigen Anbau weiterer in den USA bereits zugelassener Bt-Mais Sorten, die andere Bt-Toxine exprimieren (z.B. Cry3Bb1) und den Pflanzen dadurch eine Resistenz gegen Maiswurzelbohrer verleihen, wären geeignete Bioindikatoren und standardisierbare Testverfahren sehr hilfreich und eine gute Ergänzung für ein Monitoring. Insofern wurde im Rahmen des Projekts auch Begleitforschung betrieben, die der vorliegende Bericht mit beinhaltet. Selbst wenn Aussagen von Labortests und deren Übertragbarkeit auf Freilandbedingungen nicht unumstritten sind, beruht z.B. die Nützlingsprüfung bei der Zulassung von chemischen Pflanzenschutzmitteln auf solchen Screenings.

Wilhelm, R., Beißner, L., Schiemann, J. (2002): Gestaltung des Monitoring der Auswirkungen gentechnisch veränderter Pflanzen im Agrarökosystem. *Gesunde Pflanzen* 54, 194-206.

3 Darstellung der Ergebnisse nach Arbeitsgruppen

3.1 Insekten und Spinnen

3.1.1 Blattläuse und Antagonisten

3.1.1.1 Aufgabenstellung

Ziel dieses Teilprojektes war es, die potentiellen Risiken eines Anbaus von Bt-Mais auf Nichtzielorganismen im Freiland zu untersuchen. Die Aufnahme von Bt-Toxin kann neben dem Zielorganismus, dem Maiszünsler (*Ostrinia nubilalis*, Lepidoptera), auch so genannte Nichtzielorganismen wie andere wirbellose Tierarten im Maisbestand negativ beeinflussen. Hinsichtlich transgenem Bt-Mais kann die Aufnahme des Bt-Toxins durch Nichtzielorganismen über verschiedene, potentielle Wege erfolgen: 1.) Der Nichtzielorganismus konsumiert Pflanzenmaterial und -stoffe der Maispflanze, 2.) Am Boden und auf den Maispflanzen während der Schüttung deponierter Pollen wird von den Organismen aufgenommen, 3.) Nichtzielorganismen suchen den Maisblütenstand aktiv auf und fressen dort Pollen, 4.) Räuberische Nichtzielorganismen fressen Beutetiere, welche vorher transgenes Maismaterial aufgenommen haben. Des weiteren könnten sich auch Verschiebungen auf unteren Nahrungsebenen wie z.B. Pflanzensaugern indirekt auf Populationen höherer Trophiestufen (Räuber) auswirken. Anhand von Freilandaufnahmen (Monitoring) in Maisfeldern sollte nun geprüft werden, ob der Anbau von Bt-Mais wirbellose Tiere negativ beeinflusst. Des weiteren wurde zum Vergleich und als Referenz der Effekt einer herkömmlichen Schadinsektenbekämpfung, eine Insektizidanwendung mit Baythroid, untersucht. Der Schwerpunkt der Untersuchungen lag auf den Haupt-Pflanzensaugern im Mais, den Blattläusen, sowie deren Gegenspielern („Nützlinge“). Mit Berücksichtigung dieser Antagonisten wurde gleichzeitig geprüft, ob Bt-Mais und Insektizidanwendung eine Auswirkung auf die biologische Kontrolle der Blattläuse besitzen.

3.1.1.2 Umfassende Dokumentation und Auswertung der verwendeten Literatur

Publizierte Arbeiten zu Freilandeffekten von Bt-Mais auf Nichtzielorganismen sind erst in den letzten Jahren während der Laufzeit dieses Projektes häufiger erschienen (Tab. 1). Diese Arbeiten sind recht divers hinsichtlich der untersuchten Tiergruppen, des Untersuchungszeitraumes, der verwendeten Maissorten, der Feldgrößen, des Stichprobenumfanges, der verwendeten Nachweismethoden, der geographischen Lage und anderes mehr, was einen direkten Vergleich dieser Studien erschwert (Orr & Landis 1997, Pilcher et al. 1997, Lozzia 1999, Manachini 2000, Wold et al. 2001, Bourguet et al. 2002, Hassell & Shepard 2002, Jasinski et al. 2003, Kiss et al. 2003, Musser & Shelton 2003, Dively & Rose 2003, Pons & Starý 2003, Volkmar & Freier 2003, Candolfi et al. 2004, Lumbierres et al. 2004). Ein Großteil dieser Studien stammt aus den USA (47%), jeweils 13% (= 2 Publikationen) aus Frankreich, Italien und Spanien, und nur je eine einzige aus Ungarn sowie Deutschland (Volkmar & Freier 2003). Sechs Arbeiten (40%) umfassten nur eine Untersuchungsperiode von einem Jahr, acht Studien gingen über zwei Jahre (53%) und nur eine Arbeit aus Spanien lief drei Jahre. Hauptsächlich wurden blattlausfressende Raubarthropoden untersucht wie z.B. Marienkäfer (Coccinellidae), Florfliegen (Neuroptera), parasitische Wespen (Hymenoptera) und räuberische Wanzen (Anthocoridae, Nabidae). Unter den herbivoren Organismen wurden überwiegend Blattläuse (67%) und Zikaden (67%) aufgenommen, gefolgt von Thripsen (40%).

Laborstudien zu Effekten von Bt-Mais und Cry1A(b)-Toxin auf Blattläuse und Antagonisten erschienen ebenfalls vermehrt erst in den letzten Jahren, bisweilen kombiniert mit Freilandaufnahmen (Pilcher et al. 1997, Hilbeck et al. 1998a,b, 1999, Lozzia et al. 1998, Zwahlen et al. 2000, Meier & Hilbeck 2001, Dutton et al. 2002, Lumbierres et al. 2004, Romeis et al. 2004). Am häufigsten wurden Larven von *Chrysoperla carnea* (Neuroptera) untersucht (in acht der elf aufgeführten Referenzen), daneben noch Marienkäfer, räuberische Wanzen sowie Blattläuse und Spinnmilben (Tab. 2).

3.1.1.3 Voraussetzungen, unter denen die Arbeiten durchgeführt wurden

Die entomologischen Untersuchungen zu Blattläusen und Antagonisten fanden auf den Flächen des Mais-Daueranbaues auf fünf Versuchsgütern von 2001 bis 2003 statt (siehe Kapitel 2 „Problemstellung und Zielsetzung, Versuchskonzeption). Auf jedem Versuchsgut war ein randomisiertes Blockdesign mit 8 Parzellen realisiert. Die acht unterschiedlichen Parzellen und Behandlungen ergaben sich aus den zwei Bt-Maissorten (Bt176 Navares, Mon810 Novelis), den jeweiligen isogenen Kontrolllinien (Antares, Nobilis), und einer Insektizidbehandlung mit Baythroid 50 auf der Hälfte der Parzellen (2 Bt-Sorten * 2 Kontrollsorten * 2 Insektizidbehandlungen = 8 Plots). Die Bearbeitung der acht Parzellen eines Standortes mit An- und Abfahrt erforderte durchschnittlich einen Arbeitstag für vier Personen. Das heißt, für einen Bearbeitungsdurchgang aller Versuchsgüter mussten jeweils fünf Tage veranschlagt werden. Hierzu musste immer eine stabile Schönwetterperiode abgewartet werden, damit die einzelnen Aufnahmetage sich zeitlich nicht zu sehr zwischen den Versuchsgütern unterschieden. Bei Abständen > 2 Wochen sind die Aufnahmen aufgrund der kurzen Generationszeit der Insekten nur noch bedingt vergleichbar. Das Teilprojekt musste mit weniger Personal als ursprünglich geplant durchgeführt werden. Die eingeplante Stelle einer Biologielaborantin konnte aufgrund eines Wechsels der Mitarbeiterin und anschließender Streichung der Stelle nur in der Saison 2001 eingebracht werden. Bedingt durch einen Personalwechsel war auch die Beteiligung der Arbeitsbereichsleitung „Schädlinge, Nützlinge, Vorratsschutz“ (IPS 2d) nicht wie vorgesehen möglich. Dieser Personalausfall konnte nur bedingt durch die Anstellung von saisonalen Hilfskräften kompensiert werden. Saisonale Hilfskräfte können insbesondere nicht zur Bestimmung von Tiergruppen im Feld eingesetzt werden.

3.1.1.4 Planung und Ablauf der Arbeiten

Geplant war, auf allen Versuchsgütern in allen Parzellen des Daueranbaus 4 – 5 Aufnahmen pro Saison (2001 – 2003) durchzuführen. Bei eventuellen freien Kapazitäten sollten dann soweit möglich noch BDF-Flächen bearbeitet werden. In der Saison 2000 wurde die Datenaufnahme und –methodik auf den Flächen des Versuchsgutes Grub erprobt, validiert und letztendlich optimiert. Dabei zeigte sich, dass die Bonitur der verschiedenen Tiergruppen sehr zeit- und arbeitsaufwendig ist. Im Schnitt benötigte die Boniturierung von 10 Maispflanzen ein bis zwei Personenstunden (ohne An- und Abfahrt), so dass für einen Boniturtermin auf einem Feld „Daueranbau im Körnermais“ vier Personen einen Arbeitstag lang beschäftigt waren. Im Jahr 2001 wurden nur die Flächen des Daueranbaus von drei Versuchsgütern bearbeitet (Grub, Neuhof, Baumannshof). Die Felder in Puch waren durch Hagelzüge zu stark geschädigt, und das am weitesten entfernt liegende Gut Schwarzenau konnte bei der im Jahr 2001 extrem angespannten Personallage nicht bearbeitet werden. In den Jahren 2002 und 2003 wurden die Daueranbauflächen aller fünf Versuchsstandorte beprobt. Aufgrund der unter 3.3.1.3 dargelegten Personaleinschränkungen, reduzierte sich die Anzahl pro Saison durchgeführter Erhebungen auf drei Termine. Die Boniturtermine lagen vor der Insektizidanwendung (und Blüte), nach der Insektizid-

anwendung (und Blüte), und zur Vollreife (nur im Jahr 2001 konnte der erste Termin aufgrund der äußeren Umstände erst kurz nach der Insektizidanwendung wahrgenommen werden). Aufgrund der Personalknappheit konnten keine zusätzlichen BDF-Flächen bearbeitet werden.

3.1.1.5 Zusammenstellung der Gesamtproblematik und bisher bekannt gewordener Ergebnisse auf dem Gebiet der Aufgabenstellung

Die Verwendung von Bt-Spritzmitteln wird im allgemeinen als sehr nützlichsschonend bewertet, da die verschiedenen Bt-Endotoxine sehr spezifisch auf die jeweiligen Schädlinge wirken. Nebenwirkungen auf Nichtzielorganismen sind zwar bekannt, beschränken sich im allgemeinen jedoch auf Vertreter aus der systematischen Ordnung der betreffenden Schadorganismen (Glare & O'Callaghan 2000). Im Bt-Mais liegt das Toxin jedoch in einer (teil-)aktivierten Form vor (inaktiv im Bt-Spritzmittel), wird kontinuierlich über die ganze Saison in der Pflanze produziert, und von den verschiedensten Herbivoren (Pflanzenkonsumenten) und Räubern aufgenommen und in höhere Nahrungsnetzebenen weiter befördert. Aus diesen Umständen ergibt sich u.a. die Notwendigkeit einer Überprüfung und Bewertung dieser neuartigen Pflanzenschutzmaßnahme auf ihre Wirkung auf Nichtzielorganismen. Das im Bt-Mais gebildete Toxin stammt von *Bt* var. *kurstaki* und wirkt damit spezifisch gegen den Maiszünsler und andere Schmetterlingsarten. Bei Schmetterlingsarten sind bisher auch die meisten negativen Effekte von Bt-Mais auf Nichtzielarten beschrieben worden (s. 3.4 Tagfalter). Toxikologische Laborstudien mit Bt-Mais und wirbellosen Räubern existieren relativ wenig (Tab. 2) und konzentrieren sich hauptsächlich auf Larven der Florfliege *Chrysoperla carnea* (Neuroptera). Die Ergebnisse sind widersprüchlich. Hilbeck und Kollegen fanden eine erhöhte Mortalität und eine verzögerte Entwicklung bei Florfliegenlarven nach Konsumierung von isoliertem Cry1A(b)-Toxin sowie von Schmetterlingslarven, welche vorher auf Bt-Mais gehalten wurden (Hilbeck et al. 1998a,b, 1999). Romeis et al. (2004) fanden keinerlei Effekt bei Gabe von Cry1A(b)-Toxin. Dutton et al. (2002) fanden nur einen Effekt (Mortalität, Entwicklungszeit) bei Fütterung mit Schmetterlingslarven, die vorher an Bt-Mais fraßen, nicht jedoch bei Verfütterung von Blattläusen und Milben, die vorher Bt-Mais konsumierten. Romeis et al. (2004) interpretieren diese Ergebnisse so, dass Bt-Toxin keinen Effekt auf die Florfliegenlarven habe, der Fraß an Bt-Mais aber Schmetterlingslarven schwäche und sich so ihre Nahrungsqualität für Räuber wie *C. carnea* erniedrige, was negative Auswirkungen auf eben diese Räuber zur Folge habe. Da Blattläuse das Bt-Toxin offensichtlich nicht aufnehmen (Head et al. 2001, Raps et al. 2001, Dutton et al. 2002), geben sie es auch nicht an Räuber weiter. Des weiteren präferieren Florfliegenlarven Blattläuse, und bevorzugen Schmetterlingslarven, die auf Mais ohne Bt-Toxin gefressen haben (Meier & Hilbeck 2001). Beide Umstände dürften zu einer Verringerung der Exposition mit Bt-Toxin im Freiland führen. An weiteren Raubarthropoden wurden bisher sonst nur noch Marienkäfer und räuberische Wanzen untersucht, und keine negativen Effekte gefunden (Pilcher et al. 1997, Zwahlen et al. 2000). Da das Bt-Toxin nicht im Phloem transportiert wird, wird auch kein Effekt auf die Phloem-Sauger Blattläuse erwartet (Head et al. 2001, Raps et al. 2001, Dutton et al. 2002). Dennoch berichten Lumbierres et al. (2004) von einem negativen Effekt auf die Blattlaus *Rhopalosiphum padi*, allerdings nur auf die ungeflügelte Form. Die geflügelte Form zeigte eine positive Reaktion auf Bt-Mais, nämlich eine kürzere Entwicklungszeit und eine höhere Reproduktionsrate. Lumbierres et al. erklären dies mit „pleiotropen“ Effekten, also unerwarteten Sorteneigenschaften des Bt-Events, welche die Nahrungsqualität der Pflanze im Vergleich zur isogenen Linie für Blattläuse verändern, wobei sich die ge-

flügelten und ungeflügelten Formen an diese veränderte Qualität unterschiedlich anzupassen scheinen.

Im Freiland wurde in den letzten Jahren eine Vielzahl von Organismen, Räuber wie Pflanzenkonsumenten, in Bt-Maisfeldern untersucht (Tab. 1). Mit Ausnahme der Arbeiten von Dively & Rose (2003) und Candolfi et al. (2004) wurden keine negativen Effekte auf Nichtzielorganismen (exklusive Lepidoptera) gefunden. Man muss jedoch die Beschränkungen einiger dieser Studien berücksichtigen, insbesondere hinsichtlich der Feldgröße, der Untersuchungsdauer und des Stichprobenumfangs (insgesamt und pro Saison). Aufgrund dieser Einschränkungen lässt sich ein Nicht-Effekt nur mit einer gewissen, teilweise geringen Wahrscheinlichkeit ausschließen (vgl. Bourguet et al. 2002, Perry et al. 2003, Lang 2004). Insbesondere Langzeit-Studien auf realistischen Feldgrößen sind hier in Zukunft gefragt. Des Weiteren wird von positiven Effekten auf bestimmte Tiergruppen berichtet (Tab. 1), jedoch keinerlei Erklärung für diese Befunde angeboten. Möglicherweise sind hier wiederum pleiotrope Effekte, wie bei den Blattläusen vermutet, im Spiel (s.o., Lumbierres et al. 2004).

3.1.1.6 Angewandte wissenschaftliche und technische Methoden

In jeder Parzelle wurden 10 Maispflanzen mit Farbbändern markiert und die Tiere auf diesen markierten Pflanzen zu den drei Erfassungsterminen pro Saison aufgenommen. Ausgehend vom Westrand einer jeden Parzelle wurden jeweils 2 Pflanzen aus der 10., der 15., der 20., der 25. und der 30. Reihe markiert. Die erste Pflanze einer jeden Reihe befand sich in einem Abstand von 15m zum Parzellenrand, und die zweite Pflanze in 30m Entfernung. Dies ergab pro Parzelle (= Behandlung) zehn beprobte Maispflanzen, d.h. pro Saison 30 Werte (10 Pflanzen * 3 Aufnahmetermine). Die zehn Einzelwerte einer Parzelle eines Standortes wurden zusammengefasst, so dass sich für jedes Jahr eine Wiederholung von fünf pro Behandlung ergab (= 5 Standorte). Die je drei Erfassungsperioden pro Jahr lagen in 2001 in den Kalenderwochen (KW) 28 – 31, 35 – 36 und 38 – 40, in 2002 in KW 26 – 27, 31 – 32 und 35 – 36, und in 2003 in KW 26, 30 – 31 und 33 – 34.

Zur Datenaufnahme wurde jede einzelne Maispflanze visuell untersucht beginnend bei der Rispe, dann das Fahnenblatt und die restlichen Blätter und schließlich der Kolben. Bei den Blättern wurden sowohl Ober- als auch Unterseite, und beim Kolben auch das Kolbeninnere kontrolliert. Folgende Tiergruppen wurden aufgenommen: Blattläuse auf Artniveau, Zikaden, Schlupfwespen (Adulte, Mumien), Florfliegen (Adulte, Larven, Eier), Schwebfliegen (Larven, Eier), Marienkäfer (Adulte, Puppen, Larven, Eier), räuberische Wanzen, und Spinnen. Mit Ausnahme der Blattläuse, die direkt im Gelände angesprochen werden können, wurde auf eine Artbestimmung verzichtet, da hierzu viele Organismen hätten eingesammelt und im Labor bestimmt werden müssen. Darauf wurde verzichtet, um das System durch diese destruktive Aufnahmemethode nicht zu sehr zu stören, und um diesen zusätzlichen, enorm hohen Arbeitsaufwand zu vermeiden. Zur Auswertung wurden alle Blattlausarten und -stadien zusammengefasst. Die spezifischen Blattlausräuber wurden ebenfalls zusammengefasst (adulte Florfliegen, Florfliegen-Larven, adulte Marienkäfer, Marienkäfer-Larven, Schwebfliegen-Larven), da die Populationsdichten der einzelnen Gruppen für eine Analyse zu gering waren. Zu den „räuberischen“ Wanzen wurden Vertreter aus den Familien Anthocoridae, Reduviidae und Nabidae zusammengefasst.

Die einzelnen Jahre wurden getrennt ausgewertet. Zur statistischen Auswertung wurden die Aufnahmen pro Parzelle zu einem Jahresmittelwert zusammengefasst und transformiert ($\ln(x+1)$). Diese Werte wurden dann mit einer mehr-faktoriellen ANOVA getestet. Hauptfaktoren waren Bt-Status (ja/nein), Insektizidanwendung (ja/nein) und Firma (Syn-

genta, Monsanto), als zufälliger Faktor wurde der Standort (5 verschiedene) berücksichtigt. „Firma“ wurde als Faktor berücksichtigt, da sich die Bt-Sorten der beiden Firmen unterscheiden, z.B. im Toxingehalt, in der Toxinexprimierung in verschiedenen Geweben, in der Reifezahl, u.a.m.. In einer zusätzlichen Analyse wurde eine ANOVA für Messwiederholungen durchgeführt, um zu prüfen, ob einer der Faktoren eine signifikante Interaktion mit dem Datum hat, d.h. zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Saison unterschiedlich wirkt. Die Faktoren der ANOVA für Messwiederholungen waren Bt, Insektizidanwendung und Standort. Die Werte ($\ln(x+1)$) waren die Mittelwerte einer Parzelle eines Aufnahme datums. Zur Berechnung wurde das Statistikprogramm SPSS, Version 11, verwendet.

3.1.1.7 Während der Durchführung des Forschungsvorhabens bekannt gewordene Fortschritte auf diesem Gebiet bei anderen Stellen

Die während der Laufzeit des Forschungsprogramms erschienenen neueren Publikationen wurden bereits unter „3.3.1.5 Zusammenstellung der Gesamtproblematik und bisher bekannt gewordener Ergebnisse auf dem Gebiet der Aufgabenstellung“ abgehandelt. In der AG Lang wurde aber noch ein weiteres Projekt mit Bt-Mais, das vom BMBF gefördert wurde (FKZ 0312631A), bearbeitet. Frau Dipl.-Biol. Claudia Ludy und Herrn Dipl.-Biol. Michael Meissle oblag hierbei die Bearbeitung möglicher Bt-Mais-Effekte auf Spinnenpopulationen in Maisfeldern und deren Rändern. In diesen Untersuchungen wurden neben den Abundanzen auch die Artenzusammensetzung der Spinnengemeinschaften berücksichtigt. Die Untersuchungen zeigten, dass für ein Spinnen-Monitoring auf Artniveau das Absaugen der Maispflanzen mit handlichen Vakuum-Saugern die vergleichsweise beste Erfassungsmethode ist (Meissle 2002, Ludy & Lang 2004a). Eine visuelle Erfassung wie bei der vorliegenden Studie bringt vergleichbare Ergebnisse bezüglich der Abundanzen, liefert jedoch keinerlei Information über die Artenzusammensetzung. Negative Effekte auf die Populationsdichten der Spinnen wurden im Jahr 2001 gefunden, in 2002 war kein Unterschied zwischen Bt-Feldern und Kontrollfeldern feststellbar, und im Jahr 2003 waren in Bt-Flächen höhere Spinnenabundanzen zu verzeichnen (Meissle 2002, Ludy & Lang 2004b). Im Artenreichtum ergab sich 2001 und 2002 kein Unterschied, und 2003 waren mehr Spinnenarten in Bt-Maisfeldern feststellbar. In toxikologischen Laborexperimenten hatte die Konsumierung von Bt-Toxin, Bt-Maispollen und/oder von Bienen mit Bt-Maispollentracht keinen negativen Effekt auf Streifenkreuzspinnen, Gartenkreuzspinnen und Wespenspinnen (untersucht wurden Mortalität, Überlebensdauer, Gewichtszunahme, Reaktion auf Beute und Netzparameter) (Ludy & Lang 2004b). Im Rahmen des erwähnten BMBF-Forschungsverbundes wurden von anderen Stellen weitere Untersuchungen angestellt. Die vorläufigen Ergebnisse sind momentan (21. Juni 2004) als Posterbeiträge im Internet abrufbar unter <http://www.biosicherheit.de/forschungsergebnisse/295.doku.html>.

3.1.1.8 Darstellung und Bewertung der Ergebnisse

Allgemein lässt sich sagen, dass bei allen Tiergruppen und in allen Jahren der Standort (Versuchsgut) ausnahmslos einen signifikanten Einfluss auf die Abundanzen hatte (ANOVA, $p < 0.05$). Des Weiteren war des öfteren eine Interaktion zwischen Standort und Boniturdatum erkennbar, d.h. die Populationsentwicklung verlief unterschiedlich zwischen den Standorten (repeated-measurement ANOVA, $p < 0.05$). Beide Faktoren erhöhten die Varianz des Datensatzes und erschweren den statistischen Nachweis eines eventuell vorhandenen Effektes von Bt-Mais auf die Populationsdichten.

An Blattläusen wurden drei Arten festgestellt: *Rhopalosiphum padi* (Haferlaus), *Metopolophium dirhodum* (Bleiche Getreideläus) und *Sitobion avenae* (Große Getreideläus). Ins-

gesamt war eindeutig *R. padi* die dominierende Art, lediglich bei den ersten Bonitur-Terminen war *M. dirhodum* häufiger anzutreffen. *S. avenae* wurde nur in Einzelexemplaren gefunden. Im Jahre 2001 waren die Zahlen der Blattläuse im Bt-Mais signifikant erniedrigt (Abb. 1, ANOVA, $p < 0.01$). Die Interaktion Bt * Firma wies darauf hin, dass diese Reduktion nur im Mon810-Mais auftrat (Abb. 1A, ANOVA, $p < 0.05$). Auch im Jahre 2002 zeigte sich ein Trend zu niedrigeren Blattlauszahlen im Bt-Mais (Abb. 1, ANOVA, $p = 0.063$). Im außergewöhnlich heißen und trockenem Sommer 2003 waren so gut wie keine Blattläuse im Mais vorhanden, und somit auch keine Effekte testbar (Abb. 1). Im Jahr 2001 führte die Insektizidanwendung zu einer Erhöhung der Blattlauszahlen im Monsanto-Mais (ANOVA, Insektizid * Firma, $p < 0.05$), was sich auch 2002 andeutete (repeated-measurement ANOVA, Insektizid * Firma, $p = 0.092$). Die niedrigeren Zahlen im Bt-Mais sind vermutlich nicht auf einen direkten Bt-Effekt zurück zu führen, da Blattläuse beim Saugen an Bt-Mais ja kein Cry1A(b) aufnehmen (Head et al. 2001, Raps et al. 2001, Dutton et al. 2002). Wahrscheinlich sind auch hier pleiotrope Effekte zu vermuten (Saxena & Stotzky 2001), die möglicherweise die Nahrungsqualität von Mon810-Mais für Blattläuse vermindern (cf. Lumbierres et al. 2004). Insektizidanwendung führte zu einer Erhöhung der Blattlauszahlen, weil durch das Insektizid auch die Antagonisten vernichtet wurden. Aufgrund ihrer hohen Immigrationsrate und kurzen Generationszeit können die Blattläuse die Insektizidanwendung besser kompensieren als die Raubarthropoden und „entkommen“ so der biologischen Kontrolle, da die Antagonisten die daraus resultierenden extrem hohen Blattlausdichten nicht mehr „in den Griff bekommen“.

Bt-Mais hatte keinen Effekt auf Zikaden (Abb. 2). Die Anwendung von Baythroid 50 führte in allen drei Jahren zu einer deutlichen Reduktion der Zikaden-Zahlen (Abb. 2, repeated-measurement ANOVA, $p < 0.01$), das Insektizid wirkte jedoch nicht immer auf allen Versuchsgütern gleich stark (repeated-measurement ANOVA, Interaktion Standort * Insektizid, $p < 0.05 - 0.10$).

Bt-Mais hatte 2001 einen Effekt auf die Blattlaus-Räuber (Abb. 3, ANOVA, $p < 0.05$). Die Zahlen waren im Bt-Mais reduziert, allerdings nur im Bt176-Mais von Syngenta (Abb. 3B, ANOVA, Interaktion Bt * Firma, $p < 0.05$). Im Jahr 2002 war der Bt-Effekt vom Datum abhängig (repeated-measurement ANOVA, Interaktion Datum * Bt, $p < 0.05$). Im Jahr 2003 war ebenfalls ein Bt-Effekt erkennbar, allerdings gegenläufig mit höheren Zahlen im Bt-Mais (Abb. 3, ANOVA, $p = 0.05$). Der Insektizideffekt zeigte sich sehr variabel. Der Grund ist darin zu suchen, dass sich hier negative letale Effekte auf die Populationen mit positiven Folgeerscheinungen wie verstärkte Zuwanderung der Räuber aufgrund der hohen Blattlauszahlen (s.o.) überlagerten, und dies auch noch durch Standortfaktoren unterschiedlich beeinflusst wurde. Im Jahre 2001 schien die Baythroid-Wirkung vom Standort (Interaktion Insektizid * Standort, $p = 0.09$) und der Firma (Insektizid * Firma, $p = 0.056$) abhängig zu sein, im Jahr 2002 war die Auswirkung des Insektizids in Monsanto- und Syngenta-Mais unterschiedlich (Insektizid * Firma, $p < 0.05$), und im Jahr 2003 waren in allen insektizid-behandelten Parzellen weniger Blattlausräuber nach der Applikation vorhanden (repeated-measurement ANOVA, Insektizid * Datum, $p < 0.05$).

Bt-Mais hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Anzahl der „Mumien“ (= Anzahl der durch Schlupfwespen parasitierten Blattläuse). Insektizidanwendung schien einen positiven Effekt auf die Anzahl der Mumien zu haben (Abb. 4, repeated-measurement ANOVA, $p < 0.05$ für alle Jahre), da in den insektizid-behandelten Parzellen mehr Blattläuse vorkamen (Abb. 1), und somit die Schlupfwespen auch mehr Blattläuse parasitieren konnten. Ein eindeutiger positiver oder negativer Effekt auf die Parasitierungsrate (= Anteil der

parasitierten Blattläuse) war nicht schlüssig zu belegen, weder aufgrund von Bt-Mais noch von Insektizidanwendung.

Die räuberischen Wanzen gehörten neben den Spinnen zu den häufigsten wirbellosen Räubern im Mais. In allen drei Jahren ergaben sich Hinweise auf einen Bt-Effekt auf die Zahlen der räuberischen Wanzen (repeated-measurement ANOVA, $p < 0.05$ für 2001 und 2002; ANOVA, Bt * Firma, $p = 0.089$ für 2003). In 2001 und 2002 waren die räuberischen Wanzen in Bt-Maisfeldern reduziert, während die Dichten 2003 im Bt-Mais höher waren als in konventionellen Kontrollfeldern (Abb. 5). Insektizidanwendung führte in allen drei Jahren zu einer deutlichen Reduktion der räuberischen Wanzen (repeated-measurement ANOVA, $p < 0.05$).

Die Spinnen waren neben den räuberischen Wanzen die dominanten Raubarthropoden in den Maisfeldern. Die Abundanzen der Spinnen waren 2001 im Bt-Mais niedriger (repeated-measurement ANOVA, $p < 0.05$), und zwar ausgeprägter im Bt176 von Syngenta (Abb. 6B, ANOVA, Bt * Firma, $p < 0.05$). In den Jahren 2002 und 2003 war kein signifikanter Unterschied zwischen Bt-Mais und Kontrollmais auszumachen (Abb. 6). Die Populationsdichten der Spinnen waren in allen drei Jahren in den insektizidbehandelten Parzellen niedriger als in den unbehandelten (repeated-measurement ANOVA, $p < 0.05$).

Von den Blattläusen abgesehen hatte die Insektizidanwendung eine drastische negative Wirkung auf die Abundanzen aller untersuchten Invertebraten, insbesondere auf die Spinnen und räuberischen Wanzen (Abb. 5 und 6). Der negative Effekt des Insektizids wurde häufiger nachgewiesen und war vergleichsweise größer als die gefundenen negativen Bt-Effekte. Es muss allerdings betont werden, dass entgegen den Resultaten bisheriger Freilandstudien reduzierte Abundanzen von räuberischen Arthropoden im Bt-Mais nachweisbar waren. Dies betrifft die spezifischen Blattlausräuber im Jahr 2001, die Spinnen im Jahr 2001, und die räuberischen Wanzen in den Jahren 2001 und 2002. Ein Problem eines relativ unspezifischen Monitorings ist es, dass es oft schwierig ist, direkte kausale Ursachen für einen gefundenen Effekt zu belegen. So könnte es sich hier um einen direkten oder indirekten toxikologischen Effekt von Bt-Mais auf die räuberischen Invertebraten handeln. Dies erscheint zum jetzigen Wissenstand aber zumindest diskutierbar, da toxische Effekte von Cry1A(b) aus Bt-Mais bisher weder auf Blattlausräuber, räuberische Wanzen oder Spinnen nachgewiesen werden konnten. Allerdings ist die Anzahl entsprechender Studien zum jetzigen Zeitpunkt auch noch sehr überschaubar, insbesondere was den Mon810-Mais betrifft (s. Tab. 2). Die Bt-Toxinkonzentrationen in den Maispflanzen können auch innerhalb einer Saison, von Jahr zu Jahr, von Standort zu Standort und von Sorte zu Sorte erheblich schwanken (Nguyen Thu & Jehle, DLR Rheinpfalz, pers. Mitt.), so dass auch toxische Effekte auf Nichtzielorganismen damit einhergehend variieren könnten. Eine negative Beeinflussung von Räuberpopulationen ist auch indirekt über die Nahrungsqualität der Beutetiere denkbar (Romeis et al. 2004). Die Blattlauszahlen waren insbesondere 2001 in den Mon810-Feldern erniedrigt (s.o.), was möglicherweise die niedrigeren Räuberzahlen (mit) beeinflusste. Aber auch ein derartiger indirekter Effekt könnte bei großflächigem Anbau von Bt-Mais jedenfalls regional oder kleinräumig zu einer Erniedrigung von Nützlingspopulationen führen. Auch Meissle (2002) sowie Ludy & Lang (2004b) haben im Jahre 2001 eine Reduktion von Spinnen in Bt-Maisfeldern nachgewiesen, auf den selben Versuchsgütern, aber mit anderen Erfassungsmethoden oder in anderen Feldern.

In 2003 ergaben sich Hinweise auf einen positiven Effekt von Bt-Mais auf Blattlausräuber und räuberische Wanzen. Auch Ludy & Lang (2004b) fanden 2003 in Bt-Maisfeldern höhere Spinnenabundanzen im Vergleich zu Kontrollfeldern. Das Jahr 2003 war jedoch außergewöhnlich heiß und trocken, und stellt zweifellos einen Sonderfall dar. Möglicherwei-

se waren hier wiederum pleiotrope Effekte der Maispflanzen ausschlaggebend für die Ergebnisse (Saxena & Stotzky 2001). Auch in der vorliegenden Studie fielen Unterschiede zwischen den Bt-Maispflanzen und ihren isogenen Kontrolllinien auf. So war zum Beispiel in zwei Jahren (2001, 2003) der Bt-Mais höher als die Kontrollpflanzen, bot also mehr Lebensraum bzw. -fläche für auf den Pflanzen lebende Tiere (repeated-measurement ANOVA, $p < 0.05$), was auch in anderen Studien gefunden wurde (Magg et al. 2001, Hassell & Shepard 2002). In 2001 hatte der Bt-Mais immer ein etwas niedrigeres Entwicklungsstadium als die Kontrolle, d.h. er entwickelte sich langsamer und starb auch später ab, bot also länger Lebensraum (repeated-measurement ANOVA, $p < 0.01$). Derartige Entwicklungsunterschiede zwischen Bt- und isogenem Mais sind ebenfalls aus anderen Arbeiten bekannt (Lumbierres et al. 2004). Trockenstress kann zu verminderter Blattmasse bei Maispflanzen führen (Traore et al. 2000), und in der Saison 2003 hatte der Bt-Mais teilweise auch weniger vertrocknete Blätter als die nicht-Bt-Sorten (repeated-measurement ANOVA, Bt * Datum * Standort, $p < 0.001$). Des weiteren leidet Bt-Mais nicht unter zusätzlichem Stress durch Maiszünslerbefall. Dies könnte dazu geführt haben, dass sich herbivore Insekten im Jahr 2003 etwas zahlreicher in Bt-Mais aufhielten, da diese Pflanzen länger grün waren und noch Nahrung boten (z.B. die Zikaden im Mon810-Mais, Abb. 2A). Eventuell folgten Räuber ihrer Beute und erreichten so im Bt-Mais ebenfalls erhöhte Abundanzen (z.B. die räuberischen Wanzen im Mon810, Abb. 5A). Diese Interpretation muss jedoch Spekulation bleiben, da eine signifikante Erhöhung herbivorer Insekten im Bt-Mais für 2003 ja nicht nachgewiesen werden konnte (allerdings wurden auch nicht sämtliche Herbivoren registriert).

Die vorliegenden Ergebnisse und Interpretationen unterstreichen die Notwendigkeit, bei einem Monitoring möglichst zahlreiche Variablen, welche die Monitoring-Parameter beeinflussen könnten, mit aufzunehmen, um eventuell auftretende Effekte (ansatzweise) erklären zu können. Für einen direkten kausalen Beleg eines Effektes wird es allerdings oft unvermeidbar sein, zusätzlich geplante manipulative Freilandexperimente oder toxikologische Laborstudien durchzuführen. In diesem Zusammenhang muss auch darauf hingewiesen werden, dass ein Nicht-Nachweis eines Effektes nicht automatisch das Nichtvorhandensein des Effektes belegt. Um die Verlässlichkeit der Aussagen, oder besser ihre Irrtumswahrscheinlichkeit einschätzen zu können, sind retrospektive Poweranalysen der Ergebnisse dringend anzuraten (vgl. Hilbeck et al. 2000, Andow 2003, Perry et al. 2003, Andow & Hilbeck 2004, Lang 2004).

3.1.1.9 Zusammenfassung

Durch die Übertragung von DNA des Bodenbakteriums *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Bt) in Mais ist der so genannte Bt-Mais in der Lage, ein schmetterlingsspezifisches Toxin zu bilden und sich so selbst gegen den Fraß von Raupen des Maiszünslers zu schützen. Ziel dieses Teilprojektes war es nun, die potentiellen Auswirkungen eines Anbaus von Bt-Mais auf Nichtzielorganismen im Freiland zu untersuchen, wobei das Hauptaugenmerk auf räuberischen Arten („Nützlinge“) und den Haupt-Pflanzensaugern im Mais (Blattläuse, Zikaden) lag.

Die Untersuchungen fanden von 2001 – 2003 auf fünf Versuchsgütern in Bayern statt. Auf diesen Standorten wurden zwei Bt-Maissorten (Mon810 von Monsanto und Bt176 von Syngenta) sowie die jeweiligen isogenen, konventionellen Maissorten angebaut. Des weiteren wurde auch eine herkömmliche Pflanzenschutzmaßnahme, eine Insektizidbehandlung mit Baythroid50, durchgeführt und überprüft. In den Versuchsfeldern wurden folgende Tiergruppen während der Anbausaisonen aufgenommen und analysiert: Blattläu-

se, Zikaden, „Mumien“ (= parasitierte Blattläuse), Blattlausräuber (Florfliegen-Larven und -Imagines, Schwebfliegen-Larven, Marienkäfer-Larven und -Imagines), räuberische Wanzen (Anthocoridae, Reduviidae, Nabidae) und Spinnen.

Blattläuse waren in Bt-Maisfeldern in eher geringeren Anzahlen zu finden, insbesondere im Mon810-Bt-Mais, während sich bei Zikaden keinerlei Bt-Effekte ergaben. Die Abundanzen der Blattlausräuber waren in Bt-Feldern sowohl reduziert (2001) als auch erhöht (2003), während sich für „Mumien“ (= von Schlupfwespen parasitierte Blattläuse) keinerlei Bt-Effekte ergaben. Räuberische Wanzen zeigten in jedem Untersuchungsjahr einen Bt-Effekt: In 2001 und 2002 waren ihre Populationsdichten in Bt-Maisfeldern signifikant erniedrigt, während 2003 höhere Zahlen im Bt-Mais vorlagen. Spinnen waren 2001 im Bt-Mais weniger zahlreich, und zwar ausgeprägter im Bt176-Mais, während in den Jahren 2002 und 2003 kein Effekt feststellbar war. Die Insektizidanwendung mit Baythroid hatte eine beträchtliche negative Auswirkung auf die Populationsdichten fast aller untersuchter Tiergruppen, und dies in mehreren Jahren: betroffen waren Zikaden, Blattlausräuber, räuberische Wanzen und Spinnen. Lediglich die Anzahl der Blattläuse wurde durch die Insektizidanwendung erhöht, vermutlich weil das Insektizid deren natürlichen Feinde reduzierte. Insektizidanwendung beeinträchtigte somit die biologische Kontrolle von Blattläusen durch Antagonisten, was für den Bt-Mais im Rahmen der vorliegenden Studie nicht nachgewiesen werden konnte.

Insgesamt betrachtet zeigten sich beim Anbau von Bt-Mais weniger negative Effekte auf Nichtziorganismen und geringere Auswirkungen auf deren Populationsdichten als bei einer Pflanzenschutzmaßnahme mit einem pyrethroiden Insektizid. Entgegen früherer Studien konnten jedoch Auswirkungen von Bt-Mais auf Populationen von Nützlingen nachgewiesen werden; je nach Untersuchungsjahr waren diese Effekte teils negativ, teils positiv. Dies erscheint insbesondere bei den betroffenen räuberischen Wanzen und Spinnen von Bedeutung, denn diese beiden Tiergruppen stellen im Mais wie auch in anderen landwirtschaftlichen Kulturen die zahlenmäßig am stärksten vertretenen Raubarthropoden. Eine substantielle Reduzierung von räuberischen Wanzen und Spinnen könnte weitreichende Folgen für das Agrarökosystem und die biologische Kontrolle von Schädlingen haben. Es konnte jedoch im Rahmen dieser Studie nicht geklärt werden, ob es sich bei dem Effekt auf Wanzen und Spinnen tatsächlich um einen Bt-Effekt handelt, oder ob die Populationen dieser Raubarthropoden indirekt z.B. über die Dichten ihrer Beutetiere oder das Lebensraumangebot beeinflusst wurden. Angesichts der nachgewiesenen Bt-Effekte und der Bedeutung von räuberischen Wanzen und Spinnen im Agrar-Ökosystem erscheint eine Klärung dieser Frage vordringlich. Dies sollte idealerweise über Langzeitversuche, sowohl im Gelände als auch unterstützend im Labor, und auf Populations- als auch auf Artniveau sowie mit möglichst verschiedenen Sorten an Bt- und konventionellem Mais untersucht werden.

3.1.1.10 Anhang mit Tabellen, Abbildungen, Literaturverzeichnis

Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tab. 1: Literaturübersicht über Freilandstudien mit Bt-Mais und Nichtzielorganismen.

Tab. 2: Literaturübersicht über Laborstudien mit Bt-Mais und Nichtzielorganismen.

Abb. 1: Blattläuse in den Versuchsflächen

Abb. 2: Zikaden in den Versuchsflächen.

Abb. 3 Blattlaus-Räuber in den Versuchsflächen.

Abb. 4: „Mumien“ (parasitierte Blattläuse) in den Versuchsflächen.

Abb. 5: Räuberische Wanzen in den Versuchsflächen.

Abb. 6: Spinnen in den Versuchsflächen.

Tabelle 1: Übersicht (22.6.04) über die publizierten Freilandstudien mit Bt-Mais und Nichtzielorganismen (exkl. Lepidoptera & Hymenoptera).

Authors	Bt event	Field / plot size	N per treatment	Study period	Samples per season	Country	Animals	Abundance in <i>Bt</i> maize compared to control
Bourguet et al. 2002	Mon810	200 – 900m ²	4	1yr	15	France	Aphids, Anthocoridae, syrphid larvae, ladybird beetle, lacewings (Neuroptera), parasitoids	No effects
Candolfi et al. 2004	Bt176	1.2 – 1.7 ha	2 – 3	1yr	6 – 8	France	Soil-dwelling arthropods, plant-dwelling arthropods, flying-arthropods	Some Diptera including a syrphid species (-) Cicadina (+) Neuroptera (+)
Dively & Rose 2003	Cry1A(b)	342m ²	4	2yrs	6 – 8	USA	Foliage-dwelling arthropods, soil-surface dwelling arthropods	Sap beetles (Nitidulidae) (-) Predators in maize litter (+)
Hassell & Shepard 2002	Cry1A(b)	29m ²	6	1yr	2	USA	Chrysomelidae, predacious Heteroptera, Coccinellidae, Thripidae, Cicadellidae, aphids, spiders, parasitoids	No effects
Jasinski et al. 2003	Cry1A(b)	4 – 20 ha	5	1yr	3 – 7 (?)	USA	Spiders, mites, parasitoids, ladybirds, Anthocoridae, Staphylinidae, Carabidae, lacewings (Neuroptera), syrphids	No effects
Kiss et al. 2003	MON810	900m ²	6	2yrs	weekly	Hungary	Aphids, Thrips, Cicadina, Chrysomelidae, Coccinellidae, Carabidae, Staphylinidae, Anthocoridae, lacewings (Neuroptera), syrphids, aphids, spiders	Aphids (+)
Lozzia 1999	Bt176	10 ha	2 (- 8)	2 yrs	every 14 d	Italy	Carabidae, spiders, aphids, Cicadellidae, and others	No effect
Lumbierres et al. 2004	Bt176	0.4 – 1 ha	4	3yrs	5	Spain	Aphids	Winged aphids (+) Unwinged aphids (-)
Manachini 2000	Bt176	10 ha	1	2 yrs	?	Italy	Carabidae, Diptera, Lepidoptera, Thrips, Hymenoptera, Cicadellidae, spiders	No effect
Musser & Shelton 2003	Cry1A(b)	32m ²	3 – 4	2yrs	2	USA	Coccinellidae, Anthocoridae, Aphids	Coccinellidae (+) Athocoridae (+)
Orr & Landis 1997	Cry1A(b)	0.4 ha	3	1yr	3	USA	Coccinellidae, Anthocoridae, lacewings (Neuroptera)	Neuroptera (+)
Pilcher et al. 1997	MON810	22 – 45m ²	3	2yrs	3	USA	Coccinellidae, Anthocoridae, lacewings (Neuroptera)	Overall predators (+)
Pons & Starý 2003	Bt176	?	?	1yr	2	Spain	Aphids, parasitoids	No effects
Volkmar & Freier 2003	Bt176	7 – 29 ha	2	2yrs	6	BRD	Spiders (on ground)	No effects
Wold et al. 2001	Cry1A(b)	21 – 543m ²	4	2yrs	3	USA	Coccinellidae, Anthocoridae, lacewings (Neuroptera)	No effects

Tabelle 2: Literaturübersicht (Stand: 22.6.04) der publizierten Studien im Labor mit Bt-Mais und Nichtzielorganismen (exklusive Lepidoptera & Hymenoptera).

Authors	Bt event	Toxin source	Organism(s) tested	Exposure to toxin	Parameters tested	Effects of <i>Bt</i> on study organism(s)
Dutton et al. 2002	Bt176	Green plant material	Aphids Mites Lepidoptera <i>C. carnea</i> (Neuroptera) <i>C. carnea</i> (Neuroptera) <i>C. carnea</i> (Neuroptera)	Aphids on whole plant Mites on whole plant Larvae on whole plant aphids fed with <i>Bt</i> maize Mites fed with <i>Bt</i> maize Lepidoptera larvae fed with <i>Bt</i> maize	Intrinsic rate of increase Intrinsic rate of increase Mortality, development Mortality, Development Mortality, development Mortality, development	No effect No effect Higher mortality, delayed development No effect No effect Higher mortality, delayed development
Hilbeck et al. 1998a	Cry1A(b)	Isolated toxin	<i>C. carnea</i> (Neuroptera)	Toxin in artificial diet	Mortality, development	Higher mortality
Hilbeck et al. 1998b	Bt176	Maize plant	<i>C. carnea</i> (Neuroptera)	Lepidoptera larvae fed with <i>Bt</i> maize	Mortality, development	Higher mortality, delayed development
Hilbeck et al. 1999	Cry1A(b)	Isolated toxin	<i>C. carnea</i> (Neuroptera)	Lepidoptera larvae fed with toxin	Mortality, development	Higher mortality
Lozzia et al. 1998	Bt176	Maize plant	Aphids, <i>Chrysoperla</i> (Neuroptera)	Aphids on plant leaves, <i>C. carnea</i> fed with aphids	Mortality & fecundity of aphids, mortality of <i>C. carnea</i>	No effects
Lozzia et al. 2000	Bt176	Maize plant	Mites	Plant leaves	Mortality, development, reproduction	Longer development in some stages
Lumbierres et al. 2004	Bt176	Maize plants	<i>R. padi</i> , winged aphids <i>R. padi</i> , unwinged aphids	Aphids on whole plants	Mortality, development, reproduction	Short development, high reproduction Long development, low reproduction
Meier & Hilbeck 2001	Bt176	Maize plant	<i>C. carnea</i> (Neuroptera)	Aphid fed with <i>Bt</i> Lepidoptera fed with <i>Bt</i>	Prey preferences	Preference for lepidopteran larvae fed with non- <i>Bt</i> maize, preference for aphids over lepidopteran larvae
Pilcher et al. 1997	Bt176	Pollen	Coccinellid beetle Anthocorid bug <i>C. carnea</i> (Neuroptera)	Pollen	Mortality, development	No effects
Romeis et al. 2004	Cry1A(b)	Isolated toxin	<i>C. carnea</i> (Neuroptera)	Toxin in artificial diet	Mortality, development	No effects
Zwahlen et al. 2000	Bt11	Maize plant	Anthocorid bug	Thrips fed with <i>Bt</i> maize	Mortality, development	No effects

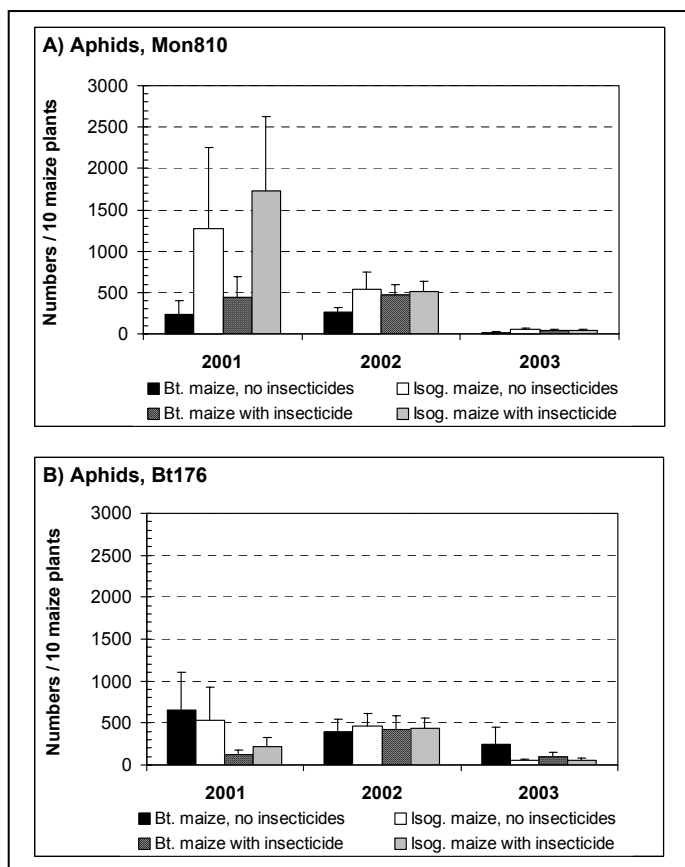


Abb. 1: Abundanzen der Blattläuse in Bt-Maisfeldern mit Mon810 von Monsanto (A) und Bt176 (B) von Syngenta in den Jahren 2001 – 2003 im Vergleich zu konventionellen Kontrollfeldern und einer Insektizid-anwendung (Baythroid 50). Dargestellt sind Jahresmittelwerte pro zehn Pflanzen (+ Standardfehler) aus drei Terminen und von drei (2001) bzw. fünf Standorten (2002, 2003).

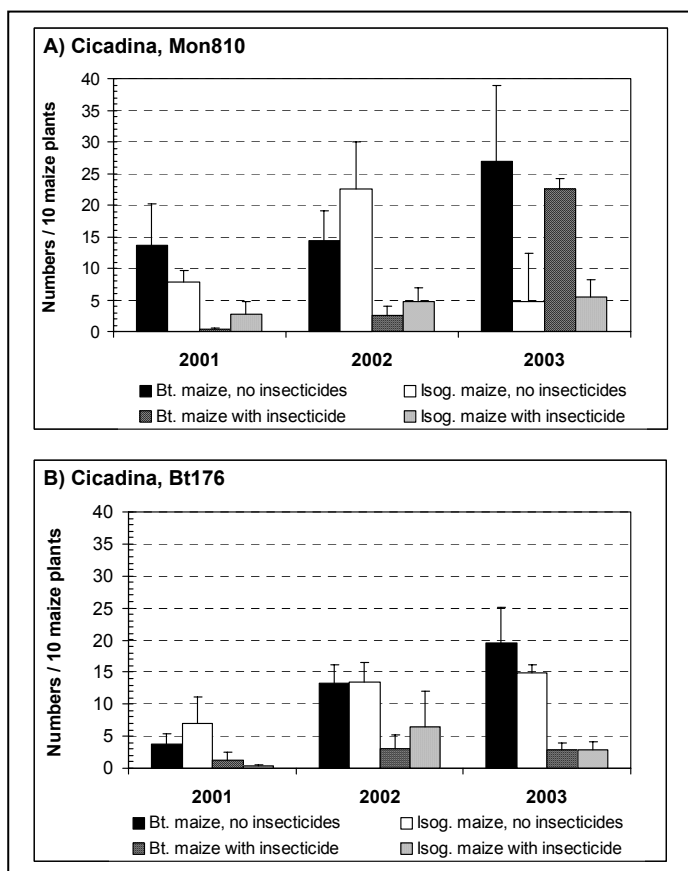


Abb. 2: Abundanzen der Zikaden in Bt-Maisfeldern mit Mon810 von Monsanto (A) und Bt176 (B) von Syngenta in den Jahren 2001 – 2003 im Vergleich zu konventionellen Kontrollfeldern und einer Insektizid-anwendung (Baythroid 50). Dargestellt sind Jahresmittelwerte pro zehn Pflanzen (+ Standardfehler) aus drei Terminen und von drei (2001) bzw. fünf Standorten (2002, 2003).

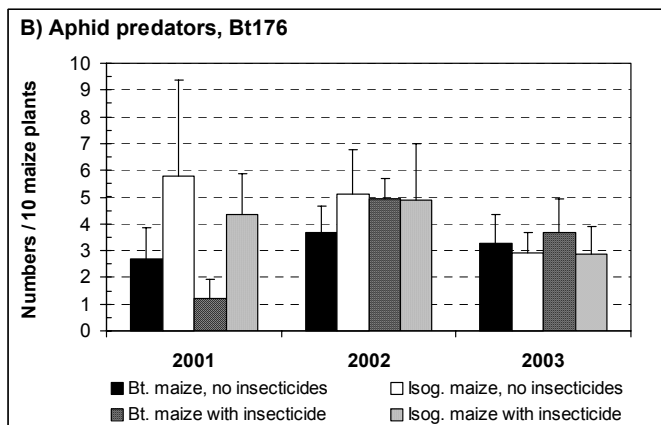
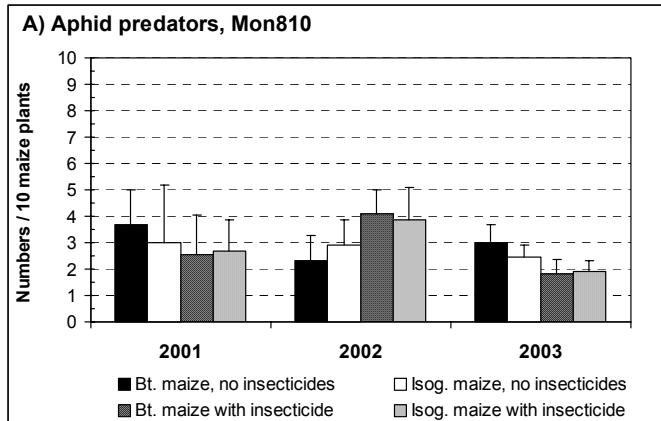


Abb. 3: Abundanzen der Blattlaus-Räuber in Bt-Maisfeldern mit Mon810 von Monsanto (A) und Bt176 (B) von Syngenta in den Jahren 2001 – 2003 im Vergleich zu konventionellen Kontrollfeldern und einer Insektizidanwendung (Baythroid 50). Zusammen gefasst sind adulte Florfliegen, Florfliegen-Larven, adulte Marienkäfer, Marienkäfer-Larven und Schwebfliegen-Larven. Dargestellt sind die Jahresmittelwerte pro zehn Pflanzen (+ Standardfehler) aus drei Terminen und von drei (2001) bzw. fünf Standorten (2002, 2003).

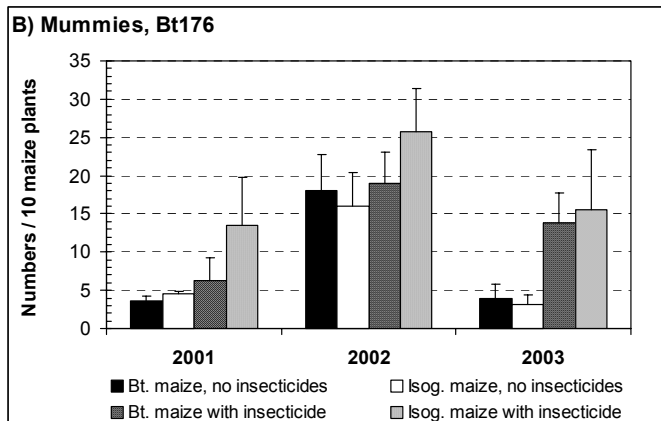
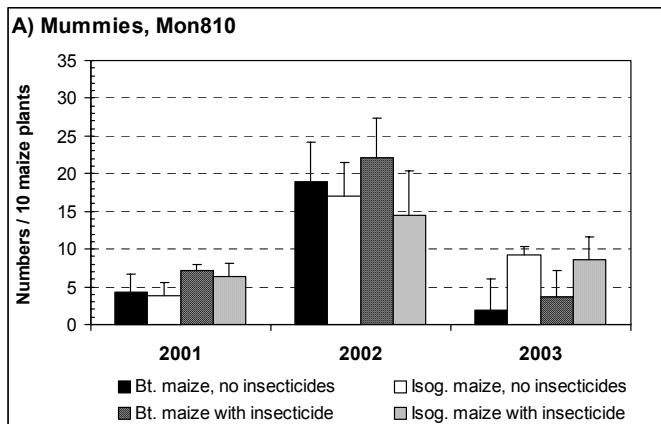


Abb. 4: Anzahl der „Mumien“ (von Schlupfwespen parasitierte Blattläuse) in Bt-Maisfeldern mit Mon810 von Monsanto (A) und Bt176 (B) von Syngenta in den Jahren 2001 – 2003 im Vergleich zu konventionellen Kontrollfeldern und einer Insektizidanwendung (Baythroid 50). Dargestellt sind die Jahresmittelwerte pro zehn Pflanzen (+ Standardfehler) aus drei Terminen und von drei (2001) bzw. fünf Standorten (2002, 2003).

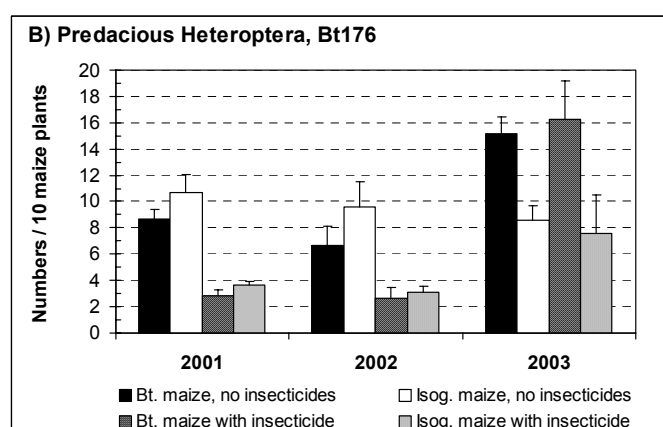
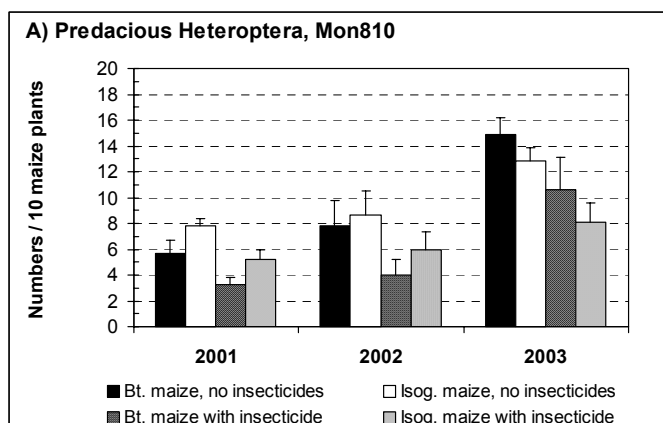


Abb. 5: Abundanzen der räuberischen Wanzen in Bt-Maisfeldern mit Mon810 von Monsanto (A) und Bt176 (B) von Syngenta in den Jahren 2001 – 2003 im Vergleich zu konventionellen Kontrollfeldern und einer Insektizidanwendung (Baythroid 50).

Dargestellt sind die Jahresmittelwerte pro zehn Pflanzen (+ Standardfehler) aus drei Terminen und von drei (2001) bzw. fünf Standorten (2002, 2003).

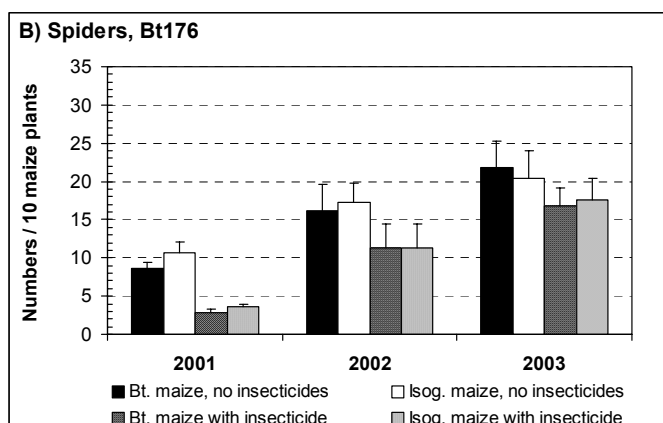
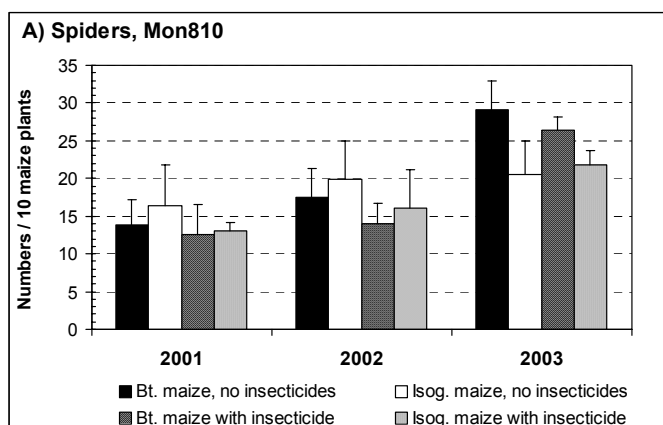


Abb. 6: Abundanzen der Spinnen in Bt-Maisfeldern mit Mon810 von Monsanto (A) und Bt176 von Syngenta (B) in den Jahren 2001 – 2003 im Vergleich zu konventionellen Kontrollfeldern und einer Insektizidanwendung (Baythroid 50). Dargestellt sind die Jahresmittelwerte pro zehn Pflanzen (+ Standardfehler) aus drei Terminen und von drei (2001) bzw. fünf Standorten (2002, 2003).

Literaturverzeichnis

- Andow, D.A. (2003): Negative and positive data, statistical power, and confidence intervals. *Environ. Biosafety Res.* 2: 1-6.
- Andow, D.A., Hilbeck, A. (2004): Science-based risk assessment for non-target effects of transgenic crops. *Bioscience*, in press.
- Bourguet, D., Chaufaux, J., Micoud, A., Delos, M., Naibo, B., Bombarde, F., Marque, G., Eychenne, N., Pagliari, C. (2002): *Ostrinia nubilalis* parasitism and the field abundance of non-target insects in transgenic *Bacillus thuringiensis* corn (*Zea mays*). *Environ. Biosafety Res.* 1: 49-60.
- Candolfi, M.P., Brown, K., Grimm, C., Reber, B., Schmidli, H. (2004): A faunistic approach to assess potential side-effects of genetically modified *Bt*-corn on non-target arthropods under field conditions. *Biocontrol Science Technol.* 14: 129-170.
- Dively, G.P., Rose, R. (2003): Effects of Bt transgenic and conventional insecticide control on the non-target natural enemy community in sweet corn. In: Van Driesche, R.G. (ed.), *Proceedings of the First International Symposium on Biological Control of Arthropods*, Honolulu, USA, January 14-18, 2002. USDA Forest Service, Morgantown, WVA, USA, FHTET-03-05: 265-274.
- Dutton, A., Klein, H., Romeis, J., Bigler, F. (2002): Uptake of Bt-Toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecol. Entomol.* 27: 441-447.
- Glare, T.R., O'Callaghan, M. (2000): *Bacillus thuringiensis: Biology, Ecology and Safety*. – Wiley & Sons, Chichester et al., 316 S.
- Hassel, R.L.; Shepard, B.M. (2002): Insect populations on *Bacillus thuringiensis* transgenic sweet corn. *J. entomol. Sci.* 37: 285-292.
- Head, G., Brown, C.R., Groth, M.E., Duan, J.J. (2001): Cry1Ab protein levels in phytophagous insects feeding on transgenic corn: implications for secondary exposure risk assessment. *Entomol. Exp. Appl.* 99: 37-45.
- Hilbeck, A., Moar, W.J., Pusztai-Carey, M., Filippini, A., Bigler, F. (1998a): Toxicity of *Bacillus thuringiensis* Cry1AB toxin to the predator *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environ. Entomol.* 27: 1255-1263.
- Hilbeck, A., Baumgartner, M., Fried, P.M., Bigler, F. (1998b): Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environ. Entomol.* 27: 480-487.
- Hilbeck, A., Moar, W.J., Pusztai-Carey, M., Filippini, A. & Bigler, F. (1999): Pre-mediated effects of Cry1Ab toxin and prototoxin and Cry2A prototoxin on the predator *Chrysoperla carnea*. *Ent. Exp. Appl.* 91: 305-316.
- Hilbeck, A., Meier, M.S., Raps, A. (2000): Review on non-target organisms and Bt-Plants. Bericht von EcoStrat GmbH für Greenpeace International, Amsterdam, April 2000. 77 S.
- Jasinski, J.R., Eisley, J.B., Young, C.E., Kovach, J., Wilson, H. (2003): Select nontarget arthropod abundance in transgenic and nontransgenic field crop in Ohio. *Environ. Entomol.* 32: 407-413.
- Kiss, J., Szentkirályi, F., Tóth, F., Szénási, Á., Kádár, F., Árpás, K., Szekeres, D., Edwards, C.R. (2003): *Bt*-corn: impact on non-targets and adjusting to local IPM systems. In:

- Lelley, T., Balázs, E., Tepfer, M. (eds.), Ecological Impact of GMO Dissemination in Agro-Ecosystems, OECD Workshop, September 27-28, 2002, Grossrussbach, Austria: 157-172.
- Lang, A. (2004): Monitoring the impact of *Bt* maize on butterflies in the field: estimation of required sample sizes. *Environ. Biosafety Res.* 3: 55-66.
- Ludy, C., Lang, A. (2004a): How to catch foliage-dwelling spiders in maize fields and their margins: a comparison of two sampling methods. *J. Appl. Entomol.*, in press.
- Ludy, C., Lang, A. (2004b): Hängen Spinnen am seidenen Faden? Ökologische Sicherheitsforschung zur Grünen Gentechnik am Beispiel von Spinnen. BMBF-Statusseminar „Sicherheitsforschung und Monitoring“, Berlin, 16. Juni 2004, im Internet unter <http://www.biosicherheit.de/pdf/statusseminar2004/poster16.pdf>.
- Lozzia, G.C. (1999): Biodiversity and structure of ground beetle assemblages (Coleoptera, Carabidae) in *Bt* corn and its effect on non target insects. *Boll. Zool. Agr. Bachic. Ser. II*, 31: 37-58.
- Lozzia, G.C., Furlanis, C. Manachini, B., Rigamonti, I.E. (1998): Effects of *Bt*-corn on *Rhopalosiphum padi* L. (Rhynchota, Aphididae) and on its predator *Chrysoperla carnea* Stephen (Neuroptera, Chrysopidae). *Boll. Zool. Agr. Bachic. Ser. II*, 30: 153-164.
- Lozzia, G.C., Rigamonti, I.E., Manachini, B., Roccheti, R. (2000): Laboratory studies on the effects of transgenic corn on the spider mite *Tetranychus urticae* Koch. *Boll. Zool. Agr. Bachic. Ser II*, 32: 35-47.
- Lumbierres, B., Albajes, R., Pons, X. (2004): Transgenic *Bt* maize and *Rhopalosiphum padi* (Hom., Aphididae) performance. *Ecol. Entomol.* 29: 309-317.
- Magg, T., Melchinger, A.E., Klein, D., Bohn, M. (2001): Comparison of *Bt* maize hybrids with their non-transgenic counterparts and commercial varieties for resistance to European corn borer and for agronomic traits. *Plant Breed.* 120: 397-403.
- Manachini, B. (2000): Ground beetle assemblages (Coleoptera, Carabidae) and plant dwelling non-target arthropods in isogenic and transgenic corn crops. *Boll. Zool. agr. Bachic. Ser II* 32: 181-198.
- Meier, M.S., Hilbeck, A. (2001): Influence of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on prey preference of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Basic. Appl. Ecol.* 2: 35-44.
- Meissle, M. (2002): Einfluss von *Bt*-Mais und Insektizidbehandlung auf Spinnen (Araneae) höherer Straten und Vergleich verschiedener Fangmethoden zur Erfassung der Spinnenfauna. Diplomarbeit an der Fakultät für Biologie, Ludwig-Maximilians-Universität München, 90 S.
- Musser, F.R., Shelton, A.M. (2003): *Bt* sweet corn and selective insecticides: impact on pests and predators. *J. econ. Entomol.* 96: 71-80.
- Orr, D.B., Landis, D.A. (1997): Oviposition of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) and impact of natural enemy populations in transgenic versus isogenic corn. *J. econ. Entomol.* 90: 905-909.
- Perry, J.N., Rothery, P., Clark, S.J., Heard, M.S., Hawes, C. (2003): Design, analysis and statistical power of the Farm-Scale evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *J. Appl. Ecol.* 40: 17-31.

- Pilcher, C.D., Obrycki, J.J., Rice, M.E., Lewis, L.C. (1997): Preimaginal development, survival, and field abundance of insect predators on transgenic *Bacillus thuringiensis* corn. *Environ. Entomol.* 26: 446-454.
- Pons, X., Starý, P. (2003): Spring aphid-parasitoid (Hom., Aphididae, Hym., Braconidae) associations and interactions in a mediterranean arable crop system, including *Bt* maize. *J. Pest Science* 76: 133-138.
- Raps, A., Kehr, J., Gugerli, P., Moar, W.J., Bigler, F., Hilbeck, A. (2001): Immunological analysis of phloem sap of *Bacillus thuringiensis* corn and of the nontarget herbivore *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) for the presence of Cry1Ab. *Mol. Ecol.* 10: 525-533.
- Romeis, J., Dutton, A., Bigler, F. (2004): *Bacillus thuringiensis* toxin (Cry1Ab) has no direct effect on larvae of the green lacewing *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). *J. Ins. Physiol.* 50: 175-183.
- Saxena, D., Stotzky, G. (2001): *Bt* corn has a higher lignin content than non-Bt corn. *Amer. J. Botany* 88: 1704-1706.
- Traore, S.B., Carlson, R.E., Pilcher, C.D., Rice, M.E. (2000): Bt and non-Bt maize growth and development as affected by temperature and drought stress. *Agron. J.* 92: 1027-1035.
- Volkmar, C.; Freier, B. (2003): Spinnenzönosen in Bt-Mais und nicht gentechnisch veränderten Maisfeldern. *J. Plant Diseases Protect.* 110: 572-582.
- Wold, S.J.; Burkess, E.C.; Hutchison, W.D.; Venette, R.C. (2001): In-field monitoring of beneficial insect populations in transgenic corn expressing a *Bacillus thuringiensis* toxin. *J. entomol. Science* 36: 117-187.
- Zwahlen, C., Nentwig, W., Bigler, F., Hilbeck, A. (2000): Tritrophic interactions of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn, *Anaphothrips obscurus* (Thysanoptera: Thripidae), and the predator *Orius majusculus* (Heteroptera: Anthocoridae). *Environ. Entomol.* 29: 846-850.

3.1.2 Schmetterlinge

3.1.2.1 Aufgabenstellung

In diesem Teilprojekt sollte die potentielle Gefährdung, die durch Pollen von Bt-Mais auf die Schmetterlingsfauna ausgehen könnte, untersucht werden. Während der Maisblüte kann der Maispollen in angrenzende und benachbarte Flächen eingetragen werden und dort von Nichtziel-Organismen konsumiert werden, z.B. von Schmetterlingsraupen, die mit Maispollen kontaminiertes Blattmaterial ihrer Futterpflanzen fressen und derart das im Pollen enthaltene Toxin aufnehmen können. Der mögliche negative Effekt des Maispollens dürfte mit seinem Bt-Toxingehalt korreliert sein, so dass dann vergleichsweise von der Sorte „Navares“ (Bt176 von Syngenta) ein stärkerer Effekt ausginge als von der Sorte „Novelis“ (Mon810 von Monsanto). Im Rahmen der Untersuchungen zur Schmetterlingsfauna wurden verschiedene Ansätze und Punkte untersucht: Untersuchungen zum Blühzeitpunkt des Mais, Toxinbestimmung von Pollen von Bt-Mais, Quantifizierung des Eintrages von Bt-Maispollen in Feldränder, Bestandsaufnahme der relevanten Tagfaltermgesellschaft, ausgewählte Auswertung der Artenschutzkartierung des Bayerischen Landesamtes für Umweltschutz, und als Fallbeispiele die Arten *Papilio machaon* (Schwalbenschwanz) und *Arctia caja* (Brauner Bär), welche exemplarisch eingehender untersucht wurden.

3.1.2.2 Umfassende Dokumentation und Auswertung der verwendeten Literatur

Publizierte Labor-Arbeiten zu den Effekten von Bt-Mais auf Nichtziel-Schmetterlinge (Lepidoptera) erschienen erst während der Laufzeit des Projektes häufiger. Insgesamt wurden elf Studien recherchiert bzw. berücksichtigt (Pilcher et al. 1997a, Losey et al. 1999, Hansen Jesse & Obrycki 2000, Wraight et al. 2000, Felke & Langenbruch 2001, Hellmich et al. 2001, Zangerl et al. 2001, Felke et al. 2002, Binning & Rice 2002, Hansen Jesse & Obrycki 2002, Felke & Langenbruch 2003). Wie schon bei den Blattläusen und Antagonisten (s.o.) stammen die meisten Arbeiten aus den USA (Tab. 1). Von den dort behandelten Arten sind ungefähr die Hälfte auch in Europa relevant, was hauptsächlich durch drei Arbeiten aus der BBA Darmstadt belegt wird (Felke & Langenbruch 2001, 2003, Felke et al. 2002). Die Studien aus den USA (Labor und Freiland) konzentrieren sich sehr stark auf den Monarchfalter, *Danaus plexippus* (Losey et al. 1999, Hansen Jesse & Obrycki 2000, Hellmich et al. 2001, Stanley-Horn et al. 2001, Zangerl et al. 2001). In den Laborexperimenten wurde überwiegend Pollen verfüttert (Tab. 1), aber bei sekundären Schadschmetterlingen auch grünes Maispflanzenmaterial (Pilcher et al. 1997a, Binning & Rice 2002). Von den verschiedenen Bt-Events wurde am häufigsten Bt176 geprüft (in 82% der elf Studien), dann Bt11 (45%), dann Mon810 (18%) und vereinzelt weitere Events (in manchen Studien wurden mehrere Events gleichzeitig geprüft). Das auf Bt-Toxin empfindliche erste Larvenstadium (L1) wurde am häufigsten berücksichtigt, lediglich bei den europäischen Arten wurden meist auch unempfindlichere ältere Stadien (L2 – L4) untersucht. Meist wurde ein ausreichender Stichprobenumfang an Larven getestet, bei den in Tab. 1 präsentierten Larvenzahlen gilt es jedoch zu berücksichtigen, dass sich diese Larven jeweils auf die verschiedenen Bt-Events und die entsprechenden Kontrollen aufteilen.

Veröffentlichte Freilandstudien zum Effekt von Bt-Mais auf Nichtziel-Schmetterlinge existieren unseres Wissens nur vier Stück, und alle stammen aus den USA (Pilcher et al. 1997a, Wraight et al. 2000, Stanley-Horn et al. 2001, Zangerl et al. 2001). Eine Arbeit behandelt sekundäre Schadschmetterlinge im Mais (Pilcher et al. 1997a), und die restlichen drei den Effekt von Bt-Maispollen auf zwei Tagfalter, *Danaus plexippus* und *Papilio polyxenes* (Tab. 2). Behandelt wurden die drei gebräuchlichsten Bt-Events: Bt176, Mon810 und Bt11. Mit

Ausnahme von Pilcher et al. (1997a) fanden die Experimente nur während einer Saison und während der Maisblüte statt.

3.1.2.3 Voraussetzungen, unter denen die Arbeiten durchgeführt wurden

Für die Bearbeitung des Teilprojektes „Schmetterlinge (Lepidoptera)“ wurden sämtliche Versuchsflächen sowie das gesamte Gelände aller Versuchsgüter genutzt (siehe Kapitel 2 „Problemstellung und Zielsetzung, Versuchskonzeption“). Für die Toxin-Bestimmung des Bt-Mais-Pollens wurden sowohl die Flächen des Dauerversuches als auch die Praxisflächen beprobt. Damit wurden Pollenproben von den beiden relevanten Bt-Events (Bt176, Mon810) als auch Pollen aus unterschiedlichen Jahren, Standorten und Anbausituationen berücksichtigt, was die Repräsentativität der Ergebnisse erhöht. Zur Untersuchung des Polleneintrages in Feldränder konnten mit den 2 ha großen Praxisflächen idealerweise Schläge mit realistischer Feldgröße heran gezogen werden, und so eine praxisrelevante Situation studiert werden. Die Bestandsaufnahme der Tagfalter von Mais-Feldrändern erfolgte mittels der Kartierung (d.h. Sichtbeobachtung) adulter Individuen, eine gebräuchliche Erfassungsmethode, die weniger zeitaufwändig ist als die Erfassung von Larvenstadien. Diese Kartierungen wurden über vier Jahre an insgesamt sieben Standorten von Südbayern (Schwaiganger) bis Nordbayern (Schwarzenau) durchgeführt, womit eine breite zeitliche und geographische Repräsentierung der erhobenen Daten gewährleistet war. Vom Bayerischen Landesamt für Umweltschutz erhielten wir Daten der Artenschutzkartierung, welche hinsichtlich der Habitatnutzung und Phänologie der einzelnen Falterarten analysiert werden können. Als Fallbeispiele wählten wir zwei Arten aus, den Schwalbenschwanz (Papilionidae, *Papilio machaon*) und den Braunen Bär (Arctiidae, *Arctia caya*). Kriterien für die Auswahl der zwei Arten war die Habitatnutzung (d.h. landwirtschaftliche Flächen oder angrenzende Gebiete), zeitliche Überschneidung der Phänologie mit der Maisblüte, Züchtbarkeit im Labor, und Gefährdung (d.h. Nennung in der bayerischen oder bundesdeutschen „Roten Liste“). Die Feldränder der 2-ha großen Praxis-schläge in Grub und Neuhof (Bt176-Mais „Navares“) wurden auch für Freilandversuche mit Larven des Schwalbenschwanzes genutzt. Wie bereits im Kapitel „Blattläuse und Antagonisten“ unter 3.3.1.3 dargelegt (siehe dort), konnte aufgrund der angespannten Personallage im Arbeitsbereich IPS 2d „Schädlinge, Nützlinge, Vorratsschutz“ nicht der geplante Umfang des Teilprojektes realisiert werden.

3.1.2.4 Planung und Ablauf der Arbeiten

Blühzeitpunkt. Zur Erfassung des Blühzeitpunktes verschiedener Maissorten wurden die Datenbanken zu den an der LfL durchgeführten Maissortenversuchen ausgewertet. Es wurden die Jahre 1995 – 2000 ausgewertet, da ab der Saison 2001 bei den Sortenversuchen der Blühzeitpunkt nicht mehr registriert wurde. Es wurden insgesamt „nur“ sechs Jahre ausgewertet, da die Daten alle noch im Großrechner-Format gespeichert waren, und die Konvertierung auf PC-Kompatibilität sehr zeitaufwändig war. Zur Gewinnung von Daten zum Blühzeitpunkt von Bt-Mais wurde die Blühdaten von „Navares“ (Bt176 von Syngenta) in den Praxis-schlägen und Dauerversuchsparzellen von 2000 bis 2003 aufgenommen und ausgewertet. „Novelis“ (Mon810 von Monsanto) wurde nicht ausgewertet, dessen Blühzeitpunkt dürfte jedoch ähnlich liegen, da beide isogene Sorten, Nobilis von Monsanto (K270) sowie Antares von Syngenta (K220), relativ früh blühende Sorten sind.

Toxinbestimmung. Die Toxinbestimmung von Bt-Maispollen wurde mittels eines serologischen ELISA-Tests durchgeführt. Hierbei wurde hauptsächlich Pollen von Bt176 untersucht, da dieser einen höheren Cry1A(b)-Anteil aufweist, während sich die Toxin-konzentrationen von Mon810-Pollen des öfteren unter der Nachweisgrenze der Analyse-Kits befinden.

Polleneintrag. Die Maispollenverbreitung wurde mittels Objektträger (siehe „3.1.2.6. Angewandte wissenschaftliche und technische Methoden“) in und an den Praxisschlägen von Navares-Mais (Bt176) untersucht. Da die Objektträger bis zu einer Entfernung von 10 m zum Maisfeld aufgestellt wurden (s. Abb. 2), mussten an den jeweiligen Feldrändern entsprechende Freiräume vorhanden sein. Dies führte dazu, dass aufgrund der vorherrschenden Topographie und räumlichen Verhältnisse um die Felder die Nordseite von Maisschlägen letztendlich überrepräsentiert war, während von der Südseite keinerlei Daten aufgenommen werden konnten (aufgrund der vorherrschenden Windverhältnisse sind an den Südseiten die geringsten Polleneinträge zu erwarten). Zur Untersuchung der Maispollendichten auf Blättern von Schmetterlings-Futterpflanzen wurde die Wilde Möhre (*Daucus carota*) gewählt, da dies eine bevorzugte Nahrungspflanze von Schwalbenschwanzraupen ist, diejenige Schmetterlingsart, die in diesem Teilprojekt näher untersucht wurde (s.u.).

Tagfalter-Kartierung. Zur Erfassung der an Maisfeldrändern vorkommenden Tagfalter-Arten wurden Sichtbeobachtungen von adulten Faltern durchgeführt. Mittels Erfassung der Larven wäre zwar der wichtige Bodenständigkeitsnachweis erbracht, eine Larvenerfassung ist jedoch um ein Vielfaches zeitaufwändiger und konnte im Rahmen des Projektes nicht geleistet werden. Gelegentlich konnte die Bodenständigkeit aber durch die Zufallsbeobachtung von Eiablage, Raupen oder Puppen belegt werden (s.a. Tab. 3). Nachtfalter, eine weitere wichtige und im Rahmen des Projektes interessante Gruppe, wurden nicht erfasst, da dies das Zeit- und Personallimit der Arbeitsgruppe gesprengt hätte. Die Daten der Tagfalterkartierung wurden in der Folge zur Berechnung des erforderlichen Stichprobenumfangs für ein zukünftiges Monitoring verwendet.

Artenschutzkartierung. Anhand der ASK-Daten des LfU kann für jede Schmetterlingsart das zeitliche Auftreten während der Saison sowie die Habitatnutzung in Bayern analysiert werden. Diese Parameter sind eminent wichtig, um die räumliche und zeitliche Überschneidung der Arten mit der Bt-Maispollenblüte beurteilen zu können. Die Auswertung wurde für die zwei gewählten Beispielsarten Schwalbenschwanz (*P. machaon*) und Brauner Bär (*A. caja*) vorgenommen. Ausgewertet wurden die Daten für die adulten Falter, da bei den Larval-Nachweisen der Stichprobenumfang zu gering war. Prinzipiell wäre eine derartige Auswertung für alle Schmetterlingsarten sinnvoll und angeraten, hätte aber das Zeit- und Personalbudget des Teilprojektes überstiegen.

Laborexperimente. Die Laborexperimente wurden mit Raupen des Schwalbenschwanzes (*P. machaon*) und des Braunen Bär (*A. caja*) durchgeführt, denen Pollen von Bt176-Mais zum Fressen gegeben wurde. Pollen von Bt176-Mais wurde verwendet, da dieser eine höhere Bt-Toxin-Konzentration aufweist als Mon810-Pollen. Die Versuche mit Schwalbenschwanz wurden mit Raupen des ersten Larvenstadiums (L1) durchgeführt. Anhand der Raupen des Braunen Bär sollte untersucht werden, ob der Fraß von Bt-Maispollen die verschiedenen Larvenstadien unterschiedlich beeinflusst, deshalb wurden bei dieser Art die Stadien L1 – L3 verwendet. Unglücklicherweise verstarben die empfindlichen L1-Larven sämtlicher angestellten Versuchsansätze, so dass beim Braunen Bär nur Resultate für die Entwicklungsstadien 2 und 3 vorliegen.

Freilandversuche. Die Freilandversuche wurden 2001 mit L1-Raupen vom Schwalbenschwanz am Rand der Bt176-Praxisschläge in Grub und Neuhof durchgeführt (Vojtech 2002). Entsprechend der räumlichen Gegebenheiten und Möglichkeiten fand der Versuch in Grub am Nordrand des Feldes und in Neuhof am Ostrand statt. Die Raupen waren während der Maisblüte im Feld und wurden danach ins Labor verbracht. Dort sollten sie ihre Entwicklung bis zum adulten Tier vollenden. Aufgrund einer mikrobiellen Infektion verstarb jedoch der Großteil der Versuchstiere, und es konnten keine subletalen Parameter wie Entwicklungszeit u.ä. aufgenommen werden. In den Jahren 2000 (Grub) und 2002 (Schwarzenau) wurden

ebenfalls Freilandversuche mit Schwalbenschwanzlarven an Bt-Maisfeldern durchgeführt. In beiden Jahren mussten die Daten jedoch wegen zu starker Niederschläge während des Versuchszeitraumes verworfen werden (kein oder kaum Pollenflug sowie erhöhte Mortalität der Larven bei starkem Regen). Der Aufwand derartiger Experimente ist sehr hoch, u.a. durch die punktgenaue Züchtung von L1-Larven zur Maisblüte, durch die tagtägliche Betreuung der Versuche vor Ort, und durch die Nachbetreuung der Versuchstiere (inklusive Futterpflanzenzucht). Des Weiteren muss eine immens hohe Anzahl an Raupen gezüchtet und versorgt werden, um zum einen den notwendigen Stichprobenumfang zu erhalten und zum anderen die extrem hohe Mortalität der Raupen in der Freilandphase kompensieren zu können. Aufgrund dessen wurden die Freilandversuche in der letzten Saison 2003 nicht mehr wiederholt, da der (unsichere) Erkenntnisgewinn in keinem vernünftigen Verhältnis zum aufzubringenden Aufwand stand.

3.1.2.5 Zusammenstellung der Gesamtproblematik und bisher bekannt gewordener Ergebnisse auf dem Gebiet der Aufgabenstellung

Bt-Toxine var. *kurstaki* (Cry1Ab) wirken toxisch auf Schmetterlingsraupen und werden seit langem als biologische Spritzmittel gegen Schadschmetterlinge in der Landwirtschaft eingesetzt (Glare & O'Callaghan 2000). Letale und subletale Effekte von Bt-Präparaten auf Nichtziel-Lepidopterenlarven wurden sowohl im Labor als auch im Freiland nachgewiesen (z.B. Miller 1990, Johnson et al. 1995, Wagner et al. 1996, Peacock et al. 1998). Losey et al. (1999) wiesen darauf hin, dass Bt-Maispollen vom Wind auf Futterpflanzen am Feldrand verdriftet, und von dort vorkommenden Schmetterlingslarven aufgenommen werden kann. Da Pollen von Bt-Mais ebenfalls Bt-Toxin enthält, kann so eine Schädigung von Nichtziel-Schmetterlingsarten erfolgen. Das Ausmaß dieses negativen Effektes auf die Larven hängt von der Toxinkonzentration des Pollens ab, von dem Ausmaß der Pollenexposition (Blühzeitpunkt, Pollenverbreitung und -menge), und dem toxischen Effekt eines Bt-Maispollen-Fraßes auf die Schmetterlingslarven (Sears et al. 2001).

Es ist bekannt, dass sich der Gehalt an Bt-Toxin (Cry1Ab) im Pollen zwischen den verschiedenen Events und Sorten unterscheidet. So enthält Pollen von Bt176 mit 1,1 bis 2,9 µg Cry1A(b) pro g Pollen ein Vielfaches an Bt-Toxin im Vergleich zu Mon810-Pollen, dessen Gehalt zwischen 0,002 und 0,09 µg Cry1A(b) pro g Pollen schwankt (Pilcher et al. 1997b, Hansen Jesse & Obrycki 2000, 2002, Wraight et al. 2000, Sears et al. 2001, Wolt 2003).

Der Blühzeitpunkt von Maisfeldern liegt in Mitteleuropa im allgemeinen im Juli, und Maisfelder blühen durchschnittlich zwischen 5 und 8 Tagen (Zscheischler et al. 1990, Treu & Emberlin 2000, Feil & Schmid 2001, Oberhauser et al. 2001, Wolt 2003). Zum Mais-Pollenflug (Menge und Reichweite) existieren zahlreiche Publikationen (Fleischmann 1942, Raynor et al. 1972, Emberlin et al. 1999, Hansen Jesse & Obrycki 2000, Treu & Emberlin 2000, Wraight et al. 2000, Pleasants et al. 2001, Stanley-Horn et al. 2001, Zangerl et al. 2001, Eastham & Sweet 2002). Die Ergebnisse dieser Arbeiten sind aber oft nicht vergleichbar aufgrund unterschiedlicher Feldgrößen, verschiedenartiger Methoden, unterschiedlicher Erfassungszeiträume, und anderes mehr. Maispollen kann zwar sehr weit verdriftet werden (bis zu 2000m, Fleischmann 1942), aber der Großteil des Maispollens fliegt wohl nicht weiter als 60 m (Raynor et al. 1972). Eastham & Sweet (2002) schätzen, dass circa 90% des Maispollens in einem Radius von 10 m um das blühende Maisfeld niedergehen.

Zur Frage, wie viel des in Feldrändern eingetragenen Pollens sich auf Futterpflanzen von Schmetterlingslarven findet, existieren so gut wie keine Studien. Pleasants et al. (2001) berichten, dass am Feldrand circa 40% des eingetragenen Pollens auf Blättern der Gewöhnlichen Seidenpflanze, einer Futterpflanze des Monarchfalters, zu liegen kommt. Weitere Studien, die Pollenkonzentration auf Futterpflanzen messen, stammen alle aus den USA und sind

nicht auf europäische Verhältnisse übertragbar, da sie überwiegend den Monarchfalter (*Danaus plexippus*) und die Gewöhnliche Seidenpflanze (*Asclepias syriaca*) behandeln (Hansen Jesse & Obrycki 2000, Stanley-Horn et al. 2001, Zangerl et al. 2001). Lediglich in der Arbeit von Zangerl et al. (2001) wird über Pollendeposition auf Blättern des Pastinaks (*Pastinaca sativa*) berichtet, der auch eine Futterpflanze der Larven des Europäischen Schwalbenschwanzes (*P. machaon*) ist. Die höchste durchschnittliche Maispollenmenge auf Blättern des Pastinaks betrug direkt am Feldrand 320 Pollenkörner pro cm² Blattfläche, und in 2 m Entfernung zum Maisfeld 180 Pollenkörner pro cm² (Zangerl et al. 2001).

Die Laboruntersuchungen zur Wirkung von Bt-Maispollenfraß sind in Tab. 1 zusammen gefasst. Nach jetzigem Kenntnisstand verursacht die Konsumierung von Bt-176 Pollen sowohl eine erhöhte Mortalität bei den Schmetterlingslarven als auch negative subletale Effekte wie z.B. geringere Gewichtszunahme und eine längere Entwicklungszeit (Felke & Langenbruch 2001, 2003, Hansen Jesse & Obrycki 2000, Wraight et al. 2000, Felke et al. 2001, Hellmich et al. 2001, Zangerl et al. 2001). Die toxische Wirkung von Mon810- und Bt11-Pollen scheint dagegen relativ gering zu sein (Hansen Jesse & Obrycki 2000, 2002, Wraight et al. 2000, Hellmich et al. 2001). Ältere Larvenstadien mehrerer Schmetterlingsarten sind auf Bt-Toxin weniger empfindlich als die L1-Larven (Binning & Rice 2002, Felke & Langenbruch 2001, 2003, Felke et al. 2002, Hellmich et al. 2001). In einigen Arbeiten wurden die entsprechenden LD50-Werte berechnet (Felke & Langenbruch 2001, 2003, Hellmich et al. 2001, Felke et al. 2002). Zu beachten ist, dass in den Laborstudien der Bt-Maispollen meist nur kurzzeitig den Larven angeboten wurde (1 – 2 Tage), unter Freilandbedingungen aber eine längere Maispollenschüttung erfolgt (durchschnittlich 5 – 8 Tage, maximal bis zu 14 Tagen). Auffällig ist weiterhin, dass nur wenige Studien die gesamte Entwicklungszeit vom Ei bis zum adulten Falter berücksichtigt haben. Insbesondere die Reproduktionsrate der adulten Weibchen wäre aber ein wichtiger Parameter, da dies ein Schlüsselfaktor für die möglichen Auswirkungen auf Populationsebene ist. Auch gilt es zu beachten, dass die standardisierten Laborbedingungen Idealbedingungen für die Larven darstellen. Unter Stress würden Schmetterlingslarven empfindlicher auf Toxine reagieren, und im Freiland sind die Raupen zahlreichen zusätzlichen Stressoren ausgesetzt wie widrigen Klimabedingungen, Nahrungsknappheit, Krankheiten und Räubern. So erhöht sowohl Nahrungsknappheit als auch eine Infektion die Anfälligkeit von Schmetterlingsraupen auf Bt-Toxin (Pierce et al. 2001, Ben-Dov et al. 2003). Die Aufnahme von Bt-Maispollen kann auch zu verminderter Aktivität bei den Larven führen, die sich dann häufiger auf der Blattoberseite aufhalten, wo sie Räubern gegenüber stärker exponiert sind (Felke & Langenbruch 2001).

Veröffentlichte Freilandstudien zum Effekt von Bt-Maispollen auf Schmetterlingsraupen existieren bisher nur drei (!) Stück (Tab. 2), was allerdings bei dem dafür notwendigen Arbeitsaufwand nicht weiter verwundern darf. Zu europäischen Schmetterlingsarten existieren keinerlei veröffentlichte Freilandarbeiten, hier ist man ganz auf die bisher bekannten Laborresultate angewiesen (aber siehe auch „3.1.2.7 Während der Durchführung des Forschungsvorhabens bekannt gewordene Fortschritte auf diesem Gebiet bei anderen Stellen“). Die publizierten Freilandstudien spiegeln im wesentlichen die bekannten Laborergebnisse wider: Bt176-Mais kann am Feldrand vorkommende Raupen letal und subletal schädigen, während Mon810- und Bt11-Mais weniger negativ zu wirken scheinen (Tab. 2). Allerdings erscheint der Stichprobenumfang mancher Studien zu gering (auch aufgrund der hohen natürlichen Mortalität der Larven), um Aussagen auf einem hohen Sicherheits- bzw. Wahrscheinlichkeitsniveau zu gestatten.

3.1.2.6 Angewandte wissenschaftliche und technische Methoden

Blühzeitpunkt. Zur Bestimmung des Blühzeitraumes des Mais' in Bayern wurden die an der LfL durchgeführten Sortenversuche der Jahre 1995 bis 2000 ausgewertet. Insgesamt wurden 307 unterschiedliche Maissorten berücksichtigt, die auf 1680 Feldern auf 22 verschiedenen Standorten angebaut wurden. Zur Bestimmung des Blühzeitpunktes von Bt176-Mais „Navares“ wurden die Blühzeiten der 2ha-Praxisschläge auf den Versuchsgütern zwischen 2000 und 2003 notiert.

Toxinbestimmung. Die Toxinbestimmung wurde für Pollen von Mon810 („Novelis“ von Monsanto) und Bt176 („Navares“ von Syngenta) durchgeführt, sowie zur Kontrolle von Pollen der isogenen Sorten („Nobilis“ von Monsanto, „Antares“ von „Syngenta“). Der Pollen wurde zwischen 2000 und 2003 auf den Versuchsfeldern der Staatsgüter gesammelt. Der Pollen wurde durch ein 1mm-Sieb gesiebt und dann bei -20°C gelagert. Zur Toxinbestimmung wurde der Pollen für 12 Stunden bei 28°C aufgetaut und vor der Analyse nochmals gesiebt (0,1 mm Maschenweite). Zur Analyse wurde der ELISA-Nachweiskit EnviroLogix QuantiPlate™ für Cry1Ab/Cry1Ac von Adgen© verwendet. Die Nachweisgrenze dieses Kits liegt bei 250ppb. Von jeder Pollenprobe wurden 2 bis 3 Aliquots genommen und bestimmt, und daraus der Mittelwert des Bt-Gehalts der Pollenprobe berechnet.

Polleneintrag. Der Mais-Polleneintrag in Feldränder wurde am Rand der Praxisschläge in den Jahren 2000 bis 2002 untersucht. Die Anzahl Pollen wurde mit Objektträgern (76 * 26 mm), die dünn mit Vaseline bestrichen waren, bestimmt. Diese Objektträger wurden in einer Höhe von 6 – 20 cm und in verschiedenen Entfernungen zum Maisfeldrand aufgestellt (-5 m im Maisfeld selber, direkt am Rand in 0 m Entfernung, und in verschiedenen Entfernungen bis zu 10 m). Die Objektträger wurden jeweils für 24 Stunden exponiert, und dann die Pollenmenge pro Flächeneinheit im Labor manuell oder mittels Bildanalyse (Leica Qwin) ausgezählt. Insgesamt wurden während der Versuche 300 Objektträger ausgebracht. Zur Analyse, welche Variablen die Pollenmenge am stärksten bestimmen, wurde eine multiple Regressionsanalyse durchgeführt mit der abhängigen Variable „Pollendichte“ und den unabhängigen Variablen „Lufttemperatur“, „Niederschlagsmenge“, „Relative Feuchtigkeit“, „Windgeschwindigkeit“, „Entfernung zum Maisfeld“, „Höhe des Objektträgers“, „Himmelsrichtung des Feldrandes“, „Entwicklungsstadium des Mais“ (d.h. Blühstadium des Mais, BBCH nach Meier 1997), und „Standort“.

Zur Bestimmung, wie viel Pollen auf Futterpflanzen zu liegen kommt, wurden Versuche in Neuhoﬀ im Jahre 2002 durchgeführt. Direkt am Rand des Bt176-Praxisschlags wurden während der Maisblüte Blätter von Wilder Möhre (*Daucus carota*) exponiert. Die Blätter waren durchschnittlich 15 cm lang und wurden in einer Höhe von 9 cm für 24 Stunden aufgestellt. Insgesamt wurden 36 Blätter am 22., 23. und 26. Juli exponiert (BBCH-Stadium des Mais = 65). Nach der Expositionszeit wurde ein durchsichtiger Klebestreifen auf die Oberseite der Blätter gepresst, die Blätter eingesammelt, und im Labor die Anzahl Pollen auf der Blattoberseite manuell ausgezählt. Die Blattfläche wurde mittels Bildanalyse (Leica Qwin) bestimmt, und für jedes Blatt die Anzahl Maispollen pro cm^2 Blattfläche berechnet. Gleichzeitig wurde auch der Polleneintrag auf Objektträger (s.o.) gemessen.

Tagfalterkartierung. In den Jahren 2000 bis 2003 fanden Kartierungsgänge von Mai bis September auf sieben Standorten der staatlichen Versuchsgüter zur Erfassung der auftretenden adulten Tagfalter statt (Grub, Finsing, Schwaiganger, Puch, Baumannshof, Neuhoﬀ, Schwarzenau). Notiert wurden die beobachteten Arten und deren Häufigkeit in Feldrändern entlang von Maisfeldern (sowohl Bt-Felder als auch konventionelle). Insgesamt wurden 24 Feldränder in unterschiedlicher Erfassungsintensität bearbeitet. Fortpflanzungsnachweise der adulten Falter wurden nicht systematisch erbracht, Zufallsbeobachtungen von Ei-, Raupen- und Pup-

penfunden wurden jedoch notiert (zur Methodik vgl. auch Lang 2004). Auf der Grundlage der ermittelten Tagfalterzahlen und deren einfachen Varianzen wurde eine Stichprobenabschätzung für ein Monitoring, das eventuell zukünftig begleitend zum Anbau von Bt-Mais durchgeführt werden wird, ermittelt. Berechnet wurde die Anzahl von Felldrändern, die beprobt werden müssten, um einen Unterschied zwischen Rändern an Bt-Mais und Rändern neben konventionellem Mais statistisch absichern zu können. Zu dieser Berechnung wurde die Software nQuery, Version 4.0, verwendet. Die Kalkulation wurde unter folgenden Annahmen durchgeführt: Die Daten sind normalverteilt, die Stichprobenzahl ist gleich verteilt zwischen den beiden Arten von Felldrändern (Bt und konventionell), ein t-Test für unabhängige Stichproben wird verwendet, der Test ist einseitig, das Signifikanzniveau $\alpha = 0.05$, und die Power des Tests ist gleich 80% (d.h. die Wahrscheinlichkeit, einen Unterschied bei gegebenem α zu entdecken).

Artenschutzkartierung. Es wurden die Fundort- und Nachweisdaten der Artenschutzkartierung (ASK) des Bayerischen Landesamtes für Umweltschutz für die beiden Schmetterlingsarten Schwalbenschwanz (*Papilio machaon*) und Brauner Bär (*Arctia caja*) ausgewertet (Stand: 19.04.2004). Ausgewertet wurden die Daten für die Imagines bezüglich der Habitatnutzung (Lebensraumvorkommen) und Flugzeit. Es wurden nur Daten bis 800 Höhenmeter ü.NN. gewertet, da darüber hinaus in Bayern kein Maisanbau mehr stattfindet (Mitteilungen der entsprechenden Landwirtschaftsämter Kaufbeuren, Weilheim, Bad Tölz-Wolfratshausen, Passau-Rotthalmünster u.a.). Die Daten wurden mit dem Programm MS-Access 2000 bearbeitet. Als „in landwirtschaftlichen Flächen vorkommend“ wurde eine Falter-Beobachtung dann gewertet, wenn in der Lebensraumangabe der ASK eines der folgenden Kriterien genannt wurde: Grünlandbrache, Wiesen und Weiden, Grünland, Fettwiese/-weide, Acker, Ackerland, Sonderkulturen, Weinberg (aufgelassen), Weinbauflächen, Weinberg (bewirtschaftet), Extensivgrünland, Flächen der Landwirtschaft, mesophiles Grünland. Eine Erwähnung der folgenden Angaben in der Vegetationsbeschreibung der ASK führte ebenfalls zu einer Zuordnung zu „in landwirtschaftlichen Flächen vorkommend“: Acker, Ackerkrautgesellschaft, landwirtschaftliche Nutzfläche, Fettwiese/-weide, Weinberg, Getreidefeld, Gerstenfeld, Kleefeld, Maisfeld, Rapsfeld, Haferfeld. Die Nachweise wurden für die bildliche Darstellung (Abb. 5, 7) in die vier landwirtschaftlichen Lebensräume „Grünland“, „Äcker“, „Weinberge“ und „Landwirtschaftlich genutzte Flächen ohne weiteren Angaben“ eingeteilt. Zur Bestimmung der Fundorte, die nicht auf landwirtschaftlichen Flächen liegen, aber an landwirtschaftlich genutzte Flächen angrenzen, wurden die Angaben in der Sparte Umgebungsvegetation und Umgebungsnutzung der ASK analog ausgewertet.

Laborexperimente. Im Labor wurden Raupen von *P. machaon* im ersten Stadium (L1-Larven) mit Maispollen von Bt176-Mais (Sorte „Navares“) gefüttert bzw. erhielten zur Kontrolle keinen Pollen. Zu diesem Zweck wurde Maispollen unterschiedlicher Menge auf standardisierte Futterpflanzen-Plättchen von Pastinak (*Pastinaca sativa*) gegeben, jeweils eine L1-Raupe darauf gesetzt und nach 48h die Menge an gefressenem Pollen notiert. Die L1-Larven waren zum Versuch zwischen 12 und 24 Stunden alt, und wurden vor dem Versuch circa 4 – 5 Stunden ohne Futter belassen, um den Hungerzustand zu standardisieren. Die Versuche fanden bei einer Temperatur von 25°C, 50% rel. Luftfeuchte und bei einem eingestellten 16-Stunden-Tag statt. Registriert und ausgewertet wurden die Mortalität der Larven und subletale Effekte wie Fraßleistung, Entwicklungszeit, Gewichtszunahme, Verpuppungsgewicht sowie Größe und Gewicht der adulten Falter.

Analog zu den oben beschriebenen Laborversuchen wurden Raupen des Braunen Bärs (*Arctia caja*) im zweiten und drittem Entwicklungsstadium mit Maispollen von Bt176- Pollen gefüttert (Sorte „Navares“) bzw. erhielten zur Kontrolle keinen Pollen. Zu diesem Zweck wurde wiederum Maispollen unterschiedlicher Menge auf standardisierte Futterpflanzen-Plättchen

(Löwenzahn) gegeben, jeweils eine Raupe darauf gesetzt und nach 24h die Menge an gefresenem Pollen notiert. Die L2-Larven waren zum Versuch im Mittel 10 Tage alt, die L3 Larven waren durchschnittlich 12 Tage alt. Alle Larven wurden vor dem Versuch circa 4 – 5 Stunden ohne Futter belassen, um den Hungerzustand zu standardisieren. Die Versuche fanden bei einer Temperatur von 25°C, 50% rel. Luftfeuchte und bei einem eingestellten 16-Stunden-Tag statt. Registriert und ausgewertet wurden die Mortalität der Larven und subletale Effekte wie Fraßleistung, Entwicklungszeit, Gewichtszunahme, Verpuppungsgewicht, Puppendauer, Größe und Gewicht der adulten Falter, und Lebenszeit der Falter.

Freilandversuche. Die Freilandversuche wurden mit frisch geschlüpften L1-Larven des Schwalbenschwanzes (*P. machaon*) durchgeführt (Vojtech 2002). Die Versuche fanden in Grub (20.7. – 24.7.2001) und Neuhof (25.7. – 30.7.2001) statt. Zum Zeitpunkt der Maisblüte wurden getopfte Futterpflanzen (Wilde Möhre) am Bt176-Maisfeldrand („Navares“) in unterschiedlichen Entfernungen aufgestellt (0 – 10 m) und damit unterschiedlichen Pollenkonzentrationen exponiert (vgl. Abb. 2). Die untersuchten Entfernungen waren in Grub 0 m, 1 m, 5 m und 10 m. Bei der Entfernung 0 m wurden in Grub 4 Möhrenpflanzen platziert, bei den übrigen Entfernungen je drei Pflanzen. Die untersuchten Entfernungen in Neuhof waren 0 m, 1 m, 3 m, 5 m und 10 m. In jeder Entfernung wurden in Neuhof 6 Möhrenpflanzen gepflanzt. Sowohl in Grub als auch in Neuhof wurden je 10 Raupen auf jede Möhrenpflanze gesetzt. Die Larven wurden 5 (Grub) bis 6 Tage (Neuhof) im Feld belassen und die Überlebensrate aufgenommen.

3.1.2.7 Während der Durchführung des Forschungsvorhabens bekannt gewordene Fortschritte auf diesem Gebiet bei anderen Stellen

Zur Wirkung von Bt-Maispollenfraß auf Schmetterlingslarven wurden am französischen Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) bisher unveröffentlichte Laborexperimente von M.H. Pham-Delègue, L. Kaiser, R. Ramirez-Romero, J. Chantaux und R. Delorme angestellt. L1-Larven wurden mit Pollen von Mon810 gefüttert und die LD50 bestimmt. Getestet wurden folgende europäische Arten: *Pieris brassicae*, *Colias crocea*, *Nymphalis urticae*, *Maniola jurtina*, *Papilio machaon*, *Lycaena phlaeas*, *Laothoe populi* und *Smerinthus ocellata*. Bei allen Arten lag die jeweilige LD50 oberhalb der realistischerweise im Freiland zu erwartenden Dosen. Über das exakte Ausmaß des letalen und weiterer sublethaler Effekte ist nichts veröffentlicht.

Die Arbeitsgruppe von I. Schuphan und A. Gathmann von der RWTH Aachen, Lehrstuhl für Biologie V, beprobt angesäte Ackersenf-Streifen entlang von Maisfeldern während der Pollenschüttung. Aufgenommen und ausgewertet werden Raupen der Schmetterlingsarten *Plutella xylostella* und *Pieris rapae* neben Bt-Mais, konventionellem Mais, und Mais mit Insektizidbehandlung. Die bisherigen (unveröffentlichten) Ergebnisse zeigen eine Reduktion der Raupenabundanz durch die Insektizid-Applikation, und keinen Unterschied in der Mortalität zwischen Bt- und Kontrollmais während der Periode der Maisblüte.

M. Felke und G.A. Langenbruch haben neben ihren Laborexperimenten (s. Tab.1) auch Freilandexperimente mit Larven des Tagpfauenauges (*Inachis io*) und Bt176-Mais durchgeführt. Diese unveröffentlichten Arbeiten zeigten, dass auch unter Freilandbedingungen der Pollenflug von Bt176-Mais negative Effekte auf Tagpfauenaugen-Raupen hat.

B. Darvas vom Plant Protection Institute in Budapest, Ungarn, untersuchte in Laborexperimenten die Wirkung von Bt-Maispollen von Mon810 auf L1-Larven des Tagpfauenauges (*I. io*) und des C-Falters (*Polygona c-album*). Bei Gabe von natürlicherweise vorkommenden Pollenmengen wurde eine verringerte Gewichtszunahme der Raupen nach Fraß von Bt-Pollen festgestellt. Dieser Effekt verschwand jedoch in der Folge wieder während der weiteren Larvalentwicklung zum Imago. Auch diese Studie ist noch nicht veröffentlicht.

Zu Ergebnissen, welche während der Durchführung des Forschungsvorhaben veröffentlicht wurden, siehe „3.1.2.5 Zusammenstellung der Gesamtproblematik und bisher bekannt gewordener Ergebnisse auf dem Gebiet der Aufgabenstellung“.

3.1.2.8 Darstellung und Bewertung der Ergebnisse

Blühzeitpunkt. Der Großteil des Mais´ (91%) blühte im Juli zu einem mittleren Datum 18.07. \pm 9 Tage (Mittelwert \pm Standardabweichung) (Abb. 1A). Der früheste Termin war der 27. Juni, und der späteste der 8. August. Die Bt-Sorte „Navares“ blühte im Mittel am 12.07. mit einer Spannweite vom 30. Juni bis 26. Juli (Abb. 1B). Da Maisfelder bis zu 14 Tagen Pollen schütten können (Oberhauser et al. 2001, Treu & Emberlin 2002), kann man somit von Ende Juni bis zur dritten Augustwoche mit blühenden Maisfeldern in Bayern rechnen.

Toxingehalt. Der Pollen von Bt176-Mais „Navares“ enthielt $2.59 \pm 0.40 \mu\text{g Cry1Ab} / \text{g}$ Pollen ($n = 10$, Mittelwert \pm Standardabweichung). Der Pollen von Mon810-Mais „Novelis“ enthielt im Mittel zwischen $0.25 \pm 0.09 \mu\text{g Cry1Ab}$ und $0.13 \pm 0.16 \mu\text{g Cry1Ab}$ pro Gramm Pollen, je nachdem ob man die Werte unter der Nachweisgrenze als Nullwerte oder mit 250ppb (= Nachweisgrenze) einrechnet ($n = 6$, Mittelwert \pm Standardabweichung). Die Proben der isogenen, konventionellen Vergleichssorten ($n = 14$) enthielten kein Bt-Toxin. Die in dieser Studie festgestellten Toxingehalte im Pollen liegen damit in dem bisher berichteten Bereich, allerdings im oberen Drittel der veröffentlichten Werte (Pilcher et al. 1997, Hansen Jesse & Obrycki 2000, Wraight et al. 2000, EPA 2001, Sears et al. 2001; Hansen Jesse & Obrycki 2002, Wolt 2003).

Polleneintrag. Die Pollendeposition am Feldrand war sehr variabel und reichte von 0 bis 429 Pollenkörner pro cm^2 und 24 Stunden (Abb. 2). Mit steigender Entfernung zum Feldrand sank die Pollendichte, konnte in einer Entfernung von 10 m aber immer noch 93 Pollen pro cm^2 betragen (Abb. 2). Die Pollendichte wurde am stärksten beeinflusst von der relativen Luftfeuchte, der Entfernung zum Maisfeldrand und dem Blühstadium des Mais entsprechend der multiplen Regressionsgleichung: $\text{Pollendichte (n/cm}^2\text{)} = 17,11 - 3,37 * \text{rel. Feuchte (\%)} - 4,00 * \text{Entfernung zum Feld (m)} - 3,26 * \text{Blühstadium (BBCH)}$ ($R^2 = 0,48$; $p < 0,001$; Werte der Pollendichte $\text{Ln}(x+1)$ -transformiert, der Rel. Feuchte $\text{arcsine}(x)$ -transformiert, der Entfernung zum Feldrand $\text{Quadratwurzel}(\text{Ln}(x+10))$ -transformiert, und des Blühstadiums $\text{arcsine}(x/67)$ -transformiert). Die anderen getesteten Variablen (s. 3.3.2.6) hatten vergleichsweise weniger Einfluss auf die Pollendichte. Im Vergleich zu den wenigen bisher veröffentlichten Studien fällt auf, dass die hier festgestellten Pollendichten im Feldrand etwas höher liegen als bisher beschrieben (Raynor et al. 1972, Hansen Jesse & Obrycki 2000, Wraight et al. 2000, Stanley-Horn et al. 2001, Zangerl et al. 2001). Auch in diesem Projekt wurde eine stetige Abnahme der Pollendichte in Abhängigkeit von der Entfernung zum Maisfeldrand festgestellt, allerdings war hier die Abnahme weniger steil als bisher berichtet, d.h. auch in 10 m Entfernung konnten noch relativ hohe Pollenzahlen festgestellt werden.

Je mehr Pollen in den Feldrand eingetragen wurde, desto mehr Pollen fand sich auch auf Blättern der Wilden Möhre (Abb. 3). Im Mittel fanden sich $33,5 \pm 24,9$ Pollen pro cm^2 Blattfläche und 24 h (Mittelwert \pm Standardabweichung; Minimum = 7,1 Pollen/ cm^2 ; Maximum = 93,0 Pollen/ cm^2). Im Durchschnitt fanden sich somit 31,6% des eingetragenen Pollens auf den Blättern (Minimum = 12,4%; Maximum = 63,5%). Von Pollendichten dieser Größenordnung ist bekannt, dass sie negative Auswirkungen auf Schmetterlingsraupen haben können (Hansen Jesse & Obrycki 2000; Stanley-Horn et al. 2001; Zangerl et al. 2001; Felke & Langenbruch 2003). Hier gilt es zusätzlich zu berücksichtigen, dass die hier präsentierten Werte auf 24-Stunden-Messungen beruhen, und dass sich der Pollen aber während der mehrtägigen Maisblüte auf Pflanzen am Feldrand akkumulieren kann. Dies wird zum Beispiel in mehreren anderen Arbeiten deutlich, die höhere Pollendichten auf Futterpflanzen von Schmetterlings-

raupen beschreiben, die durch eine Akkumulation über mehrere Tage zustande kommen. Andererseits kann starker Regen oder Wind den Pollen auch wieder von den Pflanzen abtragen oder abwaschen (Hansen Jesse & Obrycki 2000, Pleasants et al. 2001, Stanley-Horn et al. 2001, Zangerl et al. 2001).

Tagfalterkartierung. Insgesamt wurden an Maisfeldrändern 949 Individuen beobachtet, die sich auf 36 Tagfalter-Arten verteilten (Tab. 3). Die häufigsten Arten waren der Kleine Kohlweißling (*Pieris rapae*), der Senfweißling (*P. napi*), der kleine Fuchs (*Nymphalis urticae*) und das Kleine Wiesenvögelchen (*Coenonympha pamphilus*), während die restlichen Arten nur einen Anteil von jeweils unter 5% einnahmen. Unter den nachgewiesenen Arten finden sich 22% in der Roten Liste Bayerns (Golz & Geyer 2003) und 28% in der Roten Liste Deutschlands (Pretschner 1998). Mit dieser Kartierung wird eine typische Artengemeinschaft von Tagfaltern an bayerischen Feldrändern beschrieben. Es gilt jedoch zu beachten, dass sich die beobachteten Feldränder in intensiv genutzten Agrarräumen befanden, und dass weitere, auch seltenere Arten, in extensiver genutzten Flächen, naturnäheren Lebensräumen oder anderen geographischen Regionen zu erwarten sind. Auf der anderen Seite sind sicherlich einige der festgestellten Arten nicht durch Bt-Mais gefährdet, da deren Larven kaum direkt am Feldrand dem Maispollen exponiert sind (z.B. *Apatura ilia*). Aus Tabelle 4 ist die Anzahl von Feldrändern ersichtlich, die beprobt werden müssten, um einen Bt-Effekt auf Schmetterlinge im Rahmen eines Freiland-Monitorings nachweisen zu können (vgl. Lang 2004). Die Anzahl der Feldränder kann je nach Rahmenbedingungen eine beträchtliche Höhe erreichen. Als Beispiel, um eine Reduktion der Artenzahl um 5% nachzuweisen, müsste man insgesamt 2156 Feldränder beproben, also 1078 Feldränder neben Bt-Maisfeldern plus 1078 neben konventionellen Feldern. Oder, bei einer Beprobung von 2 x 12 Feldrändern könnte man nur einen Effekt größer/gleich 50% statistisch absichern. Will man einzelne Arten untersuchen, kann sich der Aufwand je nach Schmetterlingsart beträchtlich erhöhen (Tab. 4). Um zum Beispiel einen 10%igen Rückgang der Schwalbenschwanz-Populationen statistisch abzusichern, wäre die Bearbeitung von 1728 Feldrändern erforderlich. Die exakte Zahl zu beprobender Feldränder hängt neben der Varianz der verschiedenen Variablen letztendlich von der gewünschten Genauigkeit des Monitorings ab, d.h. welcher Effekt soll mit welcher Wahrscheinlichkeit auf welchem Signifikanzniveau nachgewiesen werden (vgl. Abb. 4). Daher sollte diese Stichprobenberechnung auch nicht als absolutes Maß gesehen werden, sondern eher als eine ungefähre Schätzung des Monitoring-Umfangs. Durch Standardisierung der Kartierung, spezielles Probenesign, spezieller Strukturierung der Originaldaten und mit Berücksichtigung von Kovariaten könnte die Varianz und der benötigte Stichprobenumfang vermutlich etwas reduziert werden (Perry et al. 2003).

Artenschutzkartierung. Von insgesamt 2700 ausgewerteten ASK-Eintragungen stammten 27% der Fundorte von *Papilio machaon* aus Magerrasenflächen, 22% aus Mooren, Feuchtwiesen und Uferbereichen, und weitere 22% aus landwirtschaftlich genutzten Flächen; die restlichen Lebensraumtypen waren jeweils mit Anteilen unter 10% vertreten (Abb. 5). Bei insgesamt 682 (= 25%) nicht agrarisch genutzten Fundorten fanden sich Angaben zu einer angrenzenden landwirtschaftlichen Bewirtschaftung. Addiert man die letztgenannten Fundorte zu den Nachweisen aus den Agrarlebensräumen hinzu, so ergibt sich, dass 47% der bayerischen Fundorte des Schwalbenschwanzes in landwirtschaftlich beeinflussten Flächen liegen. Der Anteil der in landwirtschaftlichen Flächen fliegenden Falter und des Schwalbenschwanzes ist vermutlich unterschätzt, da in die ASK zum einen hauptsächlich Daten aus naturschutzfachlich wertvolleren Habitaten eingehen und damit der Agrarlebensraum unterrepräsentiert ist, und zum anderen die ASK-Bearbeiter häufig die Nutzung in Nachbarflächen nicht notieren. *P. machaon* tritt in Bayern in zwei Generationen auf: Die erste Generation fliegt ungefähr von Mitte bis Ende Mai und die zweite Generation, die ungefähr drei mal so

mächtig ist wie die erste, von circa Mitte Juli bis Mitte August (Abb. 6). Eine Überschneidung der Flugzeit der zweiten Generation mit der Maisblüte ist somit gegeben (vgl. Abb. 1).

Von insgesamt 212 ausgewerteten ASK-Eintragungen stammten 27% der Fundorte von *Arctia caja* aus Wäldern und 15% aus Feuchtwiesen und Mooren (Abb. 7). Mit der zweithäufigste Lebensraum waren landwirtschaftlich genutzte Flächen (15%). Bei insgesamt 38 (= 18%) nicht agrarisch genutzten Fundorten fanden sich Angaben zu einer angrenzenden landwirtschaftlichen Bewirtschaftung (Abb. 7). Addiert man die letztgenannten Fundorte zu den Nachweisen aus den Agrarlebensräumen hinzu, so ergibt sich, dass 33% der bayerischen Fundorte des Braunen Bärs in landwirtschaftlich beeinflussten Flächen liegen. Der Braune Bär fliegt in Bayern in einer Generation von Mitte Juli bis Mitte August (Abb. 8). Eine Überschneidung der Flugzeit mit der Maisblüte ist somit gegeben (vgl. Abb. 1).

Laborexperimente. Je mehr Bt-Maispollen L1-Raupen des Schwalbenschwanzes konsumierten, desto geringer war ihre Überlebensrate (Abb. 9). Die Überlebenskurve unterschied sich signifikant von der Kontrolle ab einer Dosis von 5mg/10ml. Aus Tab. 5 ist ersichtlich, dass die Pollendichte auf dem Blatt bei einer Dosis von 5mg/10ml den natürlicherweise auftretenden Pollendichten (24-h Wert) entsprechen kann (vgl. Abb. 3), und somit ein letaler Effekt von Bt176-Maispollen auf Schwalbenschwanzlarven auch im Freiland nicht auszuschließen ist. Legt man die Messungen von akkumulierten Maispollendichten auf Pastinakpflanzen von Zangerl et al. (2001) zugrunde, so liegt auch noch die Behandlung 20mg/10ml aus Tabelle 5 im Bereich der natürlicherweise vorkommenden Pollenexposition. Je mehr Pollen auf den Pastinakblättern vorhanden waren, desto mehr Pollen fraßen die Raupen auch (Abb. 10A). Die Konsumierung von Bt-Maispollen verursachte in der Folge eine verminderte Fraßleistung bei den Raupen des Schwalbenschwanzes (Abb. 10B) und weiter ein reduziertes Körpergewicht (Abb. 11A). Schwalbenschwanzlarven mit einem niedrigeren Körpergewicht am zweiten Tag benötigten länger bis zur Verpuppung (Abb. 11B). Die Dauer der Puppenruhe und das Puppengewicht unterschieden sich nicht signifikant zwischen den verschiedenen Behandlungen (ANOVA, $p > 0,05$, Daten nicht gezeigt). Die Konsumierung von Bt-Maispollen als Larve hatte weder einen Effekt auf die Flügelgrößen von adulten *P. machaon* noch auf das Körpergewicht der Männchen (Abb. 12A-C). Allerdings führte der Bt-Pollen zu einem verringerten Gewicht der adulten Weibchen (Abb. 12A). Insgesamt zeigen die Versuche, dass der Fraß von Bt176-Maispollen letale und subletale Effekte auf Raupen und Falter des Schwalbenschwanzes haben kann, und dies in Pollen-Konzentrationen, die auch natürlicherweise im Freiland vorkommen. Hier gilt es zusätzlich zu berücksichtigen, dass Maisfelder mehrere Tage blühen und Pollen auf den Futterpflanzen akkumulieren kann, während die Raupen des Laborversuchs nur zwei Tage einer einmaligen Gabe von Bt-Pollen ausgesetzt waren. Neben der erhöhten Mortalität hätten auch subletale Effekte negative Auswirkungen auf Populationsebene. Eine verlängerte Entwicklungszeit bedeutet ein verlängertes Risiko, von Räubern erbeutet zu werden, und verschiebt die Fortpflanzungszeit weiter nach hinten in der Saison. Das Körpergewicht der Weibchen ist positiv korreliert mit der Ei-Produktion, d.h. ein verringertes Körpergewicht bedeutet weniger Nachkommen.

Es wurde kein Effekt von Bt-Maispollen auf die Mortalität von L2- und L3-Larven des Braunen Bär (*A. caja*) festgestellt (Abb. 13). Sowohl die Menge an gefressenem Löwenzahn als auch die Gewichtszunahme der Raupen unterschied sich zwischen den beiden Larvenstadien (ANOVA, $p < 0,05$), nicht aber zwischen den Bt-Maispollen-Behandlungen (Abb. 14, 15). Auch auf die Parameter Entwicklungszeit der Raupen, Verpuppungsgewicht und Puppendauer, sowie Größe, Gewicht und Lebenszeit der adulten Falter (Daten nicht gezeigt) hatte die Konsumierung von Bt-Maispollen keine signifikante Auswirkung. Im Gegensatz zu den Schwalbenschwanz-Raupen zeigten die Larven des Braunen Bärs somit keinerlei Beeinträchtigung durch Bt176-Pollen. Dies liegt vermutlich daran, dass ältere Larvenstadien (oder even-

tuell diese Art?) weniger empfindlich auf Bt-Toxine reagieren (Binning & Rice 2002, Felke & Langenbruch 2001, 2003, Felke et al. 2002).

Freilandversuche. Im Rahmen der Freilandversuche konnte kein Effekt des Bt176-Mais auf die Mortalität von L1-Raupen des Schwalbenschwanzes (*Papilio machaon*) nachgewiesen werden (Abb. 16). Weder in Grub noch in Neuhof unterschieden sich die Raupen direkt am Feldrand, die dem höchsten Polleneintrag ausgesetzt waren, in ihrer Mortalität von weiter entfernt stehenden Raupen. Allerdings war die natürliche Mortalität schon sehr hoch, insbesondere in Neuhof (Abb. 16B), so dass ein Bt-Effekt dadurch möglicherweise überlagert wurde. Für die Raupen in Neuhof kann auch nicht mit letzter Sicherheit ausgeschlossen werden, dass sie nicht bereits mit einer bakteriellen Infektion belastet waren. Zumindest subletale Effekte von Bt176-Pollen auf Schwalbenschwanzlarven sind an und für sich auch unter Freilandbedingungen zu erwarten. Zum einen reagierten die Raupen im Labor empfindlich auf die Gabe von Bt-Maispollen (s.o.). Zum anderen ist aus Freilandversuchen mit einer Art aus der selben Gattung, *Papilio polyxenes*, bekannt, dass der Pollenflug von Bt176-Mais Raupen dieser Art unter Freilandbedingungen schädigt (Wraight et al. 2000, Zangerl et al. 2001).

3.1.2.9 Zusammenfassung

Die in Europa zugelassenen gentechnisch veränderten Bt-Maissorten enthalten DNA des Bodenbakteriums *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* und sind somit in der Lage, ein Toxin (Cry1Ab) zum Schutz gegen Raupen des Schadschmetterlings Maiszünsler zu bilden. Dieses Toxin wird in allen Geweben des Bt-Mais gebildet, aber in unterschiedlichen Konzentrationen je nach Gewebe und Bt-Maissorte. In diesem Teilprojekt wurde die potentielle Gefährdung, die durch Pollen von Bt-Mais auf die Schmetterlingsfauna ausgeht, näher untersucht. Mais ist ein Windblütler, und während der Maisblüte kann der Maispollen in angrenzende und benachbarte Flächen eingetragen und dort von Nichtziel-Organismen aufgenommen werden. Dies könnte insbesondere Raupen von Schmetterlingen am Feldrand negativ beeinflussen, da das Bt-Toxin schmetterlingsspezifisch wirkt. Schmetterlingsraupen kommen in Kontakt mit dem Toxin, wenn der Bt-Maispollen auf ihren Futterpflanzen deponiert wird, und die Raupen dann die mit Maispollen kontaminierten Blätter fressen und so das im Pollen enthaltene Toxin aufnehmen.

Im Rahmen der Untersuchungen zur Schmetterlingsfauna wurden verschiedene Ansätze und Punkte während der Laufzeit des Projektes (2000 – 2004) untersucht: Untersuchungen zum Blühzeitpunkt des Mais, Toxinbestimmung von Pollen von Bt-Maissorten, Quantifizierung des Eintrages von Bt-Maispollen in Feldränder, Bestandsaufnahme der in Feldrändern vorkommenden Tagfaltergesellschaft, ausgewählte Auswertung der Artenschutzkartierung des Bayerischen Landesamtes für Umweltschutz, und als Fallbeispiele die Arten *Papilio machaon* (Schwalbenschwanz) und *Arctia caja* (Brauner Bär), welche exemplarisch eingehender untersucht wurden. Die Effekte einer Konsumierung von Bt-Maispollen wurden für die zwei Beispielsarten sowohl im Labor als auch im Freiland untersucht.

Der überwiegende Teil des Mais (91%) blüht in Bayern im Juli. Der früheste Beginn der Maisblüte war der 27. Juni, der späteste Beginn der 8. August. Auch die Bt-Maissorte „Navares“ (Event Bt176) blühte vorwiegend im Juli. Der Pollen von „Navares“ (Bt176) enthielt durchschnittlich 2590 ppb Cry1Ab-Toxin, der Pollen von „Novelis“ (Event Mon810) 90 – 250 ppb Cry1Ab-Toxin. Der Maispolleneintrag in Feldränder war sehr variabel und reichte von 0 bis 429 Pollenkörner pro cm² Fläche und 24 Stunden. Mit steigender Entfernung zum Maisfeldrand sank die Pollendichte, konnte aber in einer Entfernung von 10 m maximal immer noch 93 Pollen pro cm² betragen. Je mehr Pollen in den Feldrand eingetragen wurde, desto mehr Pollen fand sich auch auf Blättern dort stehender Wilder Möhren, einer Futterpflanze für Raupen des Tagfalters Schwalbenschwanz. Im Mittel fanden sich 31% des eingetragenen

Pollens auf den Möhrenblättern (durchschnittlich 33,5 Pollenkörner pro cm² Blattfläche und 24 h). An Maisfeldrändern wurden insgesamt 36 Tagfalterarten festgestellt, von denen 28% auf der bayerischen und/oder bundesdeutschen „Roten Liste“ stehen. Der Schwalbenschwanz (*Papilio machaon*) kommt in Bayern hauptsächlich in Magerrasenflächen vor, aber auch der Agrarraum ist ein sehr wichtiger Lebensraum: 47% der Fundorte dieser Falterart stammen entweder aus landwirtschaftlich genutzten Flächen oder aus Habitaten, die in Nachbarschaft zur Landwirtschaft liegen. Der Braune Bär (*Arctia cija*) kommt hauptsächlich in Wäldern und Feuchtschlämmlächen vor, sein zweithäufigster Lebensraum sind Flächen der Landwirtschaft: 33% der Fundorte des Braunen Bären stammen entweder aus landwirtschaftlich genutzten Flächen oder aus Habitaten, die in Nachbarschaft zur Landwirtschaft liegen. Der Hauptteil der Populationen beider Falterarten fliegt im Juli zum Zeitpunkt der Maisblüte. Der Fraß von Bt176-Maispollen hatte negative Auswirkungen auf L1-Larven des Schwalbenschwanz im Labor. Je mehr Bt-Maispollen die Raupen konsumierten, desto geringer war ihre Überlebensrate, desto geringer war ihr Körpergewicht, desto länger war ihre Entwicklungszeit zum adulten Falter, und desto geringer war das Körpergewicht adulter Weibchen. Diese letalen und subletalen Effekte traten bereits bei Pollenkonzentrationen auf, die auch natürlicherweise im Freiland vorkommen. Der Fraß von Bt176-Maispollen hatte aber keinerlei Effekt auf L2- und L3-Larven des Braunen Bären. In zwei Freilandversuchen konnte kein Effekt von Bt-Mais auf Raupen des Schwalbenschwanzes am Feldrand festgestellt werden. Allerdings war die natürliche Mortalität bei den Freilandversuchen bereits sehr hoch (bis zu 95%), was möglicherweise einen Bt-Effekt überlagerte. Eine Stichprobenabschätzung zeigte, dass bei einem Monitoring eine Vielzahl von Feldrändern beprobt werden müsste, um einen Bt-Maiseffekt auf Falter statistisch absichern zu können, z.B. einen 10%igen Rückgang der Schwalbenschwanz-Populationen zu belegen, würde die Bearbeitung von 1728 Feldrändern erfordern.

Aufgrund des Blühzeitpunkt des Mais' und des Ausmaßes des Polleneintrages in Feldränder erscheint eine Exposition von Raupen von Nichtziel-Schmetterlingen als sehr wahrscheinlich. Diese Exposition wird unter anderem auch von der Flugzeit der Falter mitbestimmt, und es ist damit zu rechnen, dass eine Vielzahl von Schmetterlingen im Juli an Maisfeldrändern vorkommen. Insbesondere bei einem großflächigen Anbau von Bt176-Mais könnten negative Auswirkungen auf die Schmetterlingsfauna am Feldrand nicht grundsätzlich ausgeschlossen werden. Um die Falterfauna zu schützen, sollten daher Bt-Maissorten mit einem geringeren Toxingehalt im Pollen angebaut werden (Mon810, Bt11), oder eine circa 10 m breite Mantelsaat aus konventionellem Mais um Bt176-Maisfelder angelegt werden. Angesichts des noch äußerst geringen Kenntnisgrades über Freilandwirkungen von Mon810- und Bt11-Mais auf einheimische Schmetterlinge, wären jedoch noch umfassende Experimente und Studien mit diesen Bt-Sorten im Feld dringend anzuraten. Die Auswahl der hierbei zu berücksichtigenden Falterarten könnte über eine gründliche Auswertung der Artenschutzkartierung des Landesamtes für Umweltschutz bezüglich Lebensräume und Flugzeiten der einzelnen Arten erfolgen.

Danksagung

Bei folgenden Personen möchte ich mich für ihre Unterstützung, Mitarbeit und gute Zusammenarbeit bedanken: Michael Arndt, Johannes Bauchhenß, Armin Baur, Robert Beck, Ulrich Benker, Sandra Bössow, Anna Franke, Helmut Glaßl, Dieter Heublein, Johanna Kaindl, Franz Kallhardt, Gisbert Kuhn, Klaus Lettenmeyer, Johann Mayr, Michael Meissle, Lotte Moreth, Günter Pommer, Heinz Rothacher, Johannes Scheuerer, Sandra Schüchen, Robert Schrader, Andreas Segerer, Bettina Spindler, H. Stöckinger, Marek Tkaczyk, Hubertina Tränkle, August Vötter, Eva Vojtech, Josef Wächter, Florian Weihrauch, Cathryn Wynn-Edwards, und Barbara Zeilmaier.

3.1.2.10 Anhang mit Tabellen, Abbildungen, Literaturverzeichnis

Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

- Tab. 1: Literaturübersicht über Laborstudien mit Bt-Mais und Nichtziel-Schmetterlingen.
- Tab. 2: Publikationen über Freilandstudien mit Bt-Mais und Nichtziel-Schmetterlingen.
- Tab. 3: Liste der in Maisfeldrändern festgestellten Tagfalterarten.
- Tab. 4: Stichprobenabschätzung für ein Tagfalter-Monitoring.
- Tab. 5: Fütterungsversuche mit Bt-Maispollen und Schwalbenschwanz-Raupen.
- Abb. 1: Zeitpunkt der Blüte verschiedener Maissorten und von Bt176 „Navares“.
- Abb. 2: Eintrag von Maispollen im Feldrand.
- Abb. 3: Deposition von Maispollen auf Wilder Möhre (*Daucus carota*).
- Abb. 4: Statistische Power-Analyse zum Monitoring eines Bt-Effektes auf Tagfalter.
- Abb. 5: Lebensräume des Schwalbenschwanz (*Papilio machaon*).
- Abb. 6: Phänologie des Schwalbenschwanz (*Papilio machaon*).
- Abb. 7: Lebensräume des Braunen Bär (*Arctia caja*).
- Abb. 8: Phänologie des Braunen Bär (*Arctia caja*).
- Abb. 9: Überlebenskurven von L1-Larven (*P. machaon*) nach Fraß von Bt-Maispollen.
- Abb. 10: Pollendichte, Pollenkonsumierung und Blattfraß von L1-Larven (*P. machaon*).
- Abb. 11: Gewicht und Entwicklung von L1-Larven (*P. machaon*) nach Fraß von Bt-Pollen.
- Abb. 12: Gewicht und Flügelgrößen von adulten *P. machaon*.
- Abb. 13: Mortalität von Raupen des Braunen Bär nach Fraß von Bt-Maispollen.
- Abb. 14: Blattfraß von Raupen des Braunen Bär nach Fraß von Bt-Maispollen.
- Abb. 15: Gewichtszunahme von Raupen des Braunen Bär nach Fraß von Bt-Maispollen.
- Abb. 16: Freilandversuche mit L1-Larven von *P. machaon*.

Tab. 1: Übersicht (Stand: 22.6.04) über die publizierten Laborstudien mit Bt-Mais und Nichtziel-Schmetterlingen (d.h. ohne „Schädlinge“).

Study	Event, toxin	Diet	Organism(s) tested	Origin of species	Instar of larvae	Number of larvae tested	Parameters tested	Effects of <i>Bt</i> on study organism(s)
Binning & Rice 2002	Bt11 Cry 9C	Maize plants and green plant material	<i>Papaipema nebris</i> (Noctuidae), secondary pest	USA	L1 – L4	not known	Larval mortality & body weight	Higher mortality, lower weight, L3 – L4 less susceptible, no difference between Bt events
Felke & Langenbruch 2001	Bt176	Pollen	<i>Pieris brassicae</i> (Pieridae) <i>Pieris rapae</i> (Pieridae) <i>Plutella xylostella</i> (Yponomeutidae)	Europe	L2 – L3 L2 – L3 L4	ca. 440 ca. 670 ca. 550	Larval mortality & body weight	Higher mortality, lower weight, LD50 values differ among species, older larvae less susceptible
Felke et al. 2002	Bt 176	Pollen	<i>Pieris brassicae</i> (Pieridae) <i>Pieris rapae</i> (Pieridae) <i>Plutella xylostella</i> (Yponomeutidae)	Europe	L2 L2 L4	174 359 206	Larval mortality & body weight, consumption rate	Higher mortality, lower consumption rate, lower weight, LD50 values differ among species, older larvae less susceptible
Felke & Langenbruch 2003	Bt176	Pollen	<i>Nymphalis io</i> (Nymphalidae)	Europe	L2 – L4	3153	Larval mortality & body weight	Higher mortality, lower weight, L3 – L4 larvae less susceptible, LD50
Hansen Jesse & Obrycki 2000	Bt176 Bt11	Pollen	<i>Danaus plexippus</i> (Danaiidae)	USA	L1	455	Larval mortality & body weight, pupal weight, adult wing length, adult lipid content	Higher larval mortality, higher effect of Bt176, no effect on adults
Hansen Jesse & Obrycki 2002	Bt176, Bt11	Pollen, anthers	<i>Euchatias egle</i> (Arctiidae)	USA	L1 – L2	45	Larval mortality	No effects
Hellmich et al. 2001	Bt176, Bt11, Mon810, Cry9C, Cry1Ac, Cry1F	Artificial diet, pollen	<i>Danaus plexippus</i> (Danaiidae)	USA	L1 – L3 L1	> 1000	Larval mortality & body weight, consumption rate	Higher mortality & lower weight after consumption of Bt176, L3 – L4 less susceptible, contaminants in pollen masses (anthers) increase adverse effects, LC50
Losey et al. 1999	Bt11	Pollen	<i>Danaus plexippus</i> (Danaiidae)	USA	L2 – L3	50	Larval mortality & body weight, consumption rate	Higher mortality & lower weight, lower consumption rate
Pilcher et al. 1997a	Bt176	Maize: green plant material	<i>Agrotis ipsilon</i> <i>Papaipema nebris</i> <i>Pseudaletia unipuncta</i> <i>Helicoverpa zea</i> (all Noctuidae and secondary pests)	USA, Europe USA USA, Europe USA	L1 L1 (?) L1 L1	240 160 240 240	Larval mortality & development, pupal weights (male, female)	<i>P. unipuncta</i> larvae had higher mortality, longer development & less pupal weight, <i>H. zea</i> had higher mortality & longer development
Wraight et al. 2000	Mon810, Bt176	Pollen	<i>Papilio polyxenes</i> (Papilionidae)	USA	L1	96	Larval mortality	No effect of Mon810, increased mortality with Bt176
Zangerl et al. 2001	Bt176	Pollen	<i>Papilio polyxenes</i> (Papilionidae)	USA	L1	?	Larval mortality	Higher mortality, LD50 value

Tabelle 2: Literaturübersicht (Stand: 22.6.04) der publizierten Freiland-Studien mit Bt-Mais und Nichtziel-Schmetterlingen.

Study	Event	Field / plot size	N per treatment	Seasons	Country	Species	Instar of larvae (n = total number)	Parameters tested	Effects of Bt maize
Pilcher et al. 1997a	Bt176	22.8m ²	80 Bt plants, 80 control plants	2	USA	<i>Agrotis ipsilon</i> <i>Agrotis ipsilon</i> <i>Papaipema nebris</i> <i>Pseudaletia unipuncta</i> <i>Helicoverpa zea</i> (all species are Noctuidae and secondary pests)	L1 (n = 800 per yr) L4 (n = 320 per yr) L2 – L3 (n = 160 in 1 yr) L1 (n ca. 3000 per yr) L1 (n = 800 – 4000)	Consumption, consumption, consumption, consumption	No effect, no effect, less damage in Bt corn, less damage in Bt corn, less damage in Bt corn
Stanley-Horn et al. 2001	Bt176 Bt11 Mon810	21m ² , 5 – 17 ha 0.2 ha	3 – 10	1	USA	<i>Danaus plexippus</i> (Danaiidae)	L1 (n = 96), Bt176 L1 (n = 40), Bt176 L1 – L3 (n = 480), Bt11 L1 (n = 540), Bt11 L1 (n = 150), Mon810	Larval survival & weight; for Bt11 corn only: developmental time, pupal and adult weight, and wing length.	Less survival and less weight with Bt176 corn, insecticide application increased mortality
Wraight et al. 2000	Mon810	1.2 ha	5	1	USA	<i>Papilio polyxenes</i> (Papilionidae)	L1 (n = 100)	Larval mortality, larval weight	No effects
Zangerl et al. 2001	Bt176	90m ² ,	4 – 5	1	USA	<i>Danaus plexippus</i> (Danaiidae) <i>Papilio polyxenes</i> (Papilionidae)	<i>D. plexippus</i> L1 (n = 600), <i>Papilio polyxenes</i> L1 (n = 300)	Larval mortality, larval weight	Less weight of <i>P. polyxenes</i> larvae, only 22 larvae of <i>D. plexippus</i> survived in total (i.e., statistical power is very low)

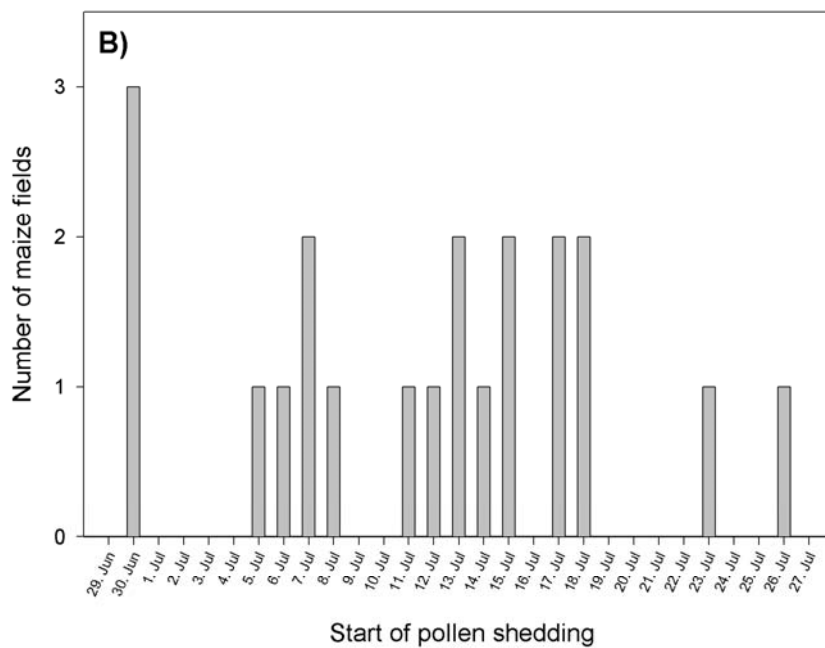
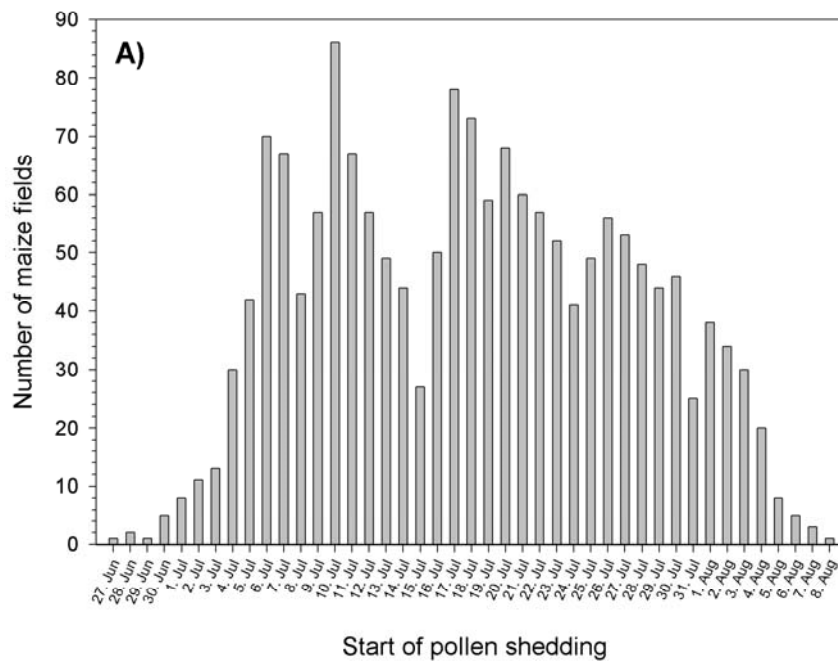


Abb. 1: (A) Beginn der Maisblüte in Bayern von 1995 – 2000 (N = 307 verschiedene Maissorten auf 1680 Feldern von 22 Standorten). (B) Beginn der Maisblüte des Bt176-Mais „Navares“ auf den bayerischen Versuchsgütern 2000 – 2003 (N = 21 Felder).

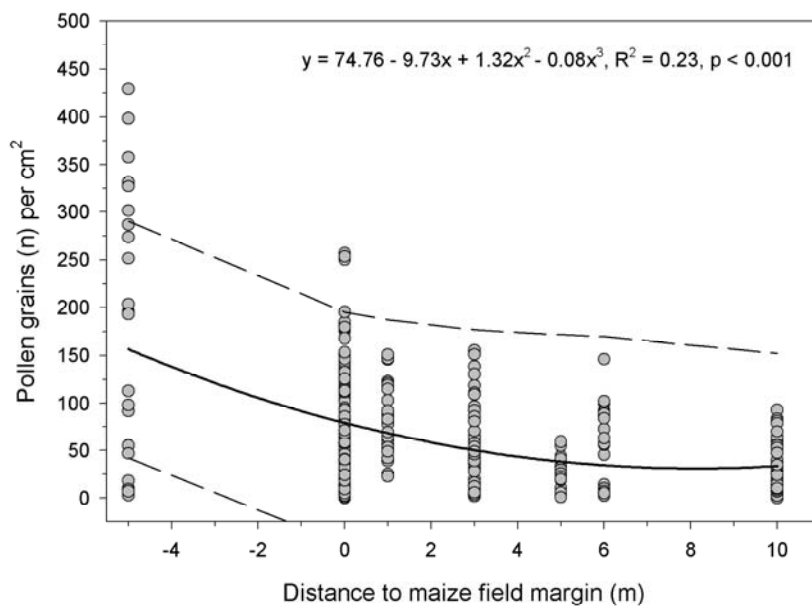


Abb. 2: Eintrag von Maispollen am Feldrand in Abhängigkeit von der Entfernung zum Maisfeld (Anzahl der Maispollen auf mit Vaseline bestrichenen Objektträgern, $n = 300$, 24-Stunden-Werte). Regressionslinie, 95%-Konfidenzintervall und Regressionsgleichung sind in der Graphik angegeben.

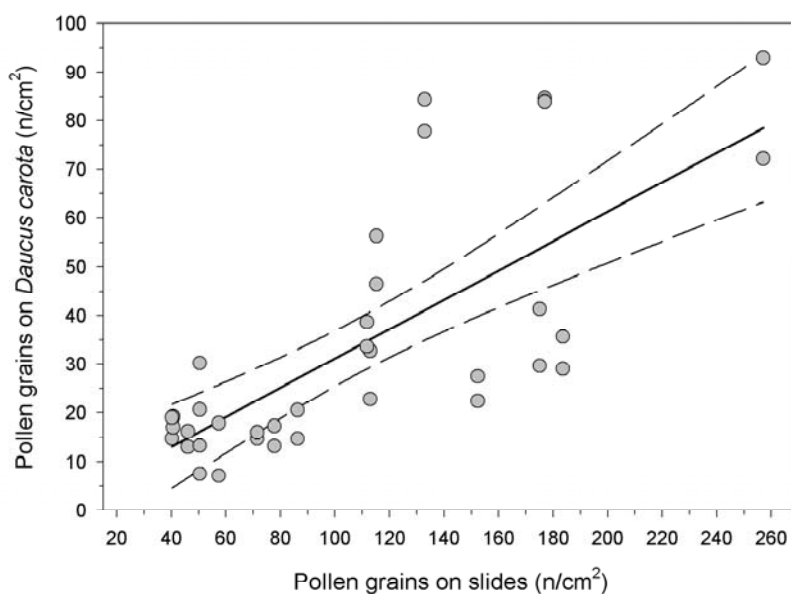


Abb. 3: Dichte von Maispollen auf Blättern der Wilden Möhre (*Daucus carota*) in Abhängigkeit von der Pollendeposition. Gezeigt sind 24-Stunden-Messungen von Aufnahmen an einem Bt176-Maisfeldrand in Neuhoof. Die Pollendeposition wurde mit Objektträgern gemessen (vgl. Abb. 2). Die lineare Regression (95%-Konfidenzintervall eingetragen) lautet: $y = 0.99 + 0.30x$, $R^2 = 0,54$, $p < 0.001$, $n = 36$.

Tabelle 3: Artenliste der in Maisfeldrändern festgestellten Tagfalter. Beobachtungen von adulten Faltern in den Jahren 2000 bis 2003 auf sechs Versuchsgütern in Bayern (Beobachtungszeit insgesamt = 2235 min).

No.	Art	Gefährdung		Beobachtungen (n)	rel. Anteil (%)
		BY ²	BRD ³		
1	<i>Papilio machaon</i> L. ¹		V ⁴	16	1.69
2	<i>Leptidea sinapis</i> L. / <i>realis</i> Reiss.	D ⁵	V ⁴	2	0.21
3	<i>Colias hyale</i> L. / <i>alfacariensis</i> Ribbe			2	0.21
4	<i>Gonepteryx rhamni</i> L.			10	1.05
5	<i>Aporia crataegi</i> L.	3 ⁶	V ⁴	1	0.11
6	<i>Pieris brassicae</i> L.			27	2.85
7	<i>Pieris rapae</i> L. ¹			318	33.51
8	<i>Pieris napi</i> L. ¹			89	9.38
9	<i>Anthocharis cardamines</i> L.			10	1.05
10	<i>Apatura iris</i> L.	V ⁴	V ⁴	1	0.11
11	<i>Apatura ilia</i> Denis & Schifferm.	V ⁴	3 ⁶	3	0.32
12	<i>Limenitis camilla</i> L.	V ⁴	3 ⁶	1	0.11
13	<i>Nymphalis io</i> L. ¹			33	3.48
14	<i>Nymphalis c-album</i> L.			3	0.32
15	<i>Nymphalis urticae</i> L. ¹			72	7.59
16	<i>Vanessa atalanta</i> L. ¹			19	2.35
17	<i>Vanessa cardui</i> L. ¹			34	3.58
18	<i>Araschnia levana</i> L. ¹			15	1.58
19	<i>Melitaea diamina</i> Lang	3 ⁶	3 ⁶	1	0.11
20	<i>Argynnis paphia</i> L.			11	1.16
21	<i>Issoria lathonia</i> L.			20	2.11
22	<i>Brenthis ino</i> Rottemburg	3 ⁶	V ⁴	10	1.05
23	<i>Boloria selene</i> Denis & Schifferm.	3 ⁶	V ⁴	3	0.32
24	<i>Melanargia galathea</i> L.			33	3.48
25	<i>Maniola jurtina</i> L.			41	4.32
26	<i>Aphantopus hyperantus</i> L.			39	4.11
27	<i>Coenonympha pamphilus</i> L.			57	6.01
28	<i>Pararge aegeria</i> L.			5	0.53
29	<i>Lasiommata megera</i> L.			2	0.21
30	<i>Neozephyrus quercus</i> L.			1	0.11
31	<i>Lycaena phlaeas</i> L.			4	0.42
32	<i>Polyommatus icarus</i> Rottemburg			25	2.63
33	<i>Carterocephalus palaemon</i> Pallas		V ⁴	3	0.32
34	<i>Thymelicus sylvestris</i> Poda			14	1.48
35	<i>Thymelicus lineola</i> Ochsenheimer			19	2.00
36	<i>Ochlodes sylvanus</i> Esper			5	0.53

¹ Reproduktionsnachweis: Beobachtung von Eiablage, Raupen oder Puppen

² Bolz & Geyer (2003), Rote Liste Bayern

³ Pretscher (1998), Rote Liste Deutschland

⁴ V = Arten der Vorwarnliste

⁵ D = Daten defizitär

⁶ 3 = Gefährdet

Tab. 4: Stichprobenabschätzung für ein Tagfalter-Monitoring. Angegeben sind die Anzahl von Feldrändern, welche beprobt werden müssten, um einen Bt-Effekt auf die Artenzahl und die Gesamtabundanz aller Tagfalter sowie auf die Abundanz von 11 ausgewählten Arten nachzuweisen. Die Anzahl Feldränder ist für verschiedene Szenarien errechnet (5 – 50% Reduktion), und für den Gesamtstichprobenumfang müssen die Zahlen verdoppelt werden (d.h., Feldränder neben Bt-Maisfeldern plus Feldränder neben konventionellen Feldrändern). Die Berechnungen basieren auf den Mittelwerten (\pm 1SD) der Tagfalterkartierung 2000 – 2002 von 15 Feldrändern (zu weiteren Voraussetzungen siehe Punkt 3.3.2.6 und Lang 2004).

Variable	Anzahl pro 60min und Feldrand (\pm 1SD)	Anzahl von Stichprobenpaaren zum Nachweis einer Reduktion von							
		5%	10%	15%	20%	25%	30%	40%	50%
Anzahl Arten	5.95 \pm 2.78	1078	271	121	69	44	31	18	12
Gesamtabundanz	23.29 \pm 8.88	720	181	81	46	30	21	12	8
<i>P. machaon</i>	1.51 \pm 1.26	3406	864	383	215	139	97	55	36
<i>P. rapae</i>	10.78 \pm 4.70	940	236	106	60	39	27	16	11
<i>P. napi</i>	2.89 \pm 1.31	1005	254	113	64	42	29	17	11
<i>I. io</i>	1.24 \pm 0.59	1114	279	153	71	46	32	19	12
<i>V. atalanta</i>	1.30 \pm 1.36	5451	1364	607	342	219	153	86	56
<i>C. cardui</i>	1.08 \pm 1.11	5266	1317	586	330	212	147	83	54
<i>A. urticae</i>	1.30 \pm 0.95	2621	656	292	165	105	74	42	27
<i>I. lathonia</i>	1.75 \pm 1.51	3642	922	409	231	148	103	59	38
<i>M. jurtina</i>	1.79 \pm 1.08	1814	449	201	114	73	51	29	19
<i>C. pamphilus</i>	1.61 \pm 1.10	2288	580	257	145	94	65	37	24
<i>P. icarus</i>	1.34 \pm 0.90	2216	555	250	141	90	63	36	23

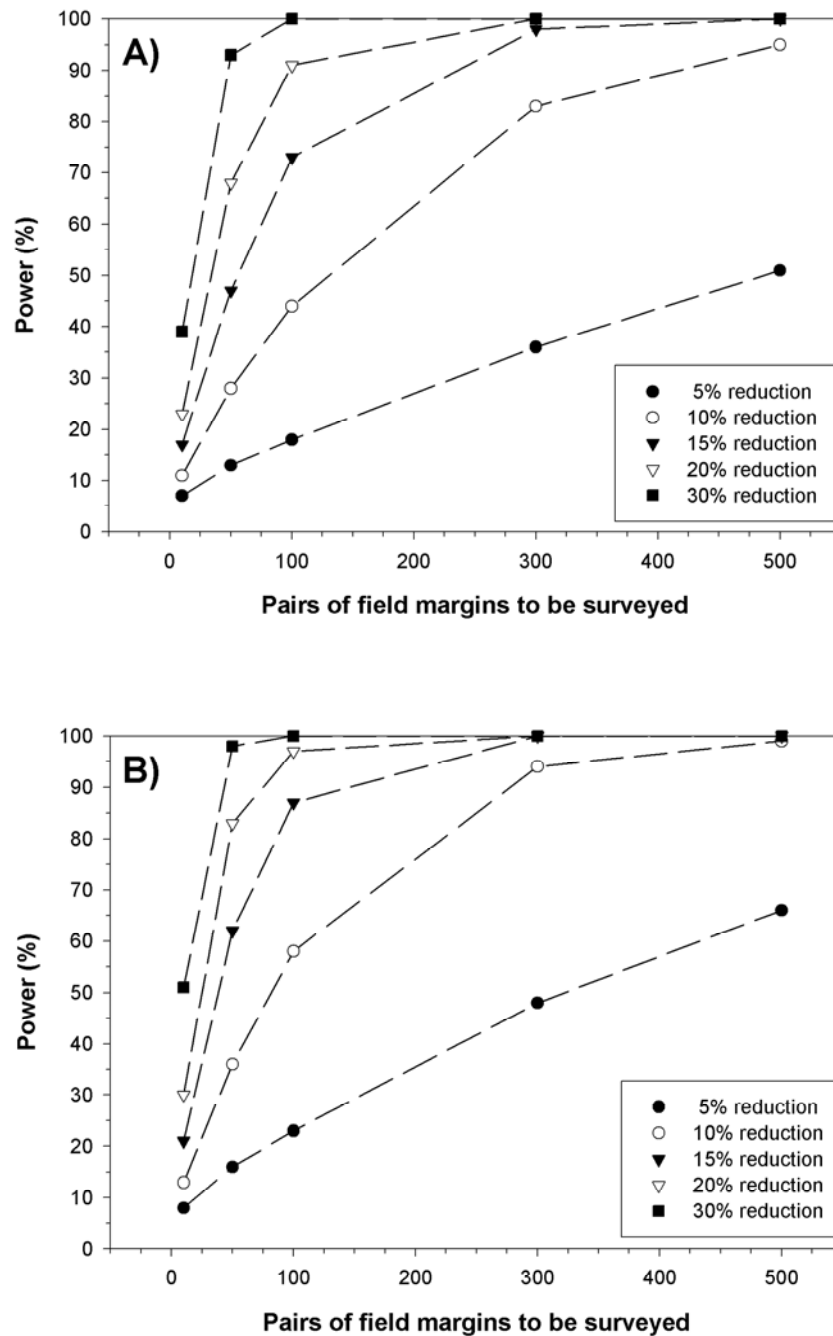


Abb. 4: Power-Analyse zum Monitoring eines Bt-Mais-Effektes auf die Artenzahl von Tagfaltern (A) und die Gesamtabundanz von Tagfaltern (B) in Feldrändern. Die Wahrscheinlichkeit, einen Effekt zu entdecken (= Power) ist für verschiedene Fallbeispiele gezeigt, die von einer 5% bis 30% Reduktion der Arten- bzw. Individuenzahlen ausgehen. Der Stichprobenumfang ist angegeben als Paare von Feldrändern, d.h. für den gesamten Beprobungsaufwand müssen die Zahlen der x-Achse verdoppelt werden (= Bt-Feldränder plus Nicht-Bt-Feldränder). Zu den Voraussetzungen der Berechnungen siehe Punkt 3.3.2.6 und Lang (2004).

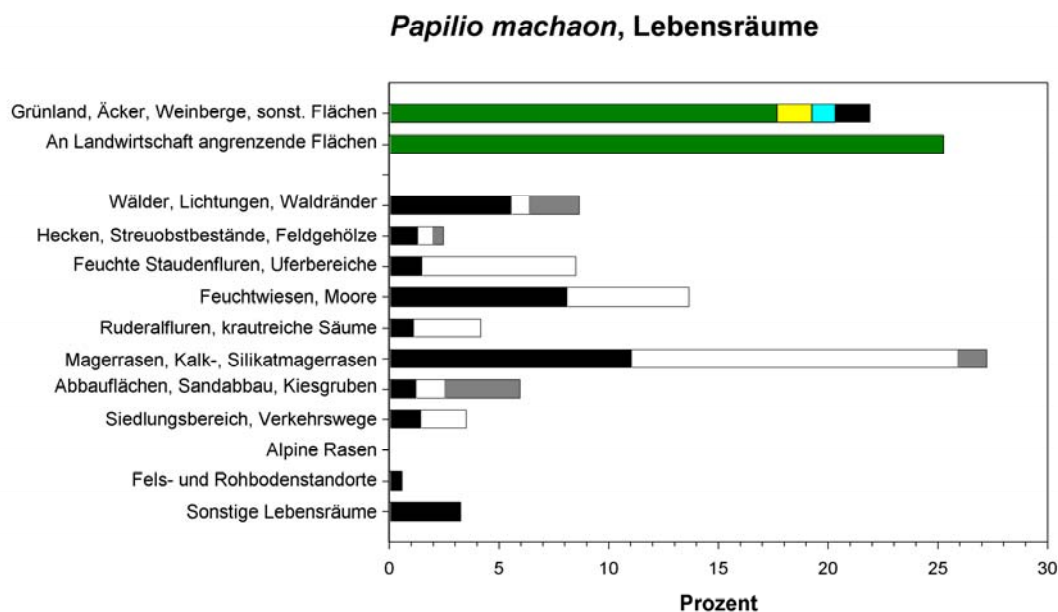


Abb. 5: Lebensräume des Schwalbenschwanzes (*Papilio machaon*) in Bayern. Nachweise von Imagines aus der Artenschutzkartierung des bayer. LfU (n = 2700 Fundorte, Stand 19.04.2004). „An Landwirtschaft angrenzende Flächen“ bezeichnet den Prozentsatz der Fundorte, die zwar keine landwirtschaftlichen Flächen aber landwirtschaftlichen Flächen benachbart sind.

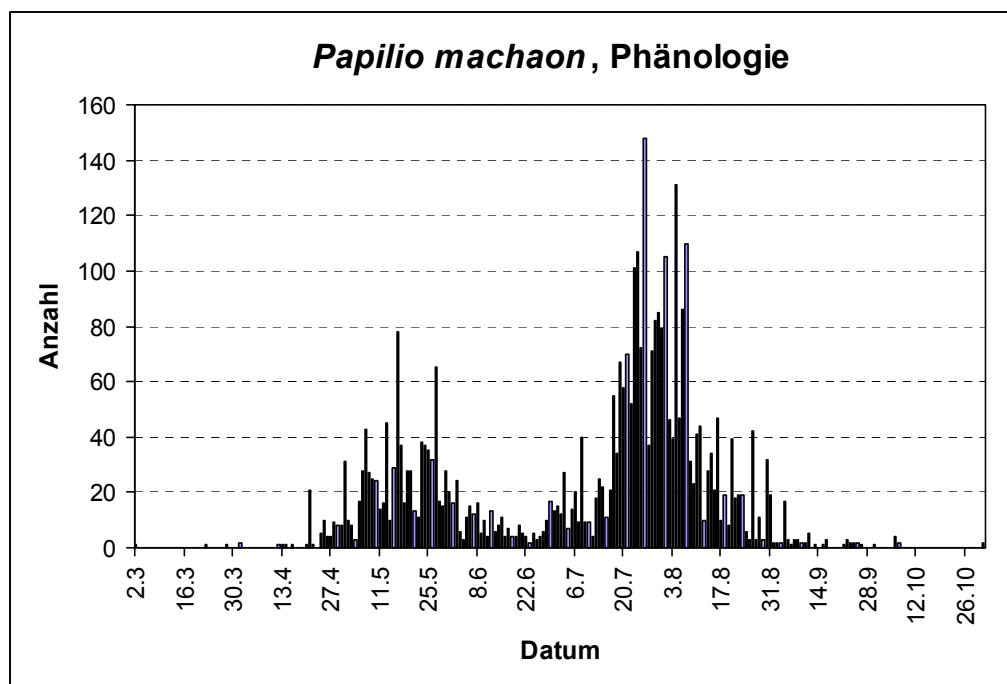


Abb. 6: Jahreszeitliches Auftreten (Phänologie) des Schwalbenschwanzes (*Papilio machaon*) in Bayern. Nachweise von Imagines aus der Artenschutzkartierung des bayer. LfU (n = 3706 Beobachtungen, Stand 19.04.2004).

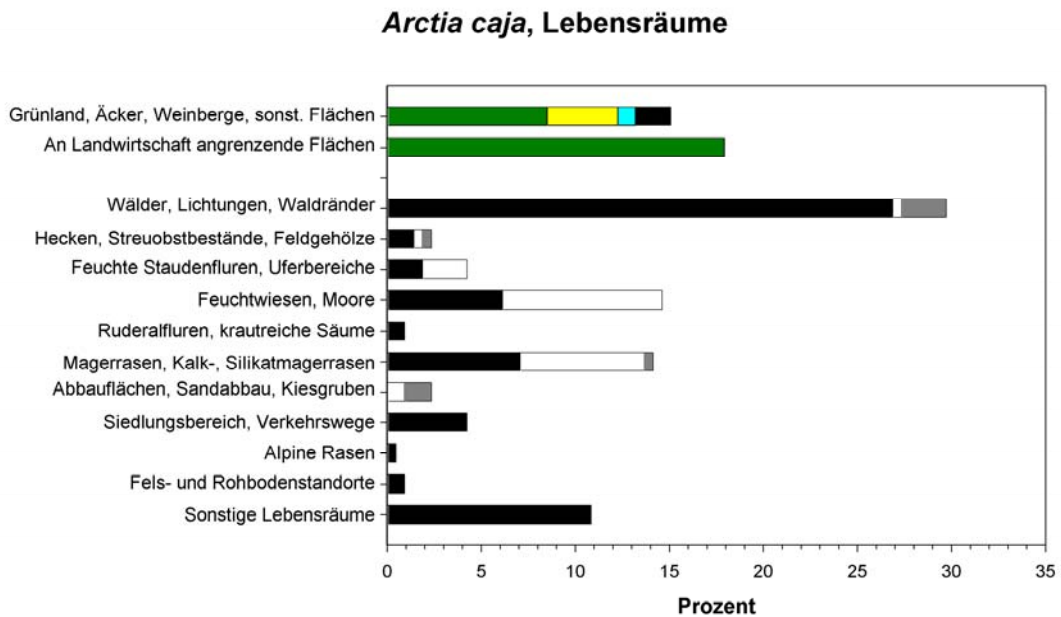


Abb. 7: Lebensräume des Braunen Bär (*Arctia caja*) in Bayern. Nachweise von Imagines aus der Artenschutzkartierung des bayer. LfU (n = 212 Fundorte, Stand 19.04.2004). „An Landwirtschaft angrenzende Flächen“ bezeichnet den Prozentsatz der Fundorte, die zwar keine landwirtschaftlichen Flächen, aber landwirtschaftlichen Flächen benachbart sind.

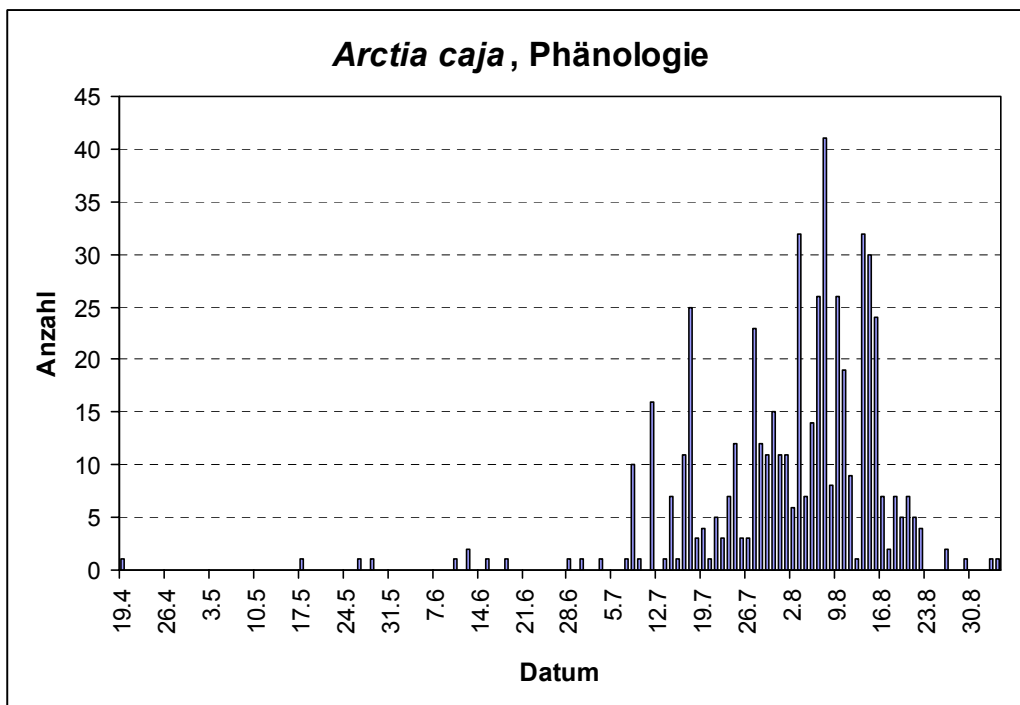


Abb. 8: Jahreszeitliches Auftreten (Phänologie) des Braunen Bär (*Arctia caja*) in Bayern. Nachweise von Imagines aus der Artenschutzkartierung des bayer. LfU (n = 526 Beobachtungen, Stand 19.04.2004).

Tab. 5: Fütterungsversuch im Labor mit Bt176-Maispollen und L1-Larven des Schwalbenschwanzes (*P. machaon*): Experimentelle Pollenexposition sowie Blatt- und Pollen-Fraß der verschiedenen Behandlungen (Behandlung = auf Blatt aufgetragene Pollenlösung (mg Pollen pro 10ml Wasser); Applizierter Pollen = absolute Anzahl Pollenkörner auf dem Blatt; Pollen pro Blattfläche = Pollendichte; Blatt-Fraß = Menge des von den Larven in 48h gefressenem Blattmaterials; Pollen-Fraß = Anzahl Pollen, die von den Larven in 48h gefressen wurden). Die Variable „Blatt-Fraß“ wurde in vier Klassen (0% - 25%, - 50%, - 75%, - 100% gefressen) aufgenommen und umgerechnet. Als Blätter wurden standardisierte Blättchen von Pastinak (*Pastinaca sativa*) gegeben. Die präsentierten Werte sind Mittelwerte \pm Standardabweichungen. Sternchen markieren signifikante Unterschiede unter den Behandlungen in einer Spalte ($p < 0.05$, Kruskal-Wallis-Test). Werte innerhalb einer Spalte mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0.05$, Tamhane-Test); n = jeweilige Anzahl der Raupen.

Behandlung (Pollen pro 10ml)	Applizierter Pollen* (n)	Pollen pro Blattfläche* (n / cm ²)	Blatt-Fraß* (cm ²)	Pollen-Fraß* (n)
Kontrolle (n = 133)	0 a	0 a	1.64 \pm 0.49 a	0 a
1.0mg (n = 31)	4.71 \pm 2.36 b	18.78 \pm 9.39 b	1.39 \pm 0.49 a	4.42 \pm 2.17 b
2.5mg (n = 44)	9.86 \pm 1.83 c	39.34 \pm 7.28 c	0.90 \pm 0.51 b	8.86 \pm 2.14 c
5.0mg (n = 44)	18.61 \pm 2.83 d	74.24 \pm 11.29 d	0.86 \pm 0.49 bc	16.02 \pm 4.10 d
7.5mg (n = 47)	30.77 \pm 5.45 e	122.71 \pm 21.75 e	0.61 \pm 0.31 cd	23.62 \pm 7.23 e
10mg (n = 38)	39.89 \pm 6.68 f	159.12 \pm 26.65 f	0.49 \pm 0.27 de	27.61 \pm 11.47 e
20mg (n = 35)	68.63 \pm 14.44 g	273.72 \pm 57.61 g	0.31 \pm 0.16 f	34.71 \pm 19.96 e
30mg (n = 32)	107.84 \pm 28.44 h	430.14 \pm 113.41 h	0.37 \pm 0.24 ef	65.91 \pm 37.41 f

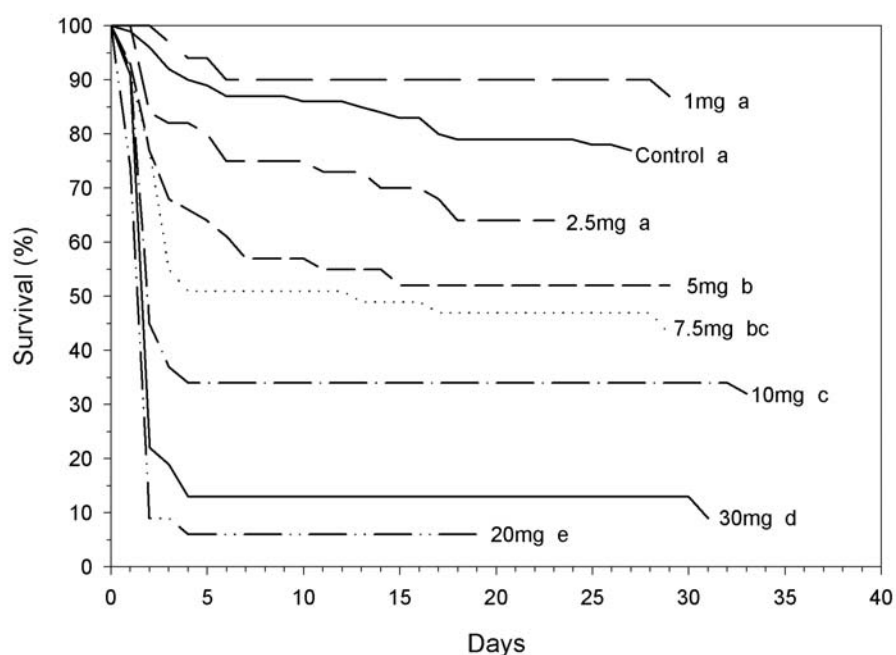


Abb. 9: Überlebenskurven von Larven des Schwalbenschwanzes (*P. machaon*) nach Fraß von Bt176-Maispollen. Behandlung = applizierte Pollenlösung (mg Pollen pro 10ml Wasser), zur Menge an jeweils gefressenem Pollen siehe Tab. 5. Kurven mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0,05$; Kaplan-Meier-Analyse).

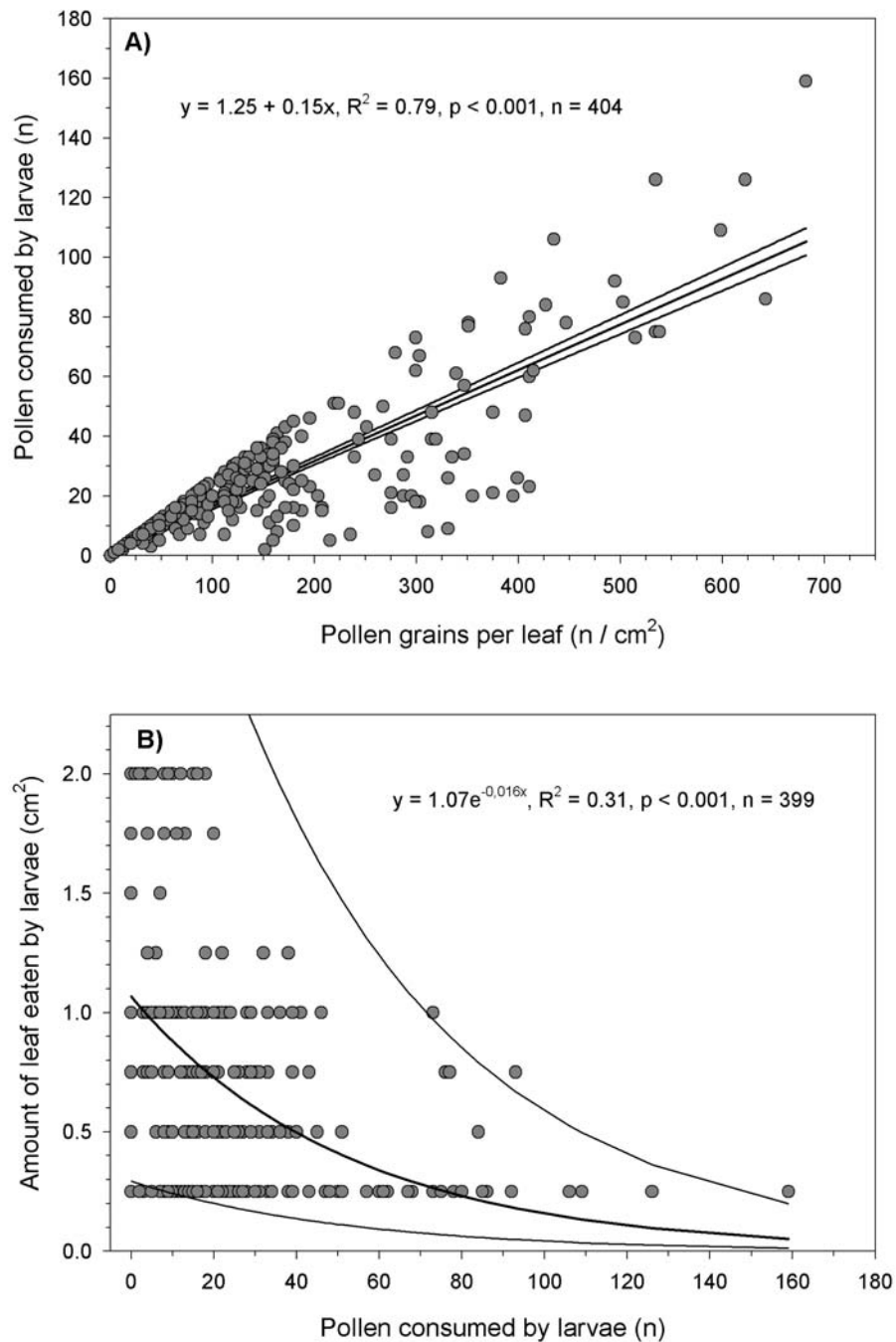


Abb. 10: (A) Abhängigkeit des Pollenfraß' von der Pollendichte auf der Blattfläche; (B) Beziehung zwischen gefressenem Blattmaterial und konsumierten Bt-Maispollen. Laborversuche mit L1-Raupen des Schwalbenschwanzes (*P. machaon*) und Bt176-Maispollen; alle Fraßwerte beziehen sich auf einen 48-Stunden-Zeitraum. In der Graphik sind jeweils die Regressionslinien mit 95%-Konfidenzintervallen, Regressionsgleichungen, R^2 und p -Werte eingetragen (n = Anzahl der Raupen).

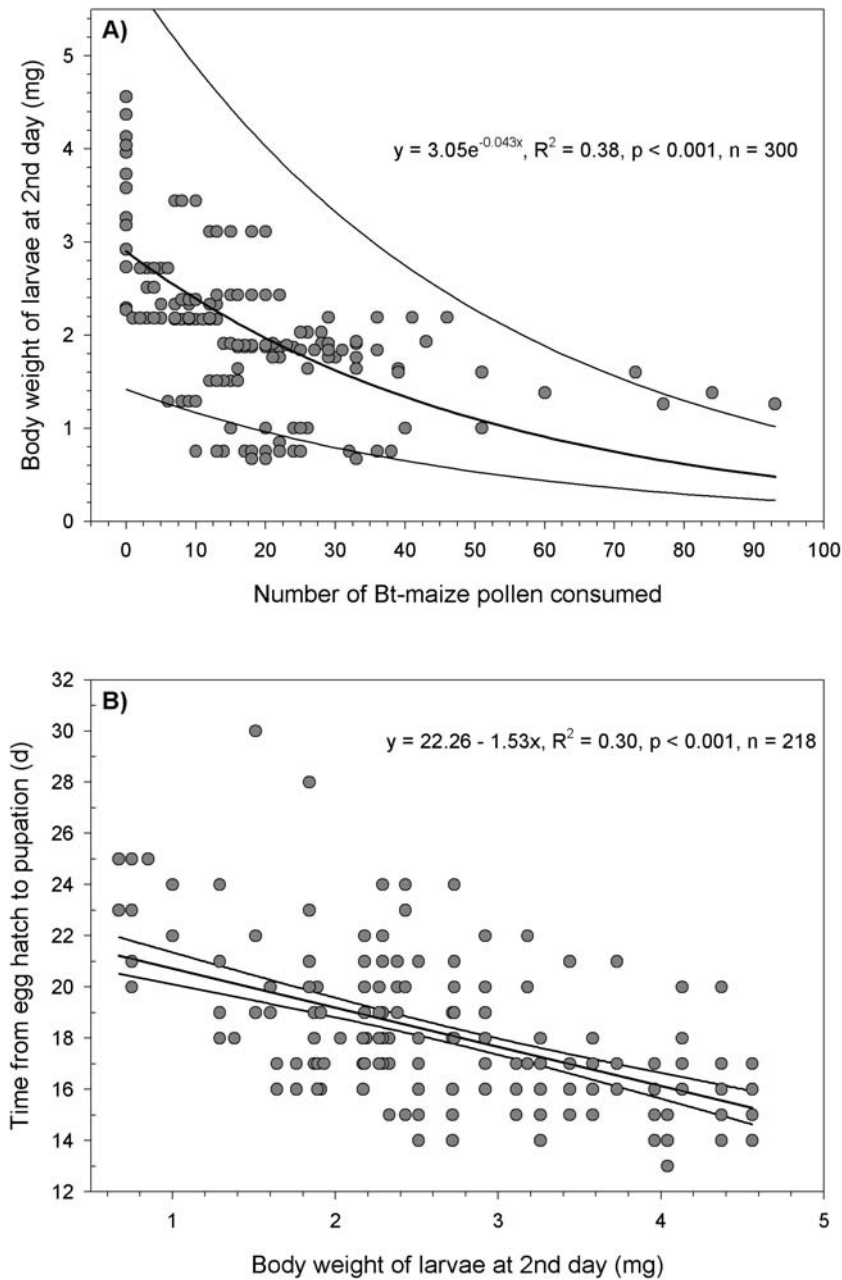


Abb. 11: (A) Körpergewicht zwei Tage alter Raupen in Abhängigkeit von der Anzahl konsumierter Bt-Maispollen (in 48h); (B) Entwicklungszeit der Raupen in Abhängigkeit vom Körpergewicht am zweiten Tag. Laborversuche mit L1-Raupen des Schwalbenschwanzes (*P. machaon*) und Bt176-Maispollen. In der Graphik sind jeweils die Regressionslinien mit 95%-Konfidenzintervallen, Regressionsgleichungen, R^2 und p-Werte eingetragen (n = Anzahl der Raupen).

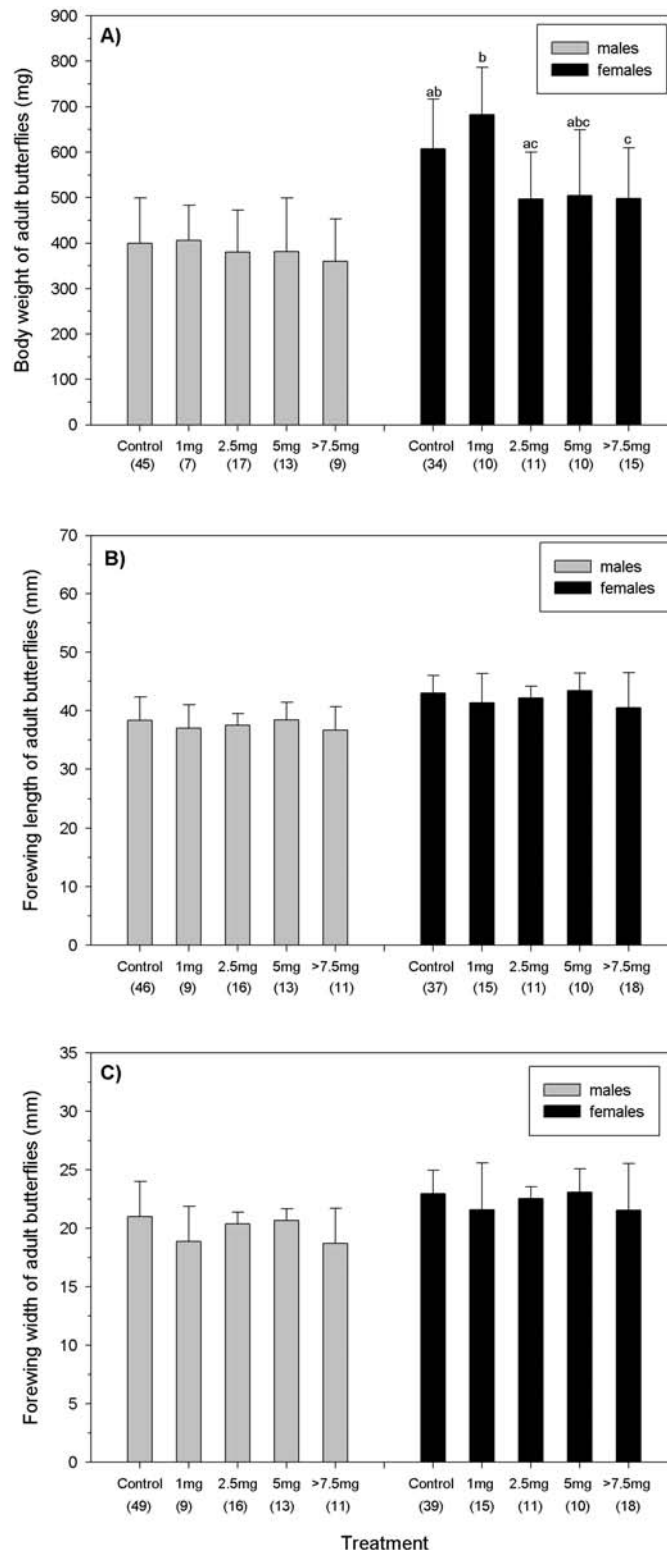


Abb. 12: Körpergewicht (A), Vorderflügel-Länge (B) und Vorderflügel-Breite (C) adulter Schwalbenschwänze (*P. machaon*), die als L1-Larven Bt-Maispollen fraßen. Die verschiedenen Behandlungen bezeichnen die applizierten Pollendosen (mg Bt176-Maispollen pro 10ml Wasser), zur Menge an jeweils gefressenem Pollen siehe Tab. 5, und die Zahlen in Klammern bezeichnen die jeweilige Anzahl an Faltern. Angegeben sind Mittelwerte mit Standardabweichungen. Säulen in (A) mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant ($p < 0.05$, Tamhane-Test)

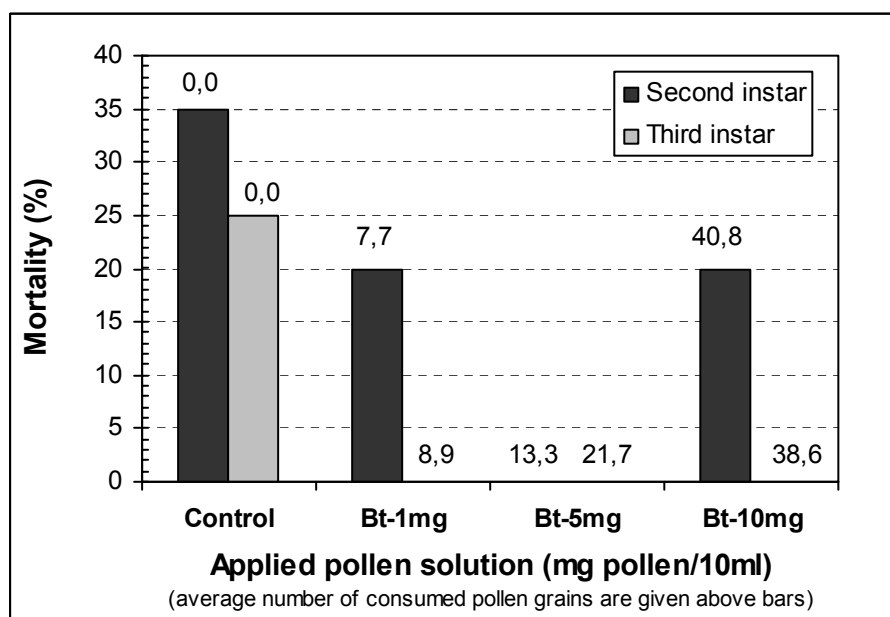


Abb. 13: Mortalität (%) von L2- und L3-Raupen des Braunen Bärs (*A. caji*) 48 Stunden nach Bt176-Maispollen-Fraß (Laborversuch). Angegeben sind die Mittelwerte + Standardfehler für die verschiedenen Behandlungen (auf Löwenzahn-Blatt applizierte mg Bt-Maispollen pro 10ml Wasserlösung) getrennt für das zweite und dritte Larvenstadium. Werte über den Säulen geben die durchschnittliche Anzahl von gefressenem Bt-Pollen pro Larve für die verschiedenen Behandlungen an. Stichprobenumfang ist 10 – 20 Raupen pro Behandlung und Larvenstadium.

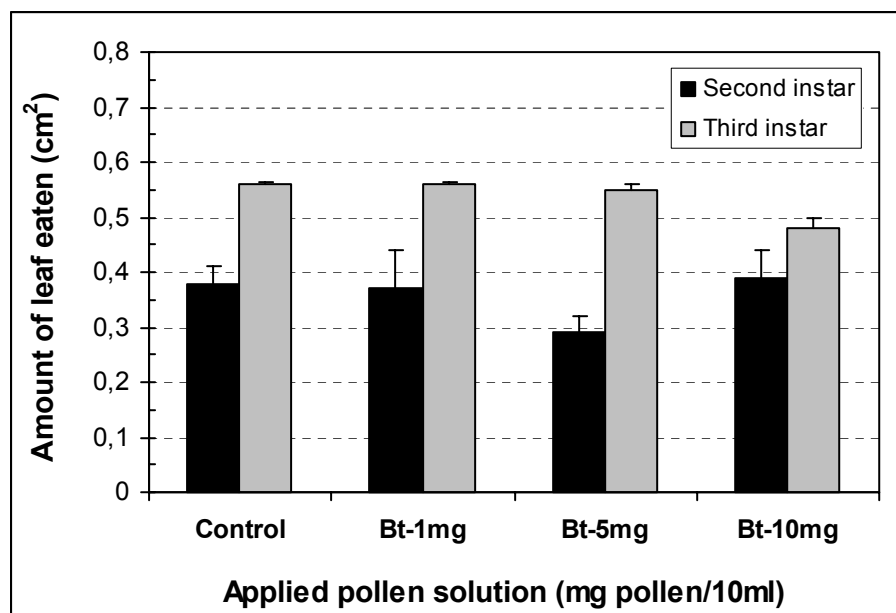


Abb. 14: Laborversuch zum Blattfraß (in 48h) von L2- und L3-Raupen des Braunen Bärs (*A. caji*). Angegeben sind die Mittelwerte + Standardfehler für verschiedene Behandlungen (auf Löwenzahn-Blatt applizierte mg Bt-Maispollen pro 10ml Wasserlösung) getrennt für das zweite und dritte Larvenstadium. Zur Anzahl der gefressenen Maispollen siehe Abb. 13. Stichprobenumfang ist 10 – 20 Raupen pro Behandlung und Larvenstadium.

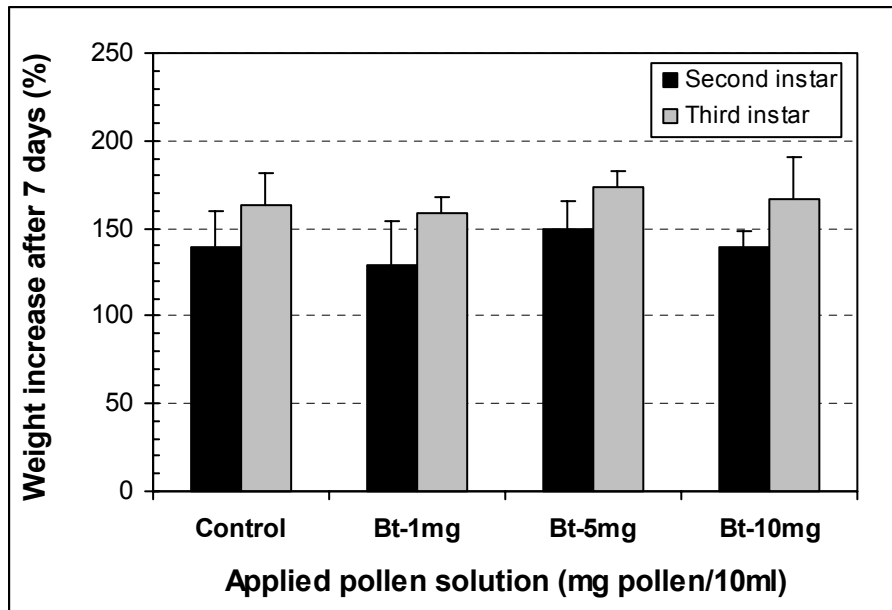


Abb. 15: Gewichtszunahme (%) innerhalb von sieben Tagen von L2- und L3-Raupen des Braunen Bars (*A. caja*) nach Bt176-Maispollen-Fraß. Angegeben sind die Mittelwerte + Standardfehler für verschiedene Behandlungen (auf Löwenzahn-Blatt applizierte mg Bt-Maispollen pro 10ml Wasserlösung) getrennt für das zweite und dritte Larvenstadium. Zur Anzahl der gefressenen Maispollen siehe Abb. 13. Stichprobenumfang ist 10 – 20 Raupen pro Behandlung und Larvenstadium.

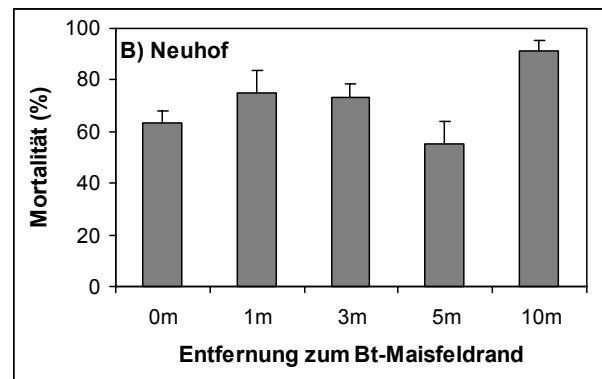
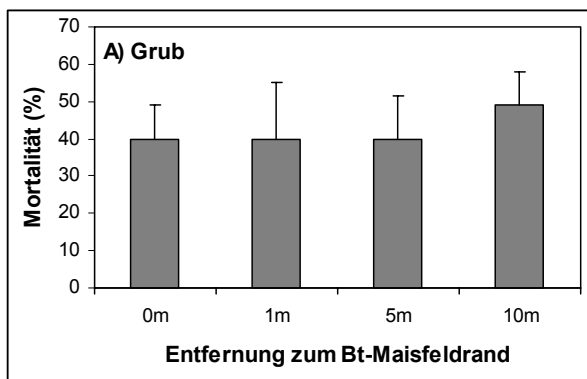


Abb. 16: Freilandversuche mit L1-Raupen des Schwalbenschwanzes (*P. machaon*) in Grub (A) und Neuhof (B). Raupen wurden in unterschiedlicher Entfernung zu einem Bt176-Feld während der Maisblüte auf Wilde Möhre gesetzt und waren so einem Pollendichte-Gradienten ausgesetzt (vgl. Abb. 2). Angegeben ist die Mortalität (%) der Raupen nach sieben Tagen (Mittelwerte + Standardfehler).

Literaturverzeichnis

- Ben-Dov, E., Saxena, D., Wang, Q., Manasherob, R., Boussiba, S., Zaritsky, A. (2003): Ingested particles reduce susceptibility of insect larvae to *Bacillus thuringiensis*. J. Appl. Ent. 127: 146-152.
- Binning, R.R., Rice, M.E. (2002): Effects of transgenic Bt corn on growth and development of the stalk borer *Papaipema nebris* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Econ. Entomol. 95: 622-627.
- Bolz, R., Geyer, A. (2003): Rote Liste gefährdeter Tagfalter (Lepidoptera: Rhopalocera) Bayerns. Schr.-R. Bayer. LfU 166: 217-222.
- Eastham K., J. Sweet (2002): Genetically modified organisms (GMOs): The significance of gene flow through pollen transfer. European Environment Agency, Copenhagen.
- Emberlin J., B. Adams-Groom, J. Tidmarsh (1999): The dispersal of maize (*Zea mays*) pollen. A report commissioned by the Soil Association: National Pollen Research Unit, University College Worcester, UK.
- [EPA] U.S. Environmental Protection Agency (2001): Biopesticides Registration Action Document - *Bacillus thuringiensis* Plant-Incorporated Protectants. Aus dem Internet unter http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/pips/bt_brad.htm, am 11. Mai 2004. 2001.
- Feil B., Schmid, J.E. (2001): Pollenflug bei Mais, Weizen und Roggen. Ein Beitrag zur Frage der beim Anbau von transgenen Kulturpflanzen erforderlichen Isolierabstände. – Shaker Verlag, Aachen.
- Felke, M., Langenbruch, G.A. (2001): Gefährdet *Bt*-Pollen Schmetterlinge? Gesunde Pflanzen 53: 24-28.
- Felke M., N. Lorenz, G.A. Langenbruch (2002): Laboratory studies on the effects of pollen from *Bt*-maize on larvae of some butterfly species. J. Appl. Ent. 126: 320-325.
- Felke M., G.A. Langenbruch (2003): Wirkungen von *Bt*-Mais-Pollen auf Raupen des Tagpfauenauges im Laborversuch. Gesunde Pflanzen 55: 1-7.
- Fleischmann, B. (1942): 33 Jahre Maiszüchtung. Z. Pflanzenzüchtg. 24: 363-373.
- Hansen Jesse L.C., J.J. Obrycki (2000): Field deposition of *Bt* transgenic corn pollen: lethal effects on the monarch butterfly. Oecologia 125: 241-248.
- Hansen Jesse L.C., J.J. Obrycki (2002): Assessment of the non-target effects of transgenic *Bt* corn pollen and anthers on the milkweed tiger moth, *Euchatias egle* Drury (Lepidoptera: Arctiidae). J. Kansas Ent. Soc. 75: 55-58.
- Hellmich R.L., B.D. Siegfried, M.K. Sears, D.E. Stanley-Horn, M.J. Daniels, H.R. Mattila, T. Spencer, K.G. Bidne, L.C. Lewis (2001): Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis*-purified proteins and pollen. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 98: 11925-11930.
- Johnson, K.S., Scriber, J.M., Nitao, J.K., Smitley, D.R. (1995): Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* to three nontarget Lepidoptera in field studies. Environ. Entomol. 24: 288-297.
- Lang, A. (2004): Monitoring the impact of *Bt* maize on butterflies in the field: estimation of required sample sizes. Environ. Biosafety Res. 3: 55-66.
- Losey J.E., L.S. Rayor, M.E. Carter (1999): Transgenic pollen harms monarch larvae. – Nature 399: 214.
- Meier, U. (Hrsg.) (1997): Growth stages of mono- and dicotyledonous plants. – Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry. BBCH-Monograph. Blackwell, Berlin Wien.

- Miller, J.C. (1990): Field assessment of the effects of microbial pest control agent on non-target Lepidoptera. *Amer. Ent.* 36: 135-139.
- Oberhauser K.S., M.D. Prysby, H.R. Mattila, D.E. Stanley-Horn, M.K. Sears, G. Dively, E. Olson, J.M. Pleasants, W.-K. F. Lam, R.L. Hellmich (2001): Temporal and spatial overlap between monarch larvae and corn pollen. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 98: 11913-11918.
- Peacock, J.W., Schweitzer, D.F., Carter, J.I., Dubois, N.R. (1998): Laboratory assessment of the effects of *Bacillus thuringiensis* on native Lepidoptera. *Environ. Entomol.* 27: 450-457.
- Perry, J.N., Rothery, P., Clark, S.J., Heard, M.S., Hawes, C. (2003): Design, analysis and statistical power of the Farm-Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *J. Appl. Ecol.* 40: 17-31.
- Pierce, C.M.F., Solter, L.F., Weinzierl, R.A. (2001): Interactions between *Nosema pyrausta* (Microsporidae: Nosematidae) and *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in the European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.* 94: 1361-1368.
- Pleasants J.M., R.L. Hellmich, G.P. Dively, M.K. Sears, D.E. Stanley-Horn, H.R. Mattila, J.E. Foster, T.L. Clark, G.D (2001). Jones: Corn pollen deposition on milkweeds in and near corn fields. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 98: 11919-11924.
- Pilcher, C.D., Rice, M.E., Obrycki, J.J., Lewis, L.C. (1997a): Field and laboratory evaluations of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn on secondary lepidopteran pests (Lepidoptera: Noctuidae) *J. Econ. Entomol.* 90: 669-678.
- Pilcher C.D., J.J. Obrycki, M.E. Rice, L.C. Lewis (1997b): Preimaginal development, survival, and field abundance of insect predators on transgenic *Bacillus thuringiensis* corn. *Environ. Entomol.* 26: 446-454.
- Pretscher, P. (1998): Rote Liste der Großschmetterlinge (Macrolepidoptera). Tagfalter (Rhopalocera) einschließlich Dickkopffalter (Hesperiidae). In: Bundesamt für Naturschutz, Rote Liste gefährdeter Tiere Deutschlands. Landwirtschaftsverlag GmbH, Münster-Hiltrup: 87-98.
- Raynor G.S., J.V. Hayes, E.C. Ogden (1972): Dispersion and deposition of corn pollen from experimental sources. *Agron. J.* 64: 420-426.
- Sears M.K., R.L. Hellmich, D.E. Stanley-Horn, K.S. Oberhauser, J.M. Pleasants, H.R. Mattila, B.D. Siegfried, G.P. Dively (2001): Impact of *Bt* corn pollen on monarch butterfly populations: A risk assessment. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 98: 11937-11942.
- Stanley-Horn D.E., G.P. Dively, R.L. Hellmich, H.R. Mattila, M.K. Sears, R. Rose, L.C. Hansen Jesse, J.E. Losey, J.J. Obrycki, L. Lewis (2001): Assessing the impact of Cry1Ab-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 98: 11931-11936.
- Treu R., Emberlin, J. (2000): Pollen dispersal in the crops maize (*Zea mays*), oil seed rape (*Brassica napus* spp. *oleifera*), potatoes (*Solanum tuberosum*), sugar beet (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris*) and wheat (*Triticum aestivum*). – Report for the Soil Association, National Pollen Research Unit, University College Worcester, UK.
- Vojtech, E. (2002): Auswirkungen des Pollens von transgenen Bt-Maispflanzen auf Raupen des Schwalbenschwanzes, *Papilio machaon* LINNAEUS, 1758 (Lepidoptera, Papilionidae). Diplomarbeit an der Ludwig-Maximilians-Universität München, Fakultät für Biologie. 99S.

Wagner, D.L., Peacock, J.W., Carter, J.L., Talley, S.E. (1996): Field assessment of *Bacillus thuringiensis* on nontarget Lepidoptera. Environ. Entomol. 25: 1444-1454.

Wolt J.D., R.K.D. Peterson, P. Bystrak, T. Meade (2003): A screening level approach for nontarget risk assessment: transgenic Bt corn pollen and the monarch butterfly (Lepidoptera: Danaidae). Environ. Entomol. 32: 237-246.

Wraight C.L., A.R. Zangerl, M.J. Carroll, M.R. Berenbaum (2000): Absence of toxicity of *Bacillus thuringiensis* pollen to black swallowtails under field conditions. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 97: 7700-7703.

Zangerl A.R., D. McKenna, C.L. Wraight, M. Carroll, P. Ficarello, R. Warner, M.R. Berenbaum (2001): Effects of exposure to event 176 *Bacillus thuringiensis* corn pollen on monarch and black swallowtail caterpillars under field conditions. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 98: 11908-11912.

Zscheischler, J., M.C. Estler, W. Staudacher, F. Groß, G. Burgstaller, H. Streyl, T. Rechenmann (1990): Handbuch Mais: umweltgerechter Anbau; wirtschaftliche Bewertung. München, DLG-Verlag.

3.2 Nematoden

3.2.1 Aufgabenstellung

Nematoden sind in fast allen Böden in hoher Individuendichte und Artenzahl vorhanden. Neben den pflanzenparasitären Fadenwürmern, die weltweit an vielen Kulturarten beträchtliche wirtschaftliche Schäden verursachen, spielen andere Ernährungsgruppen, insbesondere bakteriophage und mykophag Nematoden für die metabolische Aktivität des Bodens und damit für die Bodenfruchtbarkeit eine nicht unbedeutende Rolle. Deshalb bestand die Aufgabe darin, einerseits mögliche Effekte von Bt-Mais auf endoparasitäre Wurzelnematoden der Gattung *Pratylenchus* zu untersuchen und andererseits festzustellen, ob der Anbau von Bt-Mais quantitative und/oder qualitative Veränderungen bei den so genannten saprophagen Nematoden verursacht. Während eine Beeinträchtigung von Schadenematoden aus Sicht des Pflanzen- als auch Umweltschutzes sogar wünschenswert bzw. tolerierbar wäre, sollten die nicht pflanzenparasitären Nematoden im Zusammenwirken mit der Mikroorganismengemeinschaft des Boden möglichst unbeeinflusst bleiben.

3.2.2 Umfassende Dokumentation und Auswertung der verwendeten Literatur

Die zur speziellen Aufgabenstellung verfügbare Literatur ist vergleichsweise überschaubar, da Nematoden als Nichtziel-Organismen von Bt-Mais in der Forschung bislang wenig Interesse gefunden haben. Nur zwei jüngste Veröffentlichungen (Saxena & Stotzky 2001, Manachini et al. 2002) befassen sich direkt mit den möglichen Auswirkungen von Bt-Mais auf die Nematodenfauna. Unter 3.2.5 und 3.3.7 wird auf diese beiden Arbeiten noch näher eingegangen. Das relativ geringe Interesse an Interaktionen zwischen Pflanzen mit Bt-Genen und Nematoden ist nicht ganz verständlich, zumal in mehreren früheren Veröffentlichungen über Wirkungen von *Bacillus thuringiensis* auf Nematoden berichtet wird (Osman et al. 1988, Meadows et al. 1990, Zuckerman et al. 1993, Borgonie et al. 1996) und ein spezieller Stamm mit nematiziden Eigenschaften bereits vor 10 Jahren patentrechtlich geschützt wurde. Gentechnisch veränderte Pflanzen mit Nematodenresistenz auf der Basis von Bt-Genen sind deshalb denkbar und könnten dazu beitragen, weltweit vorhandene Bekämpfungsprobleme zu lösen (Urwin et al. 1998, Jung 1998, Vrain 1999, Atkinson et al. 2003).

Im vorliegenden Projekt wurden Bt-Maissorten verwendet, die ausschließlich das Endotoxin Cry1Ab exprimieren. Dieses ist nicht mit den Protoxinen der seit Jahrzehnten eingesetzten *B. thuringiensis* Präparate identisch, weshalb grundsätzlich nicht von einer vergleichbaren Spezifität bzw. Toxizität ausgegangen werden kann. Bemerkenswert hinsichtlich der Wirksamkeit von Bt-Crystal-Proteinen auf Nematoden sind unter diesem Aspekt neueste Untersuchungen, bei denen sich sechs phylogenetisch unterschiedliche Nematoden gegenüber vier von sieben getesteten Toxinen als empfindlich erwiesen (Wei et al. 2003). Da nur fünf Bakterien fressende und eine tierparasitäre Nematodenart verwendet und Cry1Ab selbst nicht getestet wurde, lässt diese Studie keine Aussage zur nematiziden Wirkung der geprüften Bt-Mais Sorten auf pflanzenparasitäre Arten zu. Interessant ist, dass bei den untersuchten Nematoden vergleichbare morphologische Effekte durch die Crystal-Proteine gefunden wurden, wie sie von Insekten bekannt sind (Marroquin et al. 2000, Huffman et al. 2004). Dies setzt eine Aufnahme von *B. thuringiensis* bzw. von Crystal-Proteinen über die Nahrung voraus. Bei Phytonematoden ist das wegen des sehr kleinen Mundstacheldurchmessers von nur 0.2 μm jedoch unwahrscheinlich. Unklar ist deshalb, wie in einem Versuch mit kommerziellen Bt-Präparaten zur Nematodenbekämpfung an Tomaten Wirkungsgrade erzielt wurden, die mit einem Nematizid vergleichbar waren (Osman et al. 1988). Vermutlich werden bei der Sporulation von *B. thu-*

ringiensis neben mehreren Endotoxinen weitere Metaboliten gebildet, über deren Wirkungsmechanismus auf Nematoden nur wenig bekannt ist. Beispielsweise wird über einen verringerten Schlupf (Devidas & Rehberger 1992) oder über ovizide Eigenschaften (Bottjer & Bone 1987) berichtet. Bei einer längeren Persistenz bzw. einer möglichen Anreicherung von Bt-Toxinen im Boden (Tapp & Stotzky 1998), die über Erntereste und Wurzel-exudate dorthin gelangen (Saxena et al. 1999), ist ein Gefährdungspotential für die Nematodenfauna deshalb grundsätzlich nicht auszuschließen.

Verschiedene Untersuchungen haben gezeigt, dass anthropogene Einflüsse zu Verschiebungen zwischen den Ernährungsgruppen von Nematoden führen können (Freckman 1993, Ruess 1993, Leliveldt & Sturhan 1994) und aus dem Verhältnis von Pilz- und Bakterienfressern Rückschlüsse auf den Dekompositionspfad im Boden möglich sind (Freckmann 1988, Ingham 1985). Bei pflanzenparasitären Nematoden ist die Abhängigkeit von Bewirtschaftungsmaßnahmen schon seit langem bekannt und wegen spezieller Wirtspflanzenansprüche gelten einige Arten als typische Fruchtfolgeschädlinge. Für ökotoxikologische Untersuchungen, insbesondere zur Bioindikation im Boden, hat dagegen das Interesse an nicht pflanzenparasitären Nematoden in den letzten Jahren stark zugenommen (Bongers et al. 1990, Freckmann & Ettema 1993, Sturhan 1996, Eckschmitt & Bongers 2000). Zu diesem Zweck wurden auch spezielle Biotestverfahren mit Nematoden entwickelt, um Auswirkungen von Bodenbelastungen durch Schadstoffe, z.B. Schwermetalle oder durch Pflanzenschutzmittel nachzuweisen (Donking 1994, Höss 2001, Wilms 1992). Auf die Eignung eines life-cycle-tests mit *Caenorhabditis elegans* für ein Monitoring der Bioverfügbarkeit von Bt-Toxinen im Boden wird unter 3.2.6 und 3.2.8 noch näher eingegangen.

Für die Untersuchungsmethoden und Auswertungsverfahren wurde die in der Nematologie allgemein bekannte Literatur herangezogen (Goodey 1963, Seinhorst 1988, Maaßen 1977, Yeats 1993). Der *C. elegans* Test erfolgte nach einem Laborprotokoll von Ecosa. Die quantitativen und qualitativen Analysen von Cry1Ab in Bt-Maisproben wurden mittels ELISA (Fearing et al. 1997) nach den Firmenvorgaben für den Diagnostic-Kit durchgeführt.

Da in der Literatur über unterschiedliche Ligningehalte zwischen transgenem Mais (Bt+) und den isogenen Linien (Bt-) berichtet wird (Saxena & Stotzky 2002), und darin eine Ursache für eine veränderte Wirt-Parasit-Beziehung herbivorer Nematoden und ein anderes Abbauverhalten der Maisrückstände im Boden liegen könnte (Flores et al. 2000, Escher et al. 2000), wurden diesbezüglich einige eigene Laboruntersuchungen durchgeführt. Gerade die stoffliche Äquivalenz, die grundsätzlich zwischen isogenen und transgenen Pflanzen unterstellt wird, ist in verschiedener Hinsicht zu überdenken (Scheukelaars 2002). Literaturhinweise über eine höhere Anfälligkeit von Bt-Baumwolle gegenüber Wurzelgallennematoden (Colyer et al. 2000) oder den völligen Verlust der Nematodenresistenz bei Bt-Kartoffeln (Brodie 2003) sind Hinweise darauf, dass durch die Übertragung eines Gens unerwartete Ereignisse eintreten können. Deshalb sollte ein Monitoring neben ökologisch relevanten Nichtziel-Organismen auch direkte Schaderreger nicht außer Acht lassen.

3.2.3 Voraussetzungen, unter denen die Arbeiten durchgeführt wurden

Die nematologischen Untersuchungen von Boden- und Wurzelproben wurden auf den Flächen des Mais-Daueranbaus durchgeführt. Dazu wurden jährlich vor der Saat und nach der Ernte von jeder der acht Parzellen zwei Bodenmischproben gezogen. Wegen der bekannten inhomogenen Nematodenverteilung innerhalb einer Fläche beschränkte sich die Bodenentnahme auf kleine, durch Magnete fixierte Entnahmestellen ($4 \times 5 = 20 \text{ m}^2$). Durch jeweils 20 Einstiche bis 20 cm Bodentiefe wurden mit einem Probenstecher etwa vier Li-

ter Erde entnommen. Bis zur Laboruntersuchung erfolgte die Probenlagerung bei 5 °C in Plastiktüten. Darüber hinaus wurden zur Feststellung des Wurzelbesatzes durch *Pratylenchus* spp. von zwei Standorten zu verschiedenen Terminen je Maissorte die Wurzeln von 20 Pflanzen entnommen (Tab.1). Die Isolierung der Nematoden aus den Bodenproben erfolgte nach dem Baermann-Trichter-Verfahren aus jeweils zwei mal 100 ml Erde je Mischprobe. Für die Extraktion aus den Maiswurzeln stand eine Sprühnebelanlage zur Verfügung, in der bis max. 20 Gramm Wurzelfrischgewicht je Pflanze bearbeitet wurden. Wegen des großen Probenumfangs und einer Extraktionsdauer von 4 bzw. 12 Tagen bei den Boden - bzw. Pflanzenproben, war eine zeitgleiche Untersuchung aller Proben nicht möglich. Auch eine durchgängige Beprobung aller fünf Versuchsstandorte zu allen vorgesehenen Terminen konnte nicht eingehalten werden. Insbesondere im sehr nassen Herbst 2002 waren diese Arbeiten nicht ordnungsgemäß durchführbar.

Durch die teilweise sehr unterschiedliche Bodentextur der Standorte (z.B. Baumannshof 6% Ton, 7% Schluff und 87% Sand gegenüber Schwarzenau 26% Ton, 57% Schluff und 17% Sand) ist allein aufgrund dieser Voraussetzungen erfahrungsgemäß mit großen Unterschieden in der Diversität und Abundanz der Nematodenfauna zu rechnen. Da Bodenparameter wie Ton- und Humusgehalt auch die Persistenz bzw. Bioverfügbarkeit von Bt-Toxinen beeinflussen (Koskella & Stotzky 1997, Crechio & Stotzky 1998), erfüllten die stationären Dauermais-Versuche beste Voraussetzungen, um ohne störende Einflüsse wechselnder Fruchtarten, wie sie auf den BDF-Flächen vorlagen, mögliche Effekte nachzuweisen.

Nachdem die sehr aufwändigen Untersuchungen zur Diversität und Dominanzstruktur der Nematodenfauna an der LfL selbst nicht möglich waren, wurde diese Arbeit im Rahmen eines Werkvertrages an Frau Dr. Ruess übertragen, die sich durch mehrere Publikationen auf diesem Gebiet als Expertin ausgewiesen hat (Ruess 1993). Zur Bestimmung der Nematoden auf Gattungsebene wurden fixierte Nematodensuspensionen aus Bodenproben der Standorte Baumannshof und Schwarzenau vom Frühjahr 2001 und vom Baumannshof und Neuhof vom Frühjahr 2002 herangezogen.

Durch einen weiteren Werkvertrag mit Herrn Dr. Höss (EcoSsa) wurden Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit von Bt-Toxinen in ausgewählten Bodenproben vergeben, die mit dem Bakterien fressenden Nematoden *Caenorhabditis elegans* durchgeführt wurden. Dieser Biotest, der für den Nachweis insbesondere von Schwermetallen in Sediment- und Bodenproben entwickelt wurde (Donking 1994, Traunspurger et al.1997), befindet sich zurzeit im Anerkennungsverfahren nach DIN/ISO. Auch an der LfL kam der Test zum Einsatz. Zur Abschätzung von Dosis-Wirkungs-Beziehungen wurde von einigen Bodenproben parallel zum Biotest der Toxingehalt durch ELISA ermittelt. Diese Untersuchungen übernahm dankenswerterweise eine Arbeitsgruppe der FAL Braunschweig, die sich in einem BMBF-Forschungsprojekt mit dem Abbau von Bt-Mais in Böden und Auswirkungen auf die Mikroorganismen befasst (Baumgarte & Tebbe 2003).

Für die eigenen Laboruntersuchungen zum Ligningehalt von Mais standen keine chemischen Analysemethoden nach Hatfield et al. (1999) zur Verfügung. Ersatzweise wurden deshalb histologische Untersuchungen von Stängel- und Wurzelquerschnitten mit verschiedenen Färbetechniken durchgeführt. Außerdem hat die Arbeitsgruppe „Rohstoffqualität pflanzlicher Produkte“ an der LfL versuchsweise die NIR-Spektroskopie eingesetzt, um Unterschiede im Ligningehalt zwischen Bt+ und Bt- zu überprüfen.

3.2.4 Planung und Ablauf der Arbeiten

Die alljährlich vorgesehenen Bodenprobenahmen jeweils vor der Saat und nach der Einarbeitung des Körnermaisstrohs waren, wie bereits erwähnt, nicht für alle fünf Standorte

realisierbar. Im Frühjahr reichte die Laborkapazität für die Bearbeitung aller 80 Proben nicht immer aus und die Herbstprobeziehung war teilweise wegen sehr ungünstiger Boden- bzw. Witterungsverhältnisse und nicht rechtzeitiger Bodenbearbeitung nicht möglich. Auch für die Untersuchung von Maiswurzelproben auf ihren aktuellen Besatz mit *Pratylenchus* spp. war es aus methodischen Gründen erforderlich, insbesondere wegen der hohen Anzahl notwendiger Wiederholungen (80 Einzelproben je Standort), sich auf ausgewählte Standorte zu beschränken. Tab. 1 im Anhang zeigt den Probenumfang für die jeweils durchgeführten Untersuchungen.

3.2.5 Zusammenstellung der Gesamtproblematik und bisher bekannt gewordener Ergebnisse auf dem Gebiet der Aufgabenstellung

Phytonematoden

Bei einigen Kulturarten, z.B. bei Kartoffeln oder Zuckerrüben, ist es der konventionellen Züchtung gelungen, gegen bestimmte Nematodenarten resistente Sorten zu entwickeln. Eine Sorte gilt dann als nematodenresistent, wenn eine Vermehrung der jeweiligen Nematodenart nicht möglich ist bzw. weitgehend unterdrückt wird. Auch bei Mais oder Weizen wurden Sortenunterschiede in der Anfälligkeit z.B. gegenüber Stängelälchen *Ditylenchus dipsaci* (Knuth 2001) oder Wurzelläsionsnematoden *Pratylenchus thornei* nachgewiesen. Unterschiede in der Wirtspflanzenqualität zwischen Bt+ und Bt- Maissorten gegenüber Phytonematoden sind bisher nicht publiziert, obwohl von anderen transgenen Bt-Pflanzenarten entsprechende Beobachtungen vorliegen (Colyer et al. 2000, Brody 2003). Um diese Fragestellung im Rahmen des Monitorings zu klären, wurde ein in der Nematodenresistenzprüfung übliches Verfahren angewandt, indem die Populationsdichten der Nematoden vor und nach dem Anbau der jeweiligen Sorte verglichen werden. Da Sorten sehr spezifisch auf eine bestimmte Nematodenart reagieren können und auf einigen Versuchsstandorten Mischpopulationen von *Pratylenchus penetrans*, *P. neglectus* und *P. crenatus* vorlagen, die jedoch zahlenmäßig nicht getrennt erfasst wurden, ist eine Ergebnisbewertung allerdings nur eingeschränkt möglich.

Saprophage Nematoden

Einflüsse von Bt+ und Bt- auf die gesamte Nematodenfauna bzw. bestimmte Ernährungsgruppen nachzuweisen, war Gegenstand von Gefäßversuchen von Saxena & Stotzky (2001) und von Freilanduntersuchungen von Manachini & Lozzia (2002). Die Ergebnisse beider Veröffentlichungen beruhen auf einem kurzen Versuchszeitraum und erfassen somit keine denkbaren Langzeitwirkungen. Die Gefäßversuche dauerten lediglich 40 Tage. Dabei wurde Felderde eines Standortes (58% Sand, 41% Schluff, 1% Ton) verwendet und in Töpfen mit fünffacher Wiederholung Bt-Mais (NK4640Bt) und die isogene Linie kultiviert bzw. zerkleinertes Material der jeweiligen Maispflanzen als Biomasse eingearbeitet. Die Nematodenextraktion aus den Bodenproben erfolgte vergleichbar mit der hier angewandten Methode. Weder bei den Nematoden noch bei den anderen untersuchten Organismen ergaben sich signifikante Unterschiede zur Kontrolle. Allerdings wurden mögliche Veränderungen in der Zusammensetzung und Diversität dieser Gruppen nicht erfasst. Eine tendenziell geringere Anzahl von Bakterien (-20%) bei Bt+ könnte beispielsweise zu einer Abnahme bakteriophager Nematoden geführt haben, bei gleichzeitiger Zunahme anderer Ernährungsgruppen. Die Felduntersuchungen aus Italien (Manachini 2002), mit einer Differenzierung nach Nematodengattungen bzw. Ernährungsgruppen, sind deshalb wesentlich aussagekräftiger. Interessant ist, dass bei diesen Vergleichsuntersuchungen im Mittel von acht Standorten nach Bt+ bakteriophage Nematoden eine geringere und mykophage Nematoden eine höhere Abundanz aufwiesen, die allerdings statistisch nicht gesichert war. Als Erklärung wäre neben einem reduzierten Nahrungsangebot (siehe oben)

auch ein direkter Effekt von Cry1Ab denkbar. Eine Dominanz der Bakterienfresser mit der Tendenz zu niedrigeren Werten bei Bt+ wurde auch im vorliegenden Monitoring gefunden (siehe unter 3.2.8), ebenso eine Zunahme der Pilzfresser. Da dies nur auf Bt176, aber nicht auf MON810 zutrifft, wird die Gesamtproblematik eines Monitorings deutlich, wenn sich Maissorten hinsichtlich Qualität und Quantität der Bt-Toxine unterscheiden. Die Untersuchungen aus Italien beziehen sich ausschließlich auf Bt176. Im Gegensatz zu MON810 bildet diese Sorte kein Toxin in den Wurzeln, dafür aber im Pollen (eigene Untersuchungen, Jehle & Nguyen 2003). Keine Auswirkungen zeigten die Untersuchungen von Manachini (2002) hinsichtlich des Nematodenspektrums mit jeweils 37 Gattungen bei beiden Maisvarianten.

Nematodenbestimmungen auf Gattungsebene sind besonders aufwändig. Außerdem weisen Befallsdichtebestimmungen erfahrungsgemäß hohe Varianzen auf, weshalb für statistische Absicherungen der Untersuchungsaufwand unverhältnismäßig hoch wird. Vorteilhaft wäre deshalb ein standardisierbarer Biotest mit entsprechend sensitiven Nematoden, um die Bioverfügbarkeit von Bt-Toxinen in Feldproben nachzuweisen. Die für Schadstoffbelastungen in Böden häufig benutzten Tests, z.B. mit Regenwürmern (*Eisenia fetida*) oder Collembolen, sind für Cry1Ab offensichtlich nicht geeignet bzw. zu wenig empfindlich (Zwahlen et al. 2003), weshalb bislang Insekten-Bioassays z.B. mit Larven des Tabakschwärmers *Manduca sexta* angewandt werden. Nach Vorlage von mit Bodensuspensionen kontaminiertem Futter wird die Mortalität nach drei bzw. sieben Tagen bestimmt (Sims & Holden 1996). Mit *C. elegans*, dessen Lebenszyklus nur etwa 72 Stunden dauert, ließe sich die Testdauer erheblich verkürzen. Außerdem ist dieser Nematode leicht zu kultivieren und Boden stellt sein natürliches Habitat dar. Damit erfüllt er wichtige Voraussetzungen für ein Testsystem, mit dem ökologische Risiken durch Bt-Toxine im Boden nachgewiesen werden sollen (Jepson et al. 1994). Auf die Ergebnisse von ECOSSA und eigene Erfahrungen mit dem *C. elegans* Test wird unter 3.2.8 weiter eingegangen.

3.2.6 Angewandte wissenschaftliche und technische Methoden

Auf die angewandten Untersuchungsverfahren wurde weitgehend bereits unter 3.2.3 eingegangen. Für die mikroskopische Auswertung der aus den Maiswurzeln extrahierten Nematoden wurde neben der visuellen Zählung auch ein automatisches Bildanalyse-System (Leica Qwin) eingesetzt. Wegen der Verschmutzung der Nematodensuspensionen einzelner Proben durch restliche Erd- und Feinwurzelanteile erwies sich die arbeitssparende Bildanalyse leider nur bedingt geeignet. Durch Optimierung der Probenvorbereitung könnte das System für diesen Zweck aber gut genutzt werden. Auch für den Test mit *C. elegans*, bei dem u.a. der Längenzuwachs der Nematoden als subletaler Parameter gemessen wird, kam die Bildanalyse versuchsweise zur Anwendung.

Für die statistische Datenanalyse wurden bei *Pratylenchus* spp. und den saprophagen Nematoden die pi - und pf- Werte (pi = population density initial, pf = population density final) getrennt nach Standorten berechnet. Je Maisvariante standen dafür acht Einzelwerte (vier Mischproben mit jeweils zwei Extraktionen) zur Verfügung. Der Mittelwertvergleich erfolgte durch ANOVA mittels T-Test und Newman-Keuls-Test. Eine Mittelwertbildung über die Parzellen mit und ohne chemischer Zünslerbekämpfung erschien möglich, da ein Einfluss des Insektizids (Baythroid) auf die Nematoden erwartungsgemäß nicht nachzuweisen war. Analog wurde mit den Werten des Wurzelbesatzes verfahren. Für die Auswertung zur Dominanzstruktur der Nematoden wurde der U-Test von Wilcoxon, Mann und Whitney verwendet, der zum Vergleich zweier unabhängiger Stichproben bei nicht normal verteilten Werten dient.

3.2.7 Während der Durchführung des Forschungsvorhabens bekannt gewordene Fortschritte auf diesem Gebiet bei anderen Stellen

Für die spezielle Fragestellung, inwieweit Bt-Mais die Nematodenfauna beeinflusst, wurden keine neueren Ergebnisse bekannt, soweit sie nicht bereits in den vorausgegangenen Abschnitten erwähnt sind. Allerdings wurde erstmals auch transgener Raps, der Cry1Ac exprimiert, hinsichtlich der Auswirkungen auf die trophische Struktur der Nematodenfauna untersucht (Manachini et al. 2003). Bei diesen Untersuchungen war gegenüber der konventionellen Sorte ein signifikant höherer Anteil mykophager und ein niedrigerer Anteil phytophager Nematoden nachzuweisen. Außerdem gibt es einige Hinweise auf antibakterielle Wirkungen von Bt-Toxinen (Escher et al. 2000, Zalunin et al. 2003), wodurch eine indirekte Nematodenwirkung denkbar ist. Mehrjährige Toxinanalysen aus Bt-Maisfeldern bestärken zudem die Vermutung einer möglichen Akkumulation von Cry1Ab (Hopkins & Gregorich 2003), weshalb geeignete Biotests für eine Bewertung der Bioverfügbarkeit an Bedeutung gewinnen.

3.2.8 Darstellung und Bewertung der Ergebnisse

Phytonematoden

Die Populationsdichte von *Pratylenchus* spp. stieg im Verlauf des viermaligen Maisanbaus auf allen Standorten im Mittel aller Sorten erwartungsgemäß mehr oder weniger deutlich an (Abb. 1), da Mais eine gute Wirtspflanze ist (Knuth 2000). Das unterschiedliche Ausgangsniveau und die Entwicklung der Nematoden auf den fünf Standorten sind auf die verschiedenen Vorfrüchte zu Versuchsbeginn und auf die Bodenunterschiede zurückzuführen, da *Pratylenchus* spp. leichtere Böden bevorzugen. Hinsichtlich der Wirtspflanzenqualität für *Pratylenchus* spp. zeigte nur der Standort Baumannshof bei Nobilis/Novelis-Bt im Vergleich zu Antares/Navares-Bt in zwei Jahren (2002 und 2003) eine geringere Nematodenvermehrung (Abb. 2), die auch in entsprechend niedrigeren Werten des Wurzelbesatzes erkennbar war (Abb. 5). Solche unterschiedlichen Reaktionen von Maissorten sind z.B. gegenüber Stängelälchenbefall (*Ditylenchus dipsaci*) bekannt (Knuth 2001), und könnten u.U. mit der unterschiedlichen Reifezeit dieser Sorten, aber auch mit der Inhomogenität der Versuchsfläche zusammenhängen. Gemessen an den Abundanzen von *Pratylenchus* spp. über alle Probenahmezeitpunkte ergaben sich sonst an keinem Standort signifikante Unterschiede zwischen den Sorten (Abb. 3). Effekte durch Bt-Toxine waren somit weder bei MON-810 noch bei Bt-176 nachweisbar. Allerdings wies Novelis-Bt wiederholt bei Herbstbodenproben auffallend niedrige Befallswerte auf (Abb. 4), deren Ursache in einem höheren Ligningehalt dieser Sorte vermutet wird (Saxena & Stotzky 2002). Infolge eines langsameren Abbaus der Pflanzen- bzw. Wurzelreste ist mit einer verzögerten Auswanderung der Nematoden zu rechnen. Außerdem kann bei einem Ligningehalt von 6.2% gegenüber 3.7%, wie er bei MON-810 Hybriden im Vergleich zu isogenen Linien gefunden wurde, ein verändertes Wirt-Parasit-Verhalten bei Herbivoren nicht ausgeschlossen werden. In den eigenen histologischen Untersuchungen zum Ligningehalt an Stängel- und Wurzelquerschnitten waren Strukturunterschiede erkennbar, die aber nicht quantifiziert werden konnten. Mit Hilfe der Nahinfrarot-Spektroskopie, die u.a. für Untersuchungen von Pflanzeninhaltsstoffen oder der Zusammensetzung der organischen Substanz in Bodenproben geeignet ist (Schulz 2002, Couteaux et al. 2003), wurden Unterschiede im Ligningehalt zwischen Stängel und Wurzel, nicht jedoch zwischen den Sorten gefunden. Im Gegensatz zur Untersuchung von Saxena & Stotzky (2002) wird in der Literatur aber auch über niedrigere Ligningehalte von Bt-Mais und einem schnelleren Abbau berichtet (Escher et al. 2000). Untersuchungen zur stofflichen Äquivalenz von transgenen und isogenen Sorten sind deshalb von besonderer Bedeutung.

Erste Hinweise auf unterschiedliche Reaktionen von Bt-Mais gegenüber *Pratylenchus* spp. ergaben sich bereits 1998. In Sortenversuchen der LBP lagen - ohne nennenswerten Maiszünslerbefall - die Silomaiserträge bezogen auf 80% TS von Navares-Bt und Pactol-Bt, einer weiteren Bt-Maissorte, bei relativ 109 bzw. 107 gegenüber den konventionellen Vergleichssorten. Eine stärkere Wüchsigkeit dieser Bt-Sorten ließ sich in Gefäßversuchen im Gewächshaus mit *Pratylenchus* spp. verseuchter Erde nachvollziehen. Die Frage nach einer geringeren Nematodenanfälligkeit bzw. einer besseren Nematodentoleranz von Bt-Mais war deshalb naheliegend und wurde schon vor dem Monitoringprojekt durch eigene Untersuchungen aufgegriffen (Arndt 2000), zumal aus älteren Nematizidversuchen die Schadwirkung von *Pratylenchus* spp. an Mais belegt ist (Küthe & Rössner 1978). Leider war im Rahmen des Monitorings keine Ertragsermittlung möglich, weshalb Toleranzunterschiede, wie sie auch im konventionellen Sortenspektrum vorhanden sind, nicht überprüft werden konnten.

Saprophage Nematoden

Die Individuendichte saprophager Nematoden hängt hauptsächlich von den Bodenverhältnissen zum Probenahmezeitpunkt ab. Außerdem bewirkt die Zufuhr organischen Materials, z.B. durch Einarbeitung von Ernterückständen oder Güllegaben, kurzfristig einen starken Populationsanstieg. Bedingt durch die großen Mengen an Körnermaisstroh, die jährlich auf den Dauermaisversuchen anfielen, stieg - mit Ausnahme des Standortes Baumannshof - die Individuendichte über alle Maisvarianten mehr oder weniger stark an (Abb. 6). Für die gegensätzliche Entwicklung am Baumannshof, dem Standort mit dem niedrigsten mikrobiellen Biomassegehalt, war möglicherweise ein zu früher Probenahmezeitpunkt im Frühjahr 2003 verantwortlich. Differenziert nach den einzelnen Sorten, ergaben sich an keinem Standort Effekte von Bt-Mais, wie das Beispiel Neuhof zeigt (Abb. 7). Dies traf auch für die Untersuchungen zur Diversität der Nematoden zu, da die Anzahl der nachgewiesenen Gattungen in den verschiedenen Ernährungsgruppen zwischen Bt+ und Bt- sich nur geringfügig unterschied (Tab. 2). Hinsichtlich der Dominanzstruktur war in den Frühjahrsproben 2002 bei Bt176 zwar ein Anstieg der Pilzfresser und ein Rückgang der Bakterienfresser zu beobachten (Tab. 3), vergleichbar mit den Vorjahresdaten und Ergebnissen aus Italien (Manachini 2002), der aber statistisch nicht zu sichern ist. Für zukünftige anbaubegleitende Monitoringerhebungen sind diese Untersuchungen zu aufwändig, wenn signifikante Effekte nachgewiesen werden sollen.

Biotest mit *Caenorhabditis elegans*

Der Biotest, mit dem Effekte von Bt-Toxinen auf subletale Parameter (Wachstum, Eizahl, Reproduktionsleistung) von *C. elegans* überprüft wurden, erfolgte mit Wurzelanhangserde aus den Maisparzellen vom Baumannshof und Neuhof in 2002. Weitere Tests mit Bodenproben und Rhizosphärenerde aus 2003 wurden z.T. parallel von der Arbeitsgruppe der LfL und Ecosa durchgeführt. Die Ergebnisse von 2002 zeigten bei den Parametern Körperlänge, Eizahl, und Reproduktionsrate teilweise signifikante Unterschiede zwischen Bt+ und Bt- und auch deutliche Standorteinflüsse (Abb. 8). Da auch zwei Teilproben einer nicht Bt-Mais-Parzelle signifikante Unterschiede aufwiesen, könnte dafür u.U. ein Randeffekt infolge ungenauer Maisstroheinarbeitung verantwortlich sein. Auch bei Bt-Toxinanalysen von Bodenproben wurden in angrenzenden Kontrollparzellen vereinzelt positive Werte gefunden, die vermutlich durch den Eintrag von Bt-Maispollen bedingt waren (Baumgarte 2003).

Bei den Proben aus 2003, die ausschließlich vom Baumannshof stammten, zeigte der Nematodentest sowohl mit freier Erde vor dem Maisanbau (Abb. 9) als auch mit Wurzelanhangserde Effekte durch Bt-Mais, insbesondere bei Novelis-Bt. Einige Bestimmungen der

Toxingehalte im Boden, die dankenswerter Weise von der FAL-Braunschweig mittels ELISA gemacht wurden, stützen die Hinweise auf eine mögliche Sensitivität von *C. elegans* gegenüber Cry1Ab. In Vergleichsproben von Wurzelanhangserde mit deutlichen Effekten auf Wachstum und Reproduktionsrate wurden über 0.5 ng Cry1Ab je g Boden nachgewiesen (Höss et al. 2004). Zur weiteren Überprüfung und Validierung des Nematodentests zum Nachweis der Bioverfügbarkeit von Bt-Toxinen wurde diese Methode in ein neues BMBF-Verbundprojekt ab 2005 aufgenommen.

3.2.9 Zusammenfassung

Insektizide auf der Basis von *B. thuringiensis* sind seit Jahrzehnten in der Landwirtschaft zugelassen und dürfen auch im Ökoanbau eingesetzt werden. Die kommerziellen Präparate zeichnen sich je nach Bt-Stamm durch eine hohe Spezifität z.B. gegenüber Schmetterlingen oder Käfern aus und gelten als besonders umweltverträglich (Krieg 1983). Bt-Mais, dem ein Gen aus *B. thuringiensis* übertragen wurde, exprimiert ein Toxin, mit dem sich die Pflanze selbst vor Maiszünslerbefall schützt, welches jedoch hinsichtlich Qualität und Quantität nicht mit einem herkömmlichen Bt-Spritzmittel vergleichbar ist. Das Spektrum von Nichtzielorganismen, das durch Bt-Maisanbau betroffen sein kann, wird als wesentlich größer eingeschätzt, weil u.a. mehr Toxine über Erntereste auch in den Boden gelangen und die Wirksamkeit nicht von speziellen Rezeptoren der Zielorganismen abhängt.

Nematoden gehören in Böden zur arten- und individuenreichsten Tiergruppe der Metazoen. Mit unterschiedlichen Ernährungstypen (Pilzfresser, Bakterienfresser, Pflanzenparasiten) sind sie im Ökosystem Boden am Stoffumsatz beteiligt und finden verstärktes Interesse zur biologischen Bodenbewertung. Über Effekte von *B. thuringiensis* auf Nematoden gibt es mehrere Literaturhinweise, die allerdings keine Rückschlüsse auf eine nematizide Wirkung transgener Bt-Pflanzen erlauben. Die im Rahmen des Monitorings untersuchten Bodenproben zeigten bei den pflanzenparasitären Nematoden der Gattung *Pratylenchus* keine signifikanten Unterschiede zwischen den Parzellen mit Bt+ bzw. Bt-, abgesehen von einer etwas höheren Vermehrungsrate bei Antares/NavaresBt gegenüber Nobilis/NovelisBt an nur einem von fünf Standorten. Bei den myko- und bakteriophagen Nematoden waren ebenfalls keine Einflüsse von Bt-Mais nachweisbar. Eine geringe Zunahme der Pilzfresser zu Lasten der Bakterienfresser bei Bt176 deckt sich mit Ergebnissen einjähriger Feldversuche aus Italien. Da durch einen Biotest mit dem bakteriophagen Nematoden *Caenorhabditis elegans* bei Bt-Mais geringere Reproduktionsleistungen nachweisbar waren, könnte dies ein Indiz für eine direkte toxische Wirkung von Cry1Ab sein. Wegen nur weniger Vergleichswerte von Toxingehalten in den Bodenproben, die parallel mittels ELISA gemessen wurden, kann über die Sensitivität dieses Nematodentests keine abschließende Aussage gemacht werden. In einem nachfolgenden Projekt soll dieser Test, der für ökotoxikologische Untersuchungen bereits standardisiert ist, für ein Bt-Mais-Monitoring mit weiteren Cry-Toxinen validiert werden.

3.2.10 Anhang mit Tabellen, Abbildungen, Literaturverzeichnis

Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

- Tab. 1: Übersicht über die Probenahmen und die durchgeführten Untersuchungen
- Tab. 2: Anzahl Nematoden-Gattungen nach Ernährungsgruppen in Proben zweier Standorte vom Frühjahr 2002
- Tab. 3: Anteil der Nematoden nach Ernährungsgruppen in Proben von Antares und Navares-Bt vom Standort Baumannshof 2002
- Abb. 1: Ausgangs- und Endbefall mit *Pratylenchus* spp. nach viermaligem Maisanbau über alle Sorten auf den fünf Versuchsstandorten
- Abb. 2: Populationsdynamik von *Pratylenchus* spp. bei den Maissorten am Standort Baumannshof
- Abb. 3: Abundanzen von *Pratylenchus* spp. an den Standorten über alle Beprobungstermine nach Sorten
- Abb. 4: Populationsdynamik von *Pratylenchus* spp. zwischen Frühjahrs- und Herbstproben
- Abb. 5: Besatz der Maiswurzeln durch *Pratylenchus* spp. am Standort Baumannshof
- Abb. 6: Veränderung der Anzahl saprophager Nematoden an den fünf Versuchsstandorten im Mittel aller Sorten
- Abb. 7: Populationsveränderung saprophager Nematoden nach Sorten am Standort Neuhof
- Abb. 8: Körperlänge von *C. elegans* nach 96 stündiger Exposition in Wurzelanhangserde 2002 vom Standort Baumannshof und Neuhof
- Abb. 9: Körperlänge von *C. elegans* mit Proben vom Baumannshof 2003
- Abb.10: Eizahl von *C. elegans* mit Proben vom Baumannshof 2003
- Abb.11: Reproduktionsrate von *C. elegans* mit Proben vom Baumannshof 2003

Tab. 1: Übersicht über die Probenahmen und durchgeführten Untersuchungen

Standort	F ¹⁾ 2000	H 2000	F 2001	H 2001	F 2002	H 2002	F 2003	H 2003
Bodenproben ²⁾								
Baumannshof	x	x	x	x	x	keine	x	x
Neuhof	x	x	x	x	x	Probe-	x	x
Schwarzenau	x		x	x	x	nahme	x	x
Grub	x				x	möglich	x	x
Puch	x				x		x	x
Wurzelproben ³⁾	2000	2000	2001	2001	2002	2002	2003	2003
Baumannshof	Aug.	Sept.	Juli	Aug.	Juli	Sept.	Juni	Sept.
Neuhof		Okt.			Juni			

¹⁾ F=Frühjahr, H=Herbst jeweils vor Maisanbau bzw. nach der Ernte; ²⁾ Untersuchung auf *Pratylenchus* spp. und saprophage Nematoden; **x**=zusätzlich Gattungsbestimmung und/oder Biotest mit *C. elegans*; ³⁾ fett=zusätzlich Wurzelanhangserde für *C. elegans* Test

Tab. 2: Anzahl der Nematoden-Gattungen nach Ernährungsgruppen in Proben von 2002

	NEUHOF				BAUMANNSHOF			
	Antares	Navares-Bt	Nobilis	Novelis-Bt	Antares	Navares-Bt	Nobilis	Novelis-Bt
Bakterienfresser	9	9	12	10	15	14	15	14
Pilzfresser	2	2	3	3	3	3	3	3
Pflanzenfresser	3	3	4	3	2	3	2	2
Obligate Pflanzenparasiten	2	2	4	5	1	1	4	2
Räuber	-	-	-	1	1	-	-	-
Allesfresser	2	3	4	2	2	1	1	1
Gattungen total	18	19	27	24	24	22	25	22

Tab. 3: Anteil (%) der Ernährungsgruppen in Proben von Antares und Navares-Bt vom Standort Baumannshof 2002¹⁾

Ernährungsgruppen	Antares	Navares-Bt
Bakterienfresser	76.9 (61.8)	73.5 (57.5)
Pilzfresser	16.8 (4.7)	19.1 (9.4)
Pflanzenparasiten	5.0 (30.6)	5.9 (28.7)
sonstige	1.2 (2.9)	1.6 (4.4)

Werte in Klammern stammen von Feldversuchen aus Italien (Manachini et al. 2002)

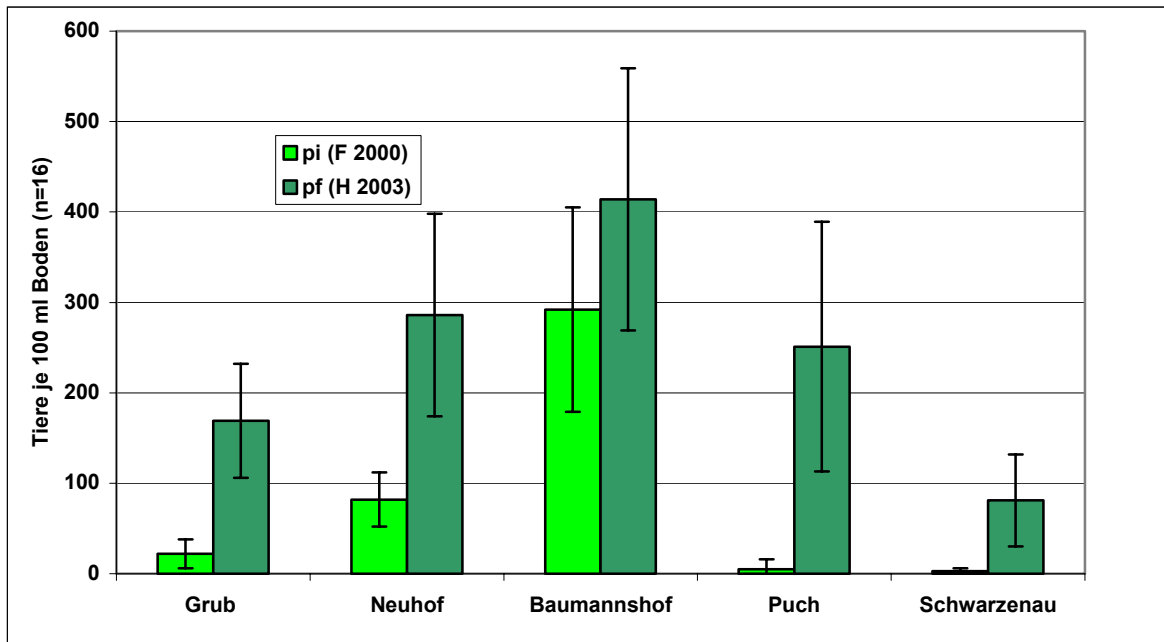


Abb. 1: Ausgangsbefall (pi) und Endbefall (pf) von *Pratylenchus* spp. nach viermaligem Maisanbau (Mittelwerte mit Standardabweichung)

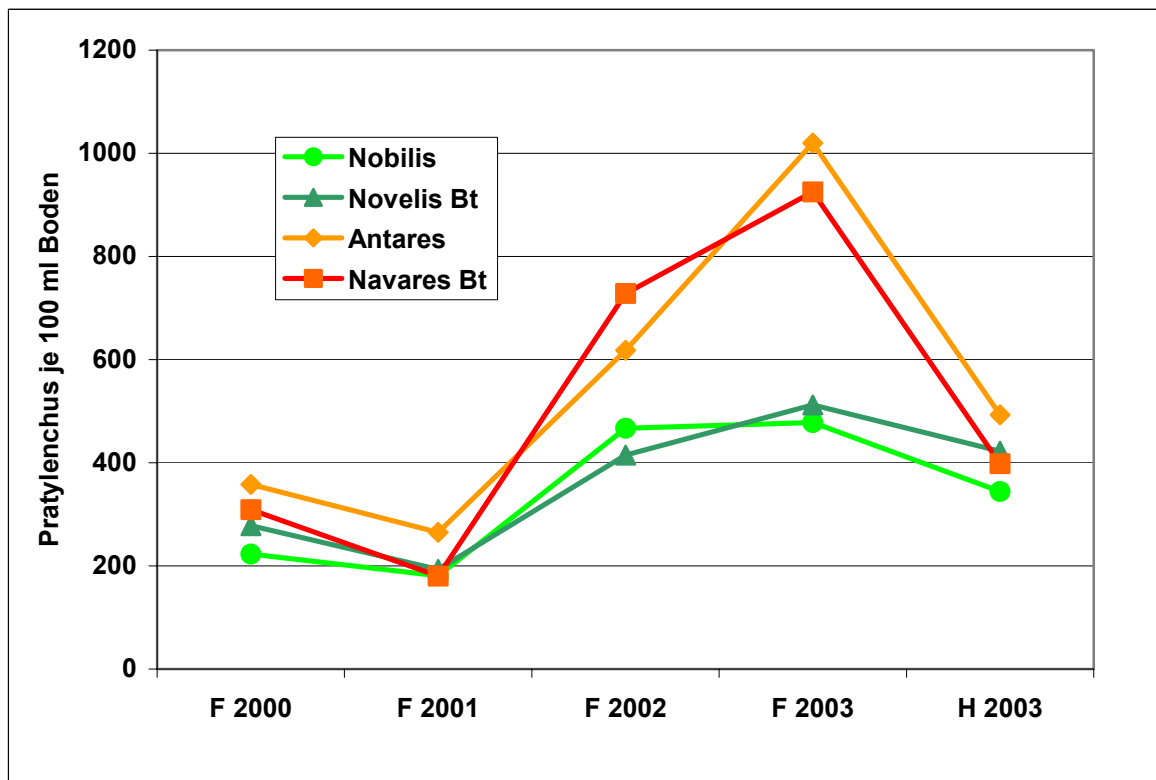


Abb. 2: Populationsdynamik von *Pratylenchus* spp. am Standort Baumannshof

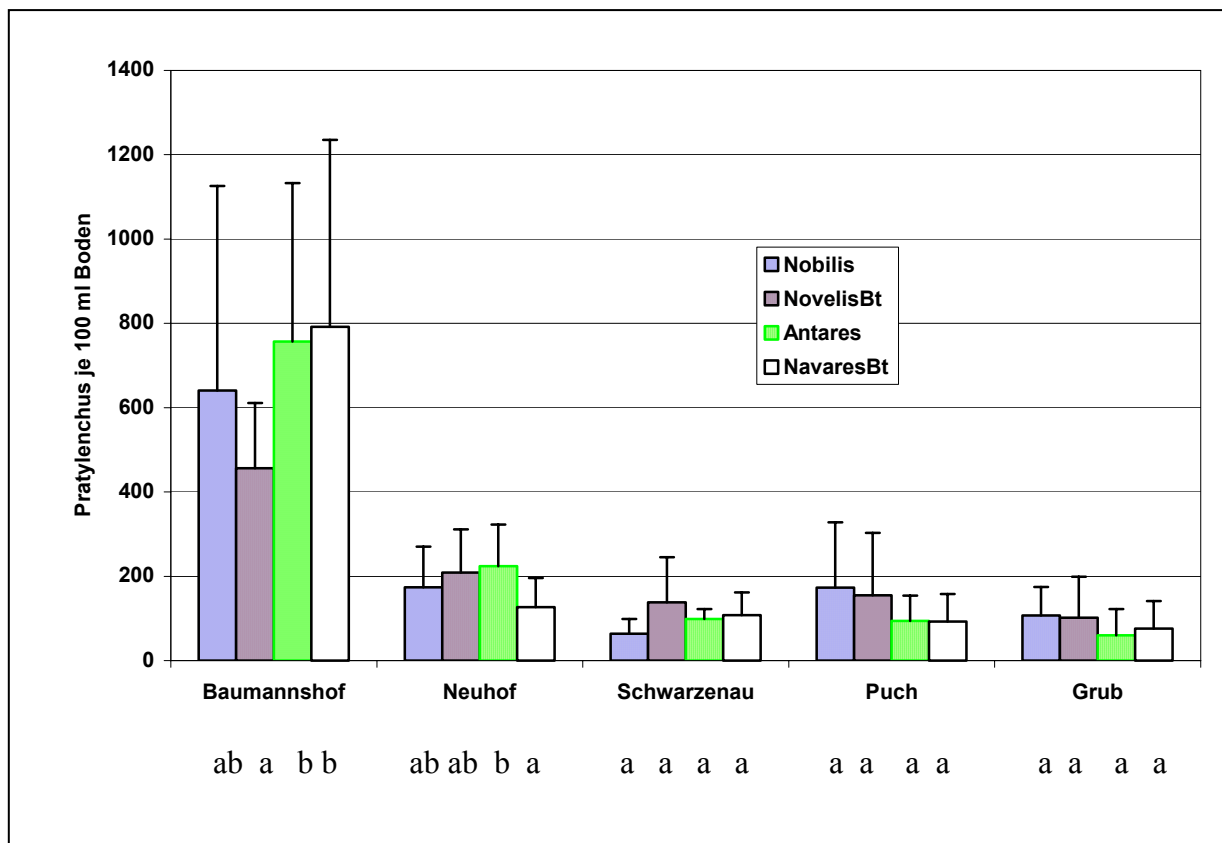


Abb. 3: Abundanzen von *Pratylenchus* spp. (Mittelwerte und + Standardabweichung über alle Probenahmeterminale; Baumannshof u. Neuhof n=6, Schwarzenau n= 5, Puch u. Grub n=3) Sorten am gleichen Standort mit unterschiedlichen Buchstaben sind signifikant verschieden (Newman-Keuls Test $p < 0.05$)

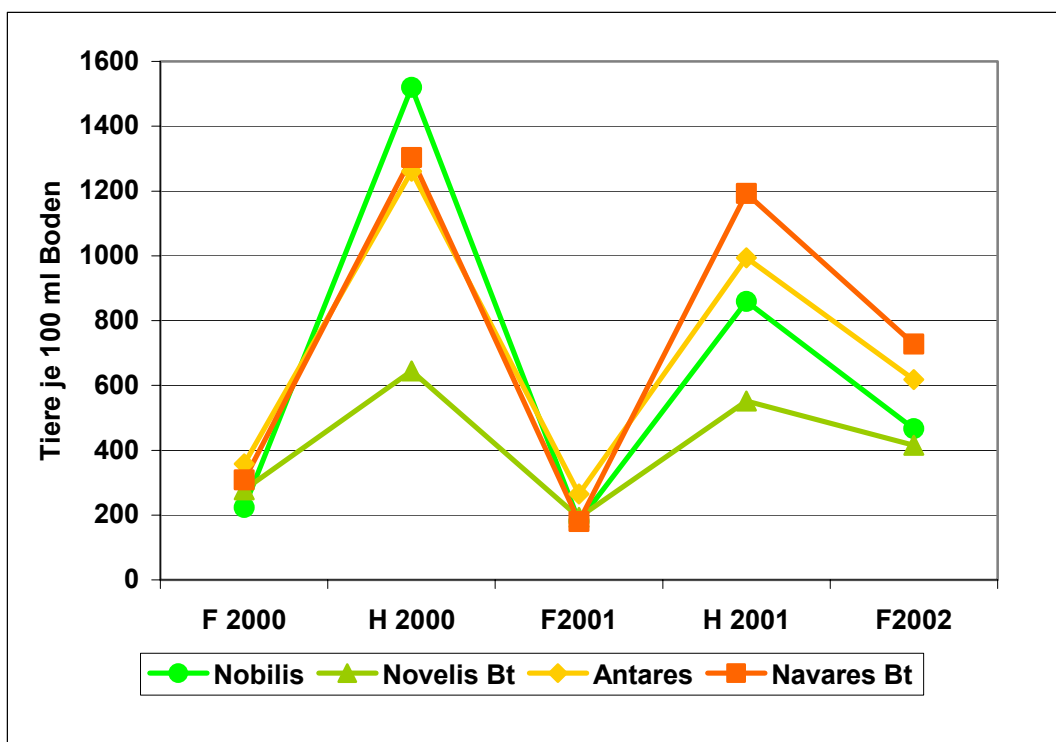


Abb. 4: Populationsdynamik von *Pratylenchus* spp. zwischen Frühjahrs- und Herbstproben am Standort Baumannshof

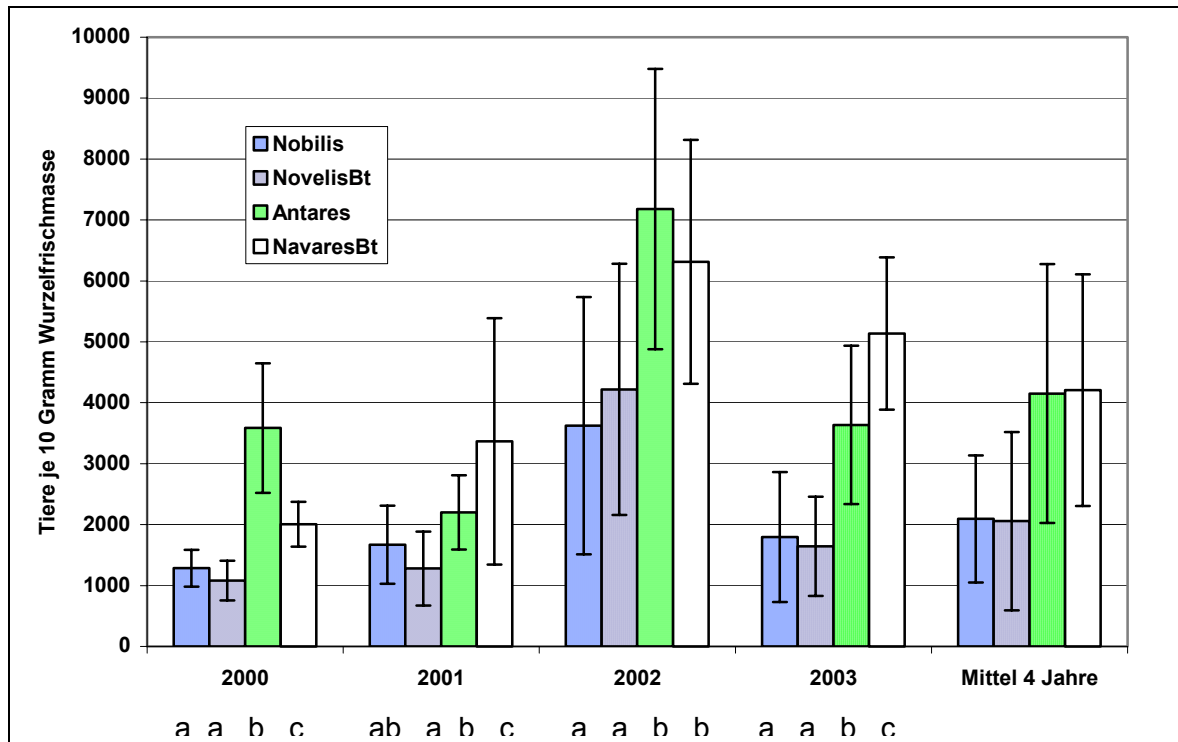


Abb. 5: Besatz der Maiswurzeln durch *Pratylenchus* spp. am Standort Baumannshof (Mittelwerte und Standardabweichung von jeweils 20 Pflanzen); Sorten mit unterschiedlichen Buchstaben in einem Jahr unterscheiden sich signifikant (Newman-Keuls Test $p < 0.05$)

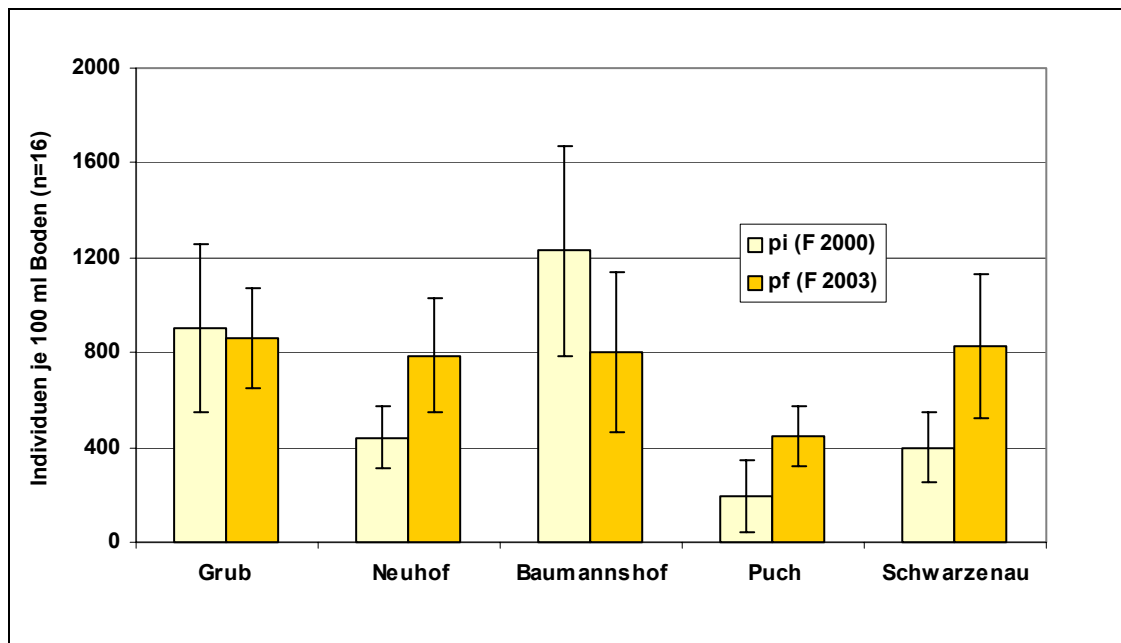


Abb. 6: Ausgangsbefall (pi) und Endbefall (pf) saprophager Nematoden nach dreimaligem Maisanbau (Mittelwerte mit Standardabweichung)

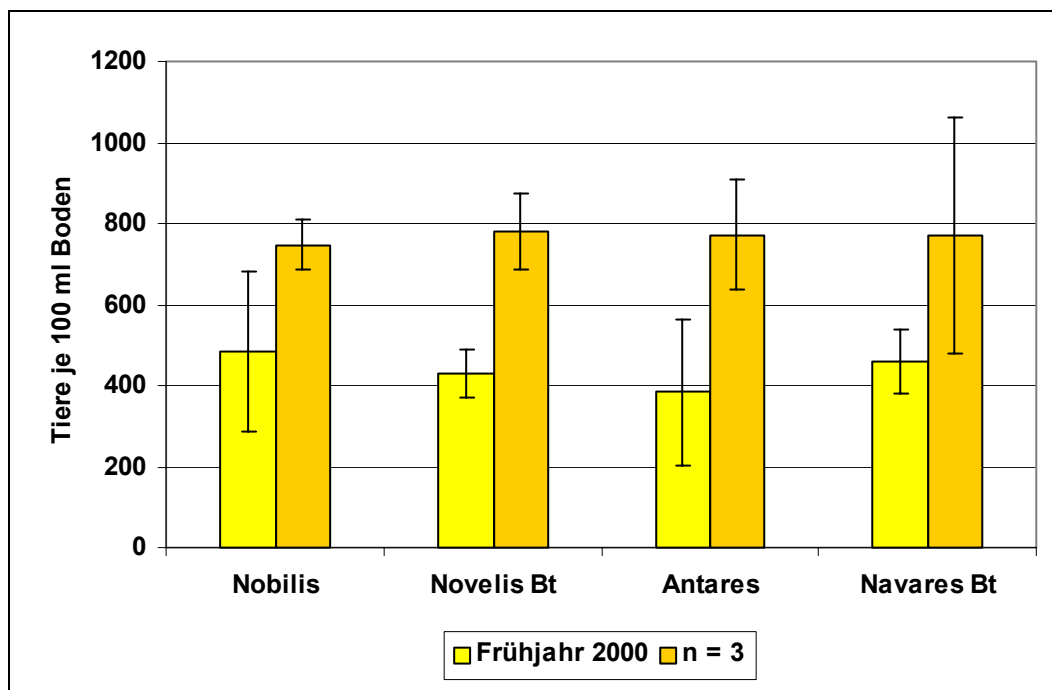


Abb. 7: Populationsveränderung saprophager Nematoden nach Sorten am Standort Neuhof (Mittelwert und Standardabweichung zu Versuchsbeginn und von drei Frühjahrsbeprobungen)

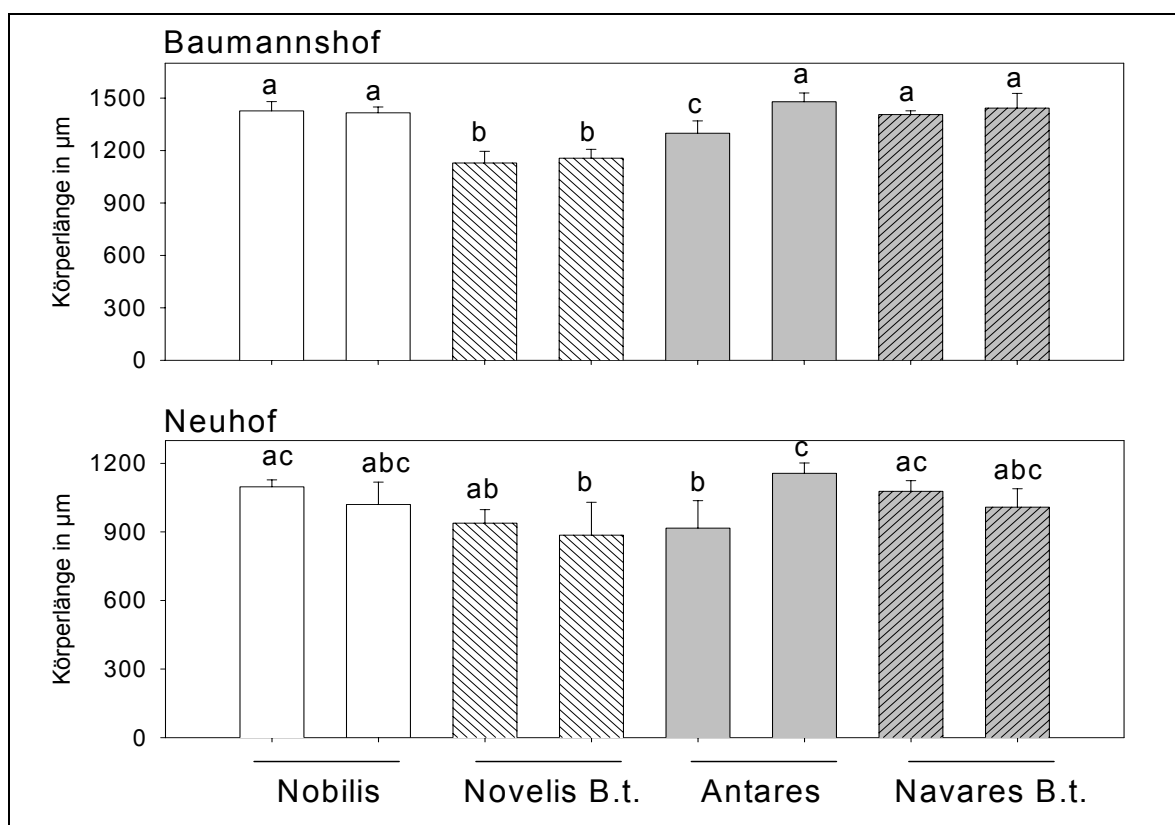


Abb. 8: Körperlänge von *C. elegans* nach 96 stündiger Exposition in Wurzelhangserde vom Standort Baumannshof und Neuhof 2002 und Eier im Körper; verschiedene Buchstaben bedeuten signifikant unterschiedliche Werte (one-way ANOVA, posthoc: Tukey, $p < 0.05$)

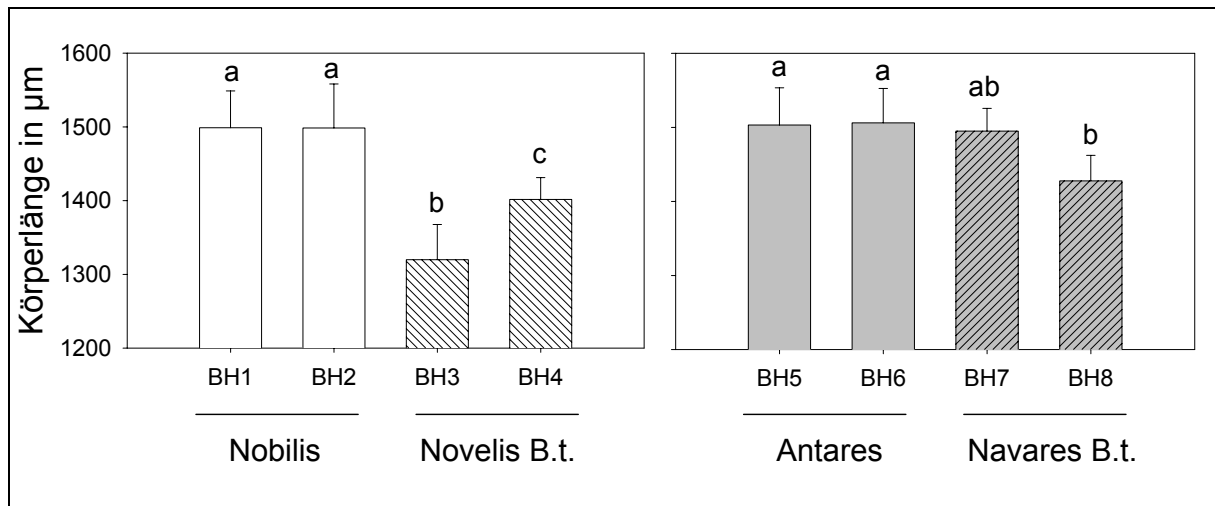


Abb. 9 : Körperlänge von *C. elegans* nach 96 stündiger Exposition in Proben (Frühjahr 2003) aus verschiedenen Parzellen vom Standort Baumannshof; verschiedene Buchstaben bedeuten signifikant unterschiedliche Werte (one-way ANOVA, posthoc: Bonferroni, $p < 0.05$).

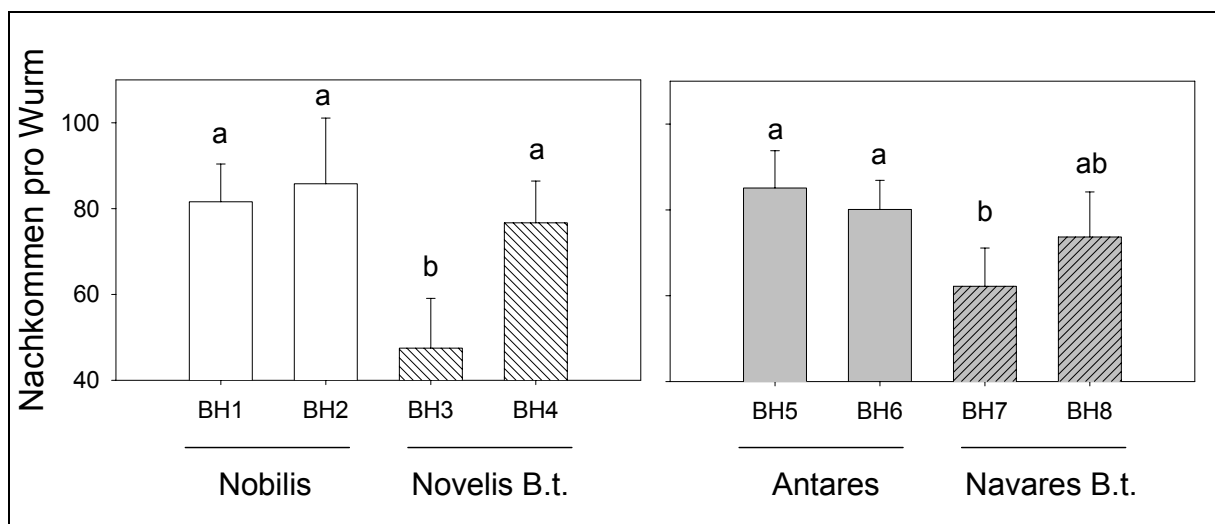
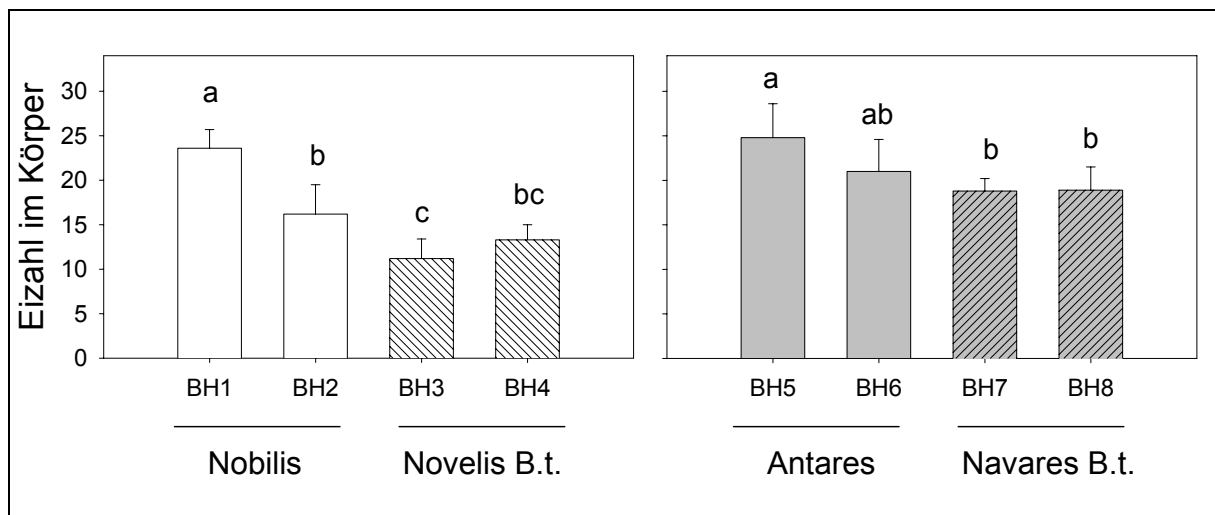


Abb. 10,11: Eizahl und Reproduktionsrate von *C. elegans*

Literaturverzeichnis

- Arndt, M. (2000): Untersuchungen zum Nematodenbefall durch *Pratylenchus* spp. an Bt-Mais. Phytomedizin 30. Jg. (3) 45
- Atkinson H.J., Urwin, P.E., McPherson, M.J. (2003): Engineering plants for nematode resistance. Annu. Rev. Phytopathol. 41: 615-639
- Baumgarte, S., Tebbe, C. (2003): Untersuchungen zum Abbau von Bt-Mais in Böden und Auswirkungen auf die mikrobielle Bodenökologie. Abstract zum BMBF-Projekt, Statusseminar - Sicherheitsforschung und Monitoring - Hannover
- Bongers T. (1990): The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. Oecologia 83: 14-19
- Bongers, T., Ferris, H. (1999): Nematode community structure as a biomonitor in environmental monitoring: Trends in Ecology and Evolution 14 (6): 224-228
- Borgonie, G., Clayes, M., Leyns, F., Arnaut, G., Waelle, D., Coomans, A. (1996a): Effect of nematicidal *Bacillus thuringiensis* strains on free-living nematodes. 1. Light microscopic observations, species and biological stage specificity and identification of resistant mutants of *Caenorhabditis elegans*. Fundam. Appl. Nematol. 19 (4), 391-398
- Borgonie, G. et al. (1996b): Effect of nematicidal *Bacillus thuringiensis* strains on free-living nematodes. 2. Ultrastructural analysis of the intoxication process in *Caenorhabditis elegans*. Fundam. Appl. Nematol. 19 (5), 407-414
- Borgonie, G. et al. (1996c): Effect of nematicidal *Bacillus thuringiensis* strains on free-living nematodes. 3. Charakterization of the intoxication process. Fundam. Appl. Nematol. 19 (6), 523-528
- Bottjer, P., Bone, W. (1987): Changes in morphology of *Trichostrongylus colubriformis* eggs and juveniles caused by *Bacillus thuringiensis israelensis*. Journal of Nematology 19 (3): 282-287
- Brodie, B. (2003): The loss of expression of the H₁ gene in Bt transgenic potatoes. American Journal of Potato Research Vol.80: 135-139
- Couteaux, M., Berg, B., Rovira, P. (2003): Near infrared reflectance spectroscopy for determination of organic matter fractions including microbial biomass in coniferous forest soils. Soil Biology and Chemistry 12, 1587-1600
- Crechio, C., Stotzky, G. (1998): Insecticidal activity and biodegradation of the toxin from *Bacillus thuringiensis* Subs. *kurstaki* bound to humic acids from soil. Soil. Biol. Biochem. 30 (4): 463-470
- Colyer, P. Kirkpatrick, L., Caldwell, D., Vernon, R. (2000): Root-knot nematode reproduction and root galling severity on related conventional and transgenic cotton cultivars. The Journal of Cotton Science 4: 232-236
- Dennis, L., Procter, C. (1990): Global overview of the functional roles of soil-living nematodes in terrestrial communities and ecosystems. Journal of Nematology 22 (1) 1-7
- Devidas, P., Rehberger, A. (1992): The effects of exotoxin (Thuringiensin) from *Bacillus thuringiensis* on *Meloidogyne incognita* and *Caenorhabditis elegans*. Plant and Soil 145: 115-120
- Donkin, S. (1994): Using the *Caenorhabditis elegans* soil toxicity test to identify factors affecting toxicity of four metal ions in intact soil. Water, Air, and Soil Pollut 78: 359-373

- Ekschmitt, K. und Bongers, T.(2000): Biologische Bodenbewertung mit Nematoden. VDLUFA-Schriftenreihe 55 Teil 2, Kongressband 2000 S. 57-76
- Escher, N., Käch, B., Nentwig, W. (2000): Decomposition of transgenic *Bacillus thuringiensis* maize by microorganisms and woodlice *Porcellio scaber* (Crustacea: Isopoda). Basic Appl. Ecol. 1 161-169
- Fearing, L. Brown, D., Vlachos, D., Meghji, M., Privalle, L. (1997): Quantitative analysis of Cry1Ab expression in Bt maize plants, tissues and silage, and stability of expression over successive generations. Molekular Breeding 3 : 169-176
- Flores, S., Saxena, D., Stotzky, G. (2000): Bt corn decomposes less in soil than non-Bt corn. In: Proceedings of the 100th Annual Meeting of the American Society for Microbiology, Los Angeles, CA, May 24, 2000, N164.
- Freckman, D. (1988): Bacterivorous nematodes and organic-matter decomposition. Agriculture, Ecosystems and Environment 24: 195-217
- Freckman, D., Ettema, H. (1993): Assessing nematode communities in agroecosystems of varying human intervention. Agriculture, Ecosystems and Environment, 45 239-261
- Goodey, J.B. (1963): Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. Technical Bulletin, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London
- Große, E. , Hommel, B. (1999): Untersuchungen zur Anfälligkeit transgener Kartoffeln gegenüber Nematoden. Phytomedizin 29. Jg. (3) 31
- Hatfield, D., Grabber, J., Ralph, J., Brei, K. (1999): Using the acetyl bromide assay to determine lignin concentrations in herbaceous plants: some cautionary notes. J. Agric. Food Chem. 47, 628-632
- Head, G., Surber, B., Watson, A., Martin, W., Duan, J. (2002): No detection of Cry1Ac Protein in soil after multiple years of transgenic Bt Cotton use. Environ. Entomol.31 (1) 30-36
- Höss, S. (2001): Standardisierung des Sedimentbiotests mit *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) Dissertation Humboldt-Universität Berlin
- Höss, S., Arndt, M., Baumgarte, S., Tebbe, C. (2004): Effects of soil from experimental fields with transgenic corn on the nematode *Caenorhabditis elegans*. Abstract SETAC Prag
- Hopkins, D., Gregorich, E. (2003): Detection and decay of the *Bt* endotoxin in soil from a field trial with genetically modified maize. European Journal of Soil Science Vol 54 , 4 793-800
- Huffman, L., Bischof, J., Griffiths, S., Aroian, V. (2004): Pore worms: *Caenorhabditis elegans* to study how bacterial toxins interact with their target host. Int. J. Med. Microbiol. 293, 1-9
- Ingham, R. (1985): Interactions of bacteria, fungi, and their nematode grazers: effects on nutrient cycling and plant growth. Ecol. Mon. 55/1, 119-140
- Jehle, J.A., Nguyen, T.H. (2003): The seasonal expression of Cry1Ab in the transgenic maize lines MON810 und NOV176. IOBC working group Prag
- Jepson , C., Croft, A., Pratt, E. (1994): Test systems to determine the ecological risks posed by toxin released from *Bacillus thuringiensis* genes in crop plants. Molecular Ecology 3, 81-89

- Jung, C. (1998): Engineering nematode resistance in crop species. *Trends Plant Sci.* 3(7): 266-271
- Knuth, P. (2000): Entwicklung von *Pratylenchus neglectus* und *Heterodera avenae* in engen Mais-Getreide-Fruchtfolgen. *Phytomedizin* Nr. 3 , 43
- Knuth, P. (2001): Toleranz und Resistenz von Maissorten gegenüber Stängelnematoden (*Ditylenchus dipsaci*). *Phytomedizin* Nr.2 95-96
- Koskella, J., Stotzky, G. (1997): Microbial utilization of free and clay-bound insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* and their retention of insecticidal activity after incubation with microbes. *Applied and Environmental Microbiology* Vol 63 No.9 :3561-3568
- Krieg, A. (1983): Bekämpfung von Insekten im Pflanzenschutz mit *Bacillus thuringiensis*-Präparaten und deren Einfluß auf die Umwelt. *Anz. Schädlingskde., Pflanzenschutz, Umweltschutz* 56, 41-52
- Küthe, K., Rössner, J. (1978): Einsatz von Pflanzenschutzpräparaten gegen Phytonematoden zur Ertragssicherung bei Mais. *Anz. Schädlingskde., Pflanzenschutz, Umweltschutz* 51 102-107
- Leliveldt, B., Sturhan, D. (1994): Untersuchungen über Auswirkungen unterschiedlicher Bewirtschaftungsintensität auf die Nematodenzönose eines Ackerbodens. *Mitt. a. d. Biol. Bundesanst. H.* 295 318-352
- Leyns, F., Borgonie, G., Arnaut, G., Waele, D. (1995): Nematicidal activity of *Bacillus thuringiensis* isolates. *Fundam. appl. Nematol.* 18 (3), 211-218
- Manachini, B., Lozzia G. (2002): First investigations into the effects of Bt corn crop on Nematodenfauna. *Boll. Zool. Agr. Bachic. Ser.II*, 34 (1): 85-96
- Manachini, B., Fiore, H., Laudi, S., Festa, M., Arpaia, S. (2003): First investigations on the effects of transgenic *Brassica napus* L. on trophic structure of nematofauna. Abstract GMO meeting IOBC Working Group Nov. 2003 in Prag
- Maaßen, H. (1977): Untersuchungen über die Ein- und Auswanderung von Nematoden der Gattung *Pratylenchus* in Maiswurzeln im Hinblick auf die Entnahme von Boden- oder Wurzelproben. *Gesunde Pflanzen* 29, 203-205.
- Marroquin L., Elyassnia, D., Griffiths, J., Feitelson, J. , Aroian, R. (2000): *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin susceptibility and isolation of resistance mutants in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 155: 1693-99
- Meadows, J., Gill, S., Bone, L. (1990): *Bacillus thuringiensis* strains affect population growth of the free-living nematode *Turbatrix aceti* . *Invert. Reprod. and Devel.* 17, 1 73-76
- Müller, D. (1999): Decomposition of transgenic Bt maize and impact on native microbial communities in soil microcosms. Diplomarbeit ETH Zürich
- Osman, Y., Salem, M., Ghattas, A. (1988): Bio-efficacy of two bacterial insecticide strains of *Bacillus thuringiensis* as a biocontrol agent in comparison with a nematicide, Nemacur, on certain parasitic Nematoda. *Anz. Schädlingskde., Pflanzenschutz, Umweltschutz* 61, 35-37
- Rueß, L. (1993): Die Nematodengesellschaften von Waldökosystemen – Auswirkungen anthropogener Einflüsse. Dissertation Uni Ulm
- Saxena, D., Flores, S., Stotzky, G. (1999): Insecticidal toxin in root exudates from Bt corn. *Nature* 402, 480

- Saxena, D., Stotzky, G. (2001): *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin released from root exudates and biomass of Bt corn has no apparent effect on earthworms, nematodes, protozoa, bacteria and fungi in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 33, 1225-1230
- Saxena, D., Stotzky, G. (2002): Bt corn has a higher lignin content than non-Bt corn: *American Journal of Botany* 88 (9): 1704-1706
- Scheukelaars, P. (2002): Rethinking substantial equivalence. *Nature Biotechnology* 20: 119
- Schesser, H., Kramer, J., Bulla, L. (1977): Bioassay for homogeneous parasporal crystal of *Bacillus thuringiensis* using the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. *Applied and Environmental Microbiology* 33,4 878-880
- Schulz, H. (2002): NIR-Spektroskopie: Qualität von Heil- und Gewürzpflanzen bestimmen. *Gemüse* 8, S. 23-24
- Seinhorst, J. (1988): The estimation of densities of Nematode populations in soil and plants. (Jordbruk 51, Swedish University of Agricultural Sciences)
- Sims, S., Holden, L. (1996): Insect bioassay for determining soil degradation of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* Cry1Ab protein in cor tissue. *Environ. Entomol.* 25 (3) 659-66
- Southey, J. (1986): Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. MAFF referenze Book 402. London
- Sturhan, D., Ludewig, A., Kloke, A. (1986): Untersuchungen über den Einfluss von Umweltchemikalien auf Bodennematoden. *Mitt. BBA* 232, 414
- Sturhan, D. (1996): Nematoden als Biomonitoren. *Mitt. BBA H.* 312 S. 369
- Tapp, H., Stotzky, G. (1998): Persistence of the insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* in soil. *Soil Biol. Biochem.* Vol.30, No. 4, 471-476
- Traunspurger, W., Haitzer, M., Höss, S., Beier, S., Ahlf, W., Steinberg, C. (1997): Ecotoxicological assessment of aquatic sediments with *Caenorhabditis elegans* (Nematoda) – a method for testing liquid medium and whole sediment samples. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16, 2 245-250
- Urwin, E., Lilley, J., Atkinson, J. (1998): Nematode control by genetically modified crops. *Aspects of Applied Biology*, No. 52 , 255-262
- Vettori, C., Paffetti, D., Saxena, D., Stotzky, G., Giannini, R. (2003): Persistence of toxins and cells of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* introduced in sprays to Sardinia soils. *Soil Biology and Biochemistry* 35, S 1635-1642
- Vrain, C. (1999): Engineering natural and synthetic resistance for nematode management. *Journal of Nematology* Vol. 31 (4), 424-436
- Wei, J., Hale, K., Carta, L., Platzer, E., Wong, C., Fang, S., Aroian, V. (2003): *Bacillus thuringiensis* crystal proteins that target nematodes. *PNAS* vol. 100 no.5 2760-2765
- Wilms, W. (1992): Prüfung der Auswirkungen von Pflanzenschutzmitteln auf räuberische Nematoden. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* 44 (2) S. 25-29
- Yeates, G.W., Bongers, T., Goede, R.G., Freckman, D., Georgieva, S. (1993): Feeding habits in soil nematode families and genera – an outline for soil ecologist. *Journal of Nematology* 25, 315-331

Zalunin, I., Dronia, M., Yudina, T., Revina, L., Kostina, L., Chetukhina, L. (2003): Activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins against environmental microorganisms. IOBC working group Prag, Abstract

Zuckerman, M., Dicklow, B., Acosta, N. (1993): A strain of *Bacillus thuringiensis* for the control of plant-parasitic nematodes. *Biocontrol Science and Technology* 3, 41-46

Zunke, U. (1992): Pathogenicity and distribution of different plant parasitic nematode species in corn (*Zea mays*) field in Germany. *J. Phytopathol.* 83: 1336

Zwahlen, C., Hilbeck, A., Gugerli, P., Nentwig, W. (2003): Degradation of the Cry1Ab protein within transgenic *Bacillus thuringiensis* corn tissue in the field. *Molecular Ecology* 12, 765-775

Zwahlen, C., Hilbeck, A., Howald, R., Nentwig, W. (2003): Effects of transgenic Bt corn litter on the earthworm *Lumbricus terrestris*. *Molecular Ecology* 12, 1077-1086

3.3 Bodenmikrobiologie

3.3.1 Aufgabenstellung

Bodenmikroorganismen sind unverzichtbar für den Kreislauf der Nährstoffe und stehen am Anfang nahezu aller Stoffumsetzungen im Boden. Die besondere Bedeutung der Bodenmikroorganismen für die Pflanzenernährung liegt in der Mineralisierung der Ernterückstände, die zu einer Bereitstellung von pflanzenverfügbaren Nährstoffen führt. Darüber hinaus regulieren die Bodenmikroorganismen den Humusgehalt und schaffen chemisch-physikalische Bodeneigenschaften, die das Pflanzenwachstum begünstigen. Die mikrobielle Aktivität ist daher für die Bodenfruchtbarkeit von wesentlicher Bedeutung. Das Ziel der Untersuchungen war es, die Gesamtheit der für eine langfristige Bodenfruchtbarkeit wichtigsten bodenmikrobiologischen Stoffwechselleistungen an verschiedenen Ackerstandorten zu erfassen.

Durch vergleichende Untersuchungen von verschiedenen, wichtigen bodenmikrobiologischen Eigenschaften an Anbauflächen mit Bt-Mais bzw. mit der vergleichbaren konventionellen Maissorte sollen eventuelle Einflüsse des Bt-Toxins in Wurzel- und Pflanzenresten und im Boden auf Bodenmikroorganismen festgestellt werden.

3.3.2 Umfassende Dokumentation und Auswertung der verwendeten Literatur

Für die vorliegende Arbeit wurde ausschließlich Literatur zum methodischen Teil dieser Arbeit verwendet. Diese findet sich im Abschnitt Material und Methoden (3.3.6.) wieder.

3.3.3 Voraussetzungen unter denen die Arbeiten durchgeführt wurden

Zum Zeitpunkt der Antragsstellung wurde mit einer anteiligen Arbeitsleistung von drei Vollzeitlaborkräften im Arbeitsbereich kalkuliert. Aus nicht vorhersehbaren Gründen verlor der Arbeitsbereich im Verlaufe des Forschungsprojektes zweieinhalb Stellen, die zur Aufgabe einiger geplanter Untersuchungen führten. In den wesentlichen Punkten konnte das Projekt aber wie geplant beendet werden.

3.3.4 Planung und Ablauf

Die Untersuchungen wurden an den Dauerversuchen mit Körnermais auf den staatlichen Versuchsgütern am Baumannshof, in Grub, Neuhof, Puch und Schwarzenau sowie an den verfügbaren Bodendauerbeobachtungsflächen (BDF) mit Mais durchgeführt.

Um mögliche Veränderungen während der Vegetationszeit feststellen zu können, wurde zusätzlich zum üblichen Beprobungstermin im Frühjahr auch im Sommer zur Maisblüte und im Herbst nach der Maisernte beprobt. Die Beprobung startete im Sommer 2000 und endete mit der Probenahme im Herbst 2003. Es ergaben sich somit elf Untersuchungstermine an den jeweiligen Daueranbauversuchen. Aus organisatorischen Gründen konnte am Standort Schwarzenau die Probenahme nicht selbst durchgeführt werden, sie erfolgte durch Dritte.

Auf Grund der Heterogenität der Einzelproben und ihrer widersprüchlichen Analysedaten wurde der Standort Schwarzenau ab dem Jahr 2003 nicht mehr beprobt. Neben der mikrobiellen Biomasse als Maß für die mikrobielle Bodenbelebtheit wurden vier Enzymaktivitäten bestimmt, die wesentliche Stoffwechselleistungen im Boden charakterisieren.

Bei den Bodendauerbeobachtungsflächen entfiel die Probennahme im Sommer und musste wegen Personalmangels im Herbst 2002 ganz eingestellt werden. Insgesamt wurden 8 BDF-Flächen beprobt, von denen jedoch nur 6 zur Auswertung kamen, da an zwei Stand-

orten nur ein Untersuchungstermin möglich war. Ebenso wurden die Untersuchungen auf potenzielle und aktuelle Nitrifikation aus Personalmangel 2002 eingestellt.

3.3.5 Zusammenstellung der Gesamtproblematik und bisher bekannt gewordener Ergebnisse auf dem Gebiet der Aufgabenstellung

Derzeit gibt es nur wenig Studien über den Einfluss von Bt-Toxin auf die Aktivität der Bodenmikroorganismen (FIFRA SAP Report 2001). Dabei handelte es sich entweder um *in vitro* Laborversuche (Saxena und Stotzky 2001) oder um Feldversuche an einem Standort mit einem einzigen Untersuchungsmerkmal, der auch von uns untersuchten Dimethylsulfoxidreduktase (Mücher 2004). In beiden Fällen konnte kein Effekt von Bt-Toxin bzw. Bt-Mais auf die Bodenmikroorganismen festgestellt werden.

Alle übrigen bodenmikrobiologischen Forschungen in Zusammenhang mit dem Anbau von Bt-Mais befassten sich mit dem möglichen Gentransfer Bt-Mais → Bodenmikroorganismen und der möglichen Verschiebung in der Populationsdynamik der Bodenmikroorganismen.

Auf beiden Gebieten gibt es keine gesicherten Ergebnisse. Bezüglich des Gentransfers ist zu bedenken, dass in einem Gramm Ackerboden über 10^9 Bodenmikroorganismen leben, dies entspricht bei einer Bodentiefe von 10 cm 10^{17} Bodenmikroorganismen pro Hektar. Die Suche nach einem seltenen Ereignis ist in Anbetracht der astronomisch hohen Zahl an Bodenmikroorganismen demzufolge aussichtslos. Darüber hinaus ist *Bacillus thuringiensis* ein typisches Bodenbakterium und der „natürliche“ Gentransfer *Bacillus thuringiensis* an andere Bodenmikroorganismen viel wahrscheinlicher.

Ebenso sind Untersuchungen zur Populationsdynamik der Bodenmikroorganismen wenig erfolgsversprechend, da jeder Boden auf Grund der veränderten Umwelteinflüsse (Temperatur, Wasser, Stoffeintrag) tägliche Veränderungen in der Zusammensetzung der Bodenmikroorganismen aufweist (mündliche Mitteilung Dr. Schloter, GSF).

3.3.6 Angewandte wissenschaftliche und technische Methoden

Probenahme, Aufbereitung und Lagerung

Von jeder Teilfläche wurde eine Mischprobe aus 50 Einzelproben aus der Oberkrume (0-10 cm) hergestellt. Die homogenisierten Proben wurden luftgetrocknet und auf 2 mm gesiebt. Ein Teil der Proben wurde bis zur Untersuchung tiefgefroren bei -18 °C gelagert. Rückstellproben für Nachuntersuchungen und weitergehende Analysen wurden ebenfalls bei -18 °C gelagert. Zur Analyse wurden die Proben im Kühlschrank aufgetaut und auf 50 % der maximalen Wasserkapazität eingestellt.

Analysen

Alle Proben wurden auf die bodenmikrobiologischen Merkmale Biomasse, Katalaseaktivität, DMSO-Reduktase, β -Glucosidase und Argininammonifikation untersucht. Darüber hinaus wurde in Verdachtsfällen auch die Aktivität an nitrifizierenden Mikroorganismen überprüft. Alle Untersuchungen wurden nach den international standardisierten Methodenvorschriften (Bodenbiologische Arbeitsmethoden, F.Schinner et al.1993) durchgeführt.

Mikrobielle Biomasse

- Substratinduzierte Respiration (SIR) nach Anderson und Domsch 1978. Bodenproben werden mit Glucose versetzt und die unmittelbar folgende Atmungsreaktion (CO₂-Produktion) mit Hilfe eines Infrarot-Gasanalytators bestimmt. Durch Kalibrierung kann auf mikrobiologisch gebundenen Kohlenstoff (= C_{mic}) umgerechnet werden (µg C/g TS).

Enzymaktivitäten

- Katalasezahl: Nach Zugabe von Wasserstoffperoxid zur Bodenprobe wird die innerhalb von drei Minuten enzymatisch abgespaltene O₂-Menge gasvolumetrisch gemessen und in Prozent angegeben (Beck 1971).
- β-Glucosidase-Kohlenstoffkreislauf: Bodenproben werden mit dem Substrat β-Glucosido-Saligenin (Salicin) 3 Stunden bei 37 °C bebrütet. Das durch β-Glucosidaseaktivität freigesetzte Saliginin wird nach Färbung kolorimetrisch bei 578 nm bestimmt (modifiziert nach Hoffmann und Dedeken 1966).
- Dimethylsulfoxid-Reduktion-Schwefelkreislauf: Bodenproben werden nach Zugabe von Dimethylsulfoxid 3 Stunden bei 30 °C in einem gasdichten Gefäß bebrütet. Das gebildete Dimethylsulfid wird gaschromatographisch erfasst (Alef und Kleiner 1989).
- Argininammonifikation-Stickstoffkreislauf: Nach einer dreistündigen Inkubation der Bodenproben mit einer wässrigen Argininlösung wird das gebildete Ammonium mit einer 2 M Kaliumchloridlösung extrahiert und kolorimetrisch bestimmt (modifiziert nach Alef und Kleiner 1986).

Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe des Programmpakets SAS. Dabei wurden nach der Varianzanalyse (unter Berücksichtigung der Einflussfaktoren Probenahmetermin und Sorten sowie im Falle der Verrechnung der gesamten Serie auch der Orte) die konventionellen und transgenen Sorten paarweise mit dem t-Test verglichen. Dieser Vergleich erfolgte ortsweise und über die Orte für die Paare Novelis-Bt/Nobilis-konventionell bzw. Navares-Bt/Antares-konventionell. Darüber hinaus wurde auch eine multivariante Varianzanalyse durchgeführt, indem alle Untersuchungsmerkmale gemeinsam zur Unterscheidung der Vergleichspaare herangezogen wurden. Bei diesem Verfahren ist bei gleichsinnigen Effekten der Merkmale zu erwarten, dass gegenüber dem univariaten Ansatz auch kleinere Differenzen statistisch abzusichern sind.

Bei allen Vergleichen wurden die mit Insektizid behandelten Parzellen als Wiederholungen verwendet, nachdem sich herausstellte, dass der Faktor „ohne“ und „mit Insektizide“ auf die mikrobiellen Bodenparameter keinen Einfluss hatte.

3.3.7 Während der Durchführung des Forschungsvorhabens bekannt gewordene Fortschritte auf diesem Gebiet bei anderen Stellen

Im Jahre 2004 wurden in einer Dissertation der RWTH-Aachen erstmalig Ergebnisse aus Bt-Mais-Freilandversuchen zur Bodenmikrobiologie veröffentlicht (Mücher 2004). Dabei wurde die Dimethylsulfoxidreduktaseaktivität an einem Versuchsstandort mit Bt-Mais und isogenem Vergleichsmais innerhalb von zwei Versuchsjahren verglichen. Die Probenahme erfolgte jeweils im Herbst (September bzw. Oktober) und die Analysen wurden entsprechend der von uns verwendeten Methode nach Alef und Kleiner 1986 durchgeführt. In beiden Versuchsjahren konnte kein signifikanter Unterschied in der DMSO-reduktaseaktivität zwischen Bt-Mais und isogener Vergleichssorte festgestellt werden. In

seiner Arbeit weist Mücher darauf hin, dass auch andere bodenmikrobiologische Summenparameter wie Bodenatmung, Ammonifikation und Dehydrogenaseaktivität für ein Monitoring angewendet werden könnten.

3.3.8 Darstellung und Bewertung der Ergebnisse

Bt-Mais-Daueranbauversuche

In Abb. 1 ist der Ausgangsbiomassegehalt aller fünf Versuchsstandorte dargestellt. Die deutlichen Unterschiede in der mikrobiellen Bodenbelebtheit (μg mikrobieller Kohlenstoff/g TS) an den einzelnen Versuchsstandorten geben den Schwankungsbereich der Bodenbelebtheit auf bayerischen Ackerböden recht gut wieder. So lag der Biomassegehalt am sauren Standort Baumannshof mit $156 \mu\text{g Cmic}$ sehr niedrig, während der Biomassegehalt in Grub mit $465 \mu\text{g Cmic}$ deutlich über dem Durchschnitt lag. Die drei übrigen Standorte entsprechen in etwa dem mittleren Biomassegehalt bayerischer Ackerflächen von $278 \mu\text{g Cmic}$, ermittelt aus dem bayerischen BDF-Projekt.

Da der Standort Schwarzenau auf Grund der widersprüchlichen Analysedaten nicht berücksichtigt wurde, lagen demzufolge elf Probennahmeterminen (Sommer 2000 bis Herbst 2003) an vier Standorten für die Auswertung vor.

Betrachtet man die mikrobiologischen Kennwerte über alle elf Untersuchungstermine, so ist ein signifikanter Anstieg der mikrobiellen Aktivität im Verlaufe der Vegetationsperiode zu erkennen. Auf allen Standorten und Versuchspartzen stieg die mikrobielle Aktivität vom Frühjahr über Sommer zum Herbst hin an. Dieser durch eine verstärkte Wurzelbildung während der Vegetationszeit bedingte „Rhizosphäreneffekt“ ist in der Literatur seit langem bekannt. Daher wurden zur Auswertung die Ergebnisse der einzelnen Jahreszeiten (3mal Frühjahr, 4mal Sommer und 4mal Herbst) in Gruppen zusammengefasst. Die statistische Auswertung ergab keine signifikanten Abweichungen innerhalb der Termingruppen.

In den Abb. 2 bis Abb. 6 sind alle Untersuchungsparameter an den einzelnen Versuchsstandorten als Paarvergleich Bt-Mais/ konventionelle Sorte mit Angabe des statistischen Ergebnisses (t-Test) dargestellt.

Die mikrobielle Biomasse und die Katalasezahl gelten als die wesentlichen Merkmale zur Ermittlung der allgemeinen Bodenbelebtheit und werden im Vergleich zu den übrigen bodenenzymatischen Kenngrößen weniger von Umweltfaktoren beeinflusst. Für beide Untersuchungsparameter ergaben sich an den vier Versuchsstandorten keine signifikanten Abweichungen beim Paarvergleich Bt-Mais/konventionellem Mais (Abb. 2 und Abb. 3). Die Katalasezahl und mikrobielle Biomasse waren ohne Ausnahme in allen Termingruppen und für beide Paarvergleiche (NavaresBt/Antares; NovelisBt/Nobilis) nicht signifikant unterscheidbar. Auch lassen die festgestellten nicht signifikanten Unterschiede keine Abhängigkeit zum Standort oder der transgenen Maissorte erkennen.

Ein ähnliches Ergebnis zeigte sich auch bei den drei übrigen bodenenzymatischen Untersuchungen (Abb. 4 bis Abb. 6).

Zumeist ergaben die speziellen bodenenzymatischen Paarvergleiche keine signifikanten Unterschiede. Lediglich vier Paarvergleiche, einer am Standort Neuhof und drei in Puch, zeigten signifikante Abweichungen. In Neuhof konnte bei der Glucosidasemessung ein für die Bt-Maissorte Navares signifikant kleinerer Wert als bei der Vergleichssorte Antares festgestellt werden. Am Standort Puch lag die DMSO-Reduktaseaktivität bei der Bt-Sorte Navares signifikant über und bei der Bt-Sorte Novelis signifikant unter der jeweiligen Vergleichssorte. An diesem Standort konnte auch eine für die Bt-Sorte Navares signifikant

erhöhte Arginidesaminase gemessen werden. Insgesamt ergaben sich vier signifikante Abweichungen, wobei zweimal die Bt-Sorten über und zweimal unter den Vergleichssorten lagen. Über alle Standorte gesehen ergaben sich keine signifikanten Abweichungen in den fünf einzelnen Untersuchungsparametern (vgl. Tab. 1). Unterstützt wird dieses Ergebnis auch durch die multivariante Varianzanalyse, indem alle 5 Untersuchungsmerkmale gemeinsam für eine statistische Unterscheidbarkeit herangezogen wurden (Tab. 2). Für einen behaupteten Unterschied zwischen Bt-Maissorte und isogener Vergleichssorte müsste man nach allen vier berechneten Statistiken eine Irrtumswahrscheinlichkeit von knapp 85 % für Novelis/Nobilis und 99 % für Navares/Antares in Kauf nehmen.

Insgesamt gesehen ergab sich in dem Versuch eine sehr gute Übereinstimmung der bodenzymatischen Kennwerte mit den Biomasseergebnissen.

BDF-Vergleichsflächen

Auf Grund der unterschiedlichen Versuchsvoraussetzungen an den jeweiligen BDF-Standorten (Versuchsanlage und Betreuung durch den Landwirt, unterschiedliche Heterogenität der Versuchsflächen) wurden die Ergebnisse in einem Vorher-nachher-Vergleich dargestellt. Hierzu wurde die Frühjahrsprobenahme (vor Maisanbau) mit der Herbstprobenahme (nach Maisanbau) verglichen und die isogene Vergleichssorte gleich 100 % gesetzt. Hatte z.B. die Bt-Fläche im Frühjahr 110% der Vergleichsfläche und im Herbst 112 %, so ergab sich eine Veränderung der Aktivität durch den Anbau von Bt-Mais von + 2 %. Dieses Vorgehen war nötig, da die Vergleichsparzellen im Frühjahr vor Versuchsbeginn sich teilweise bis zu 30 % in den Aktivitätszahlen unterschieden.

In Tabelle 3 sind die Veränderungen der mikrobiologischen Untersuchungsparameter, bedingt durch Bt-Maisanbau, für die sechs untersuchten BDF-Standorte zusammengestellt. Positive Zahlen zeigen einen Anstieg der Aktivitätswerte für Bt-Mais und negative Zahlen entsprechend einen Rückgang im Vergleich zur isogenen Vergleichssorte an. Aus dem bayerischen BDF-Programm ist bekannt, dass Einzelproben eine durchschnittliche Streuung von 6 % in den mikrobiologischen Aktivitätszahlen aufweisen. Demzufolge wurden Aktivitätsveränderungen unter 12 % (zweifache Streuung) als nicht unterscheidbar angesehen. In der Zusammenstellung treten lediglich zwei erhöhte Veränderungen in den Untersuchungsparametern auf, die beide positive Werte haben. Einmal lag am BDF-Standort B die Katalasezahl mit 12 % in der Bt-Variante über der Vergleichsvariante und zum anderen am Standort C2001 die DMSO-Reduktase mit 15 %. Im Folgejahr konnte am Standort C2002 dieser Unterschied nicht mehr beobachtet werden. In allen übrigen Untersuchungsparametern und Standorten lagen die festgestellten Unterschiede zumeist deutlich unter der 12 %-Marke. Die Ergebnisse aus den BDF-Standorten belegen somit die Aussage aus den Daueranbauversuchen, wonach keine Unterschiede in der bodenmikrobiologischen Aktivität bedingt durch Bt-Maisanbau feststellbar sind.

3.3.9 Zusammenfassung

In dem vorliegenden Monitoringbericht wurden erstmalig an mehreren Standorten über einen längeren Untersuchungszeitraum und über die gesamte Vegetationsperiode hinweg alle wesentlichen bodenmikrobiologischen Summenparameter vergleichend für Bt-Mais und isogener Vergleichssorte untersucht.

Nach elf Probenahmeterminen über vier Jahre verteilt kann an den vier auswertbaren Bt-Mais-Daueranbaustandorten keine Veränderung in den untersuchten bodenmikrobiologischen Merkmalen festgestellt werden. Gelegentlich auftretende signifikante Unterschiede

in den Paarvergleichen waren sowohl positiv wie negativ und lassen nach dem vorliegenden Zahlenmaterial keine Abhängigkeit zur transgenen Maispflanze erkennen.

Eine zusätzliche Bestätigung dieser Ergebnisse geben auch die Analysewerte der ausgewählten BDF-Flächen. Nach dem vorliegenden Zahlenmaterial kann eine Beeinträchtigung der Bodenfruchtbarkeit und der mikrobiologischen Bodenaktivität durch den Anbau der Bt-Maissorten Navares und Novelis ausgeschlossen werden. Aus bodenmikrobiologischer Sicht bestehen keine Bedenken gegen den Anbau der zwei untersuchten transgenen Maissorten.

3.3.10 Tabellen, Abbildungen und Literatur

Tab. 1: Statistischer Paarvergleich Bt-Mais – Konventionelle Sorte (Navares/Antares und Novelis/Nobilis) über alle Termine und Insektizidstufen

Ort	Vergleich ¹⁾	Biomasse	Katalase	DMSO	Glucosidase	Arginin
Baumannshof	Nov./Nob.	nein ²⁾	nein	nein	nein	nein
	Nav./Ant.	nein	nein	nein	nein	nein
Grub	Nov./Nob.	nein	nein	nein	nein	nein
	Nav./Ant.	nein	nein	nein	nein	nein
Neuhof	Nov./Nob.	nein	nein	nein	< ³⁾	nein
	Nav./Ant.	nein	nein	nein	nein	nein
Puch	Nov./Nob.	nein	nein	> ⁴⁾	nein	> ⁴⁾
	Nav./Ant.	nein	nein	< ³⁾	nein	nein
alle Orte	Nov./Nob.	nein	nein	nein	nein	nein
	Nav./Ant.	nein	nein	nein	nein	nein

¹⁾ Nov./Nob. = Novelis-Bt/Nobilis-konv.; Nav./Ant. = Navares-Bt/Antares-konv.

nein²⁾ = kein signifikanter Unterschied

<³⁾ = Bt-Mais signifikant kleinerer Wert

>⁴⁾ = Bt-Mais signifikant größerer Wert

Tab. 2: Multivariate Varianzanalyse mit Biomasse, Katalase, DMSO, Glucosidase, Arginin

- Vergleich Novares/Antares und Novelis/Nobilis		
Statistik (nach SAS)	Überschreitungswahrscheinlichkeit *)	
	Navares/Antares	Novelis/Nobilis
Wilks' Lambda	0,9916	0,8486
Pillais Trace	0,9916	0,8486
Hotelling-Lawley Trace	0,9916	0,8486
Roy's Greatest Root	0,9916	0,8486

*) Alle vier Statistiken bestätigen die Nullhypothese, d.h. Bt-Sorte unterscheidet sich nicht von der konventionellen Sorte ($P > 0,05$).

Beispiel 0,9916: Für einen behaupteten Unterschied zwischen beiden Sorten müsste man eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 99,16 % in Kauf nehmen.

Tab. 3: Veränderung (%) der bodenmikrobiologischen Kenngrößen beim Vergleich Bt-Mais/konventioneller Mais auf Bodendauerbeobachtungsflächen (Erläuterungen siehe Text)

BDF- Flächen/Jahr	mikrobielle Biomasse $\mu\text{g C/g TS}$	Katalase- zahl	DMSO- Reduktase DMS/g TS/h	β -Glucosidase Saliginin/g TS/3 h	Arginin- desaminase $\mu\text{g N/g TS/h}$
BDF A / 2002	6	-4	-1	-3	3
BDF B / 2002	3	12	2	0	5
BDF C / 2001	0	-2	15	-5	0
BDF C / 2002	-4	1	-2	-7	2
BDF D / 2001	-6	-6	-5	-3	-3
BDF E / 2001	1	-2	5	1	-3
BDF F / 2001	4	6	7	2	-2

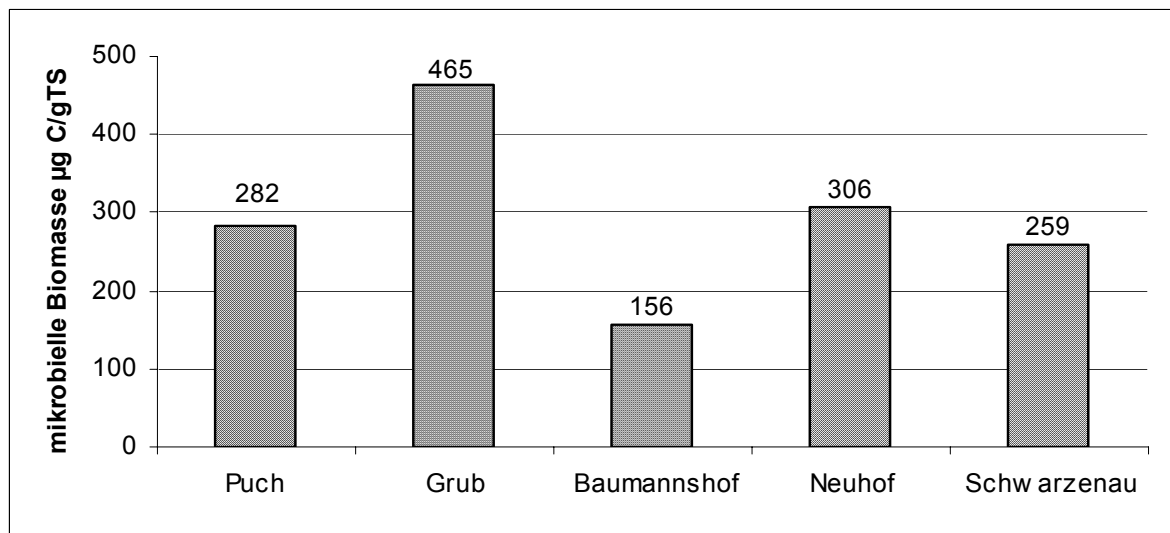


Abb. 1: Durchschnittlicher mikrobieller Biomassegehalt an den Versuchsstandorten

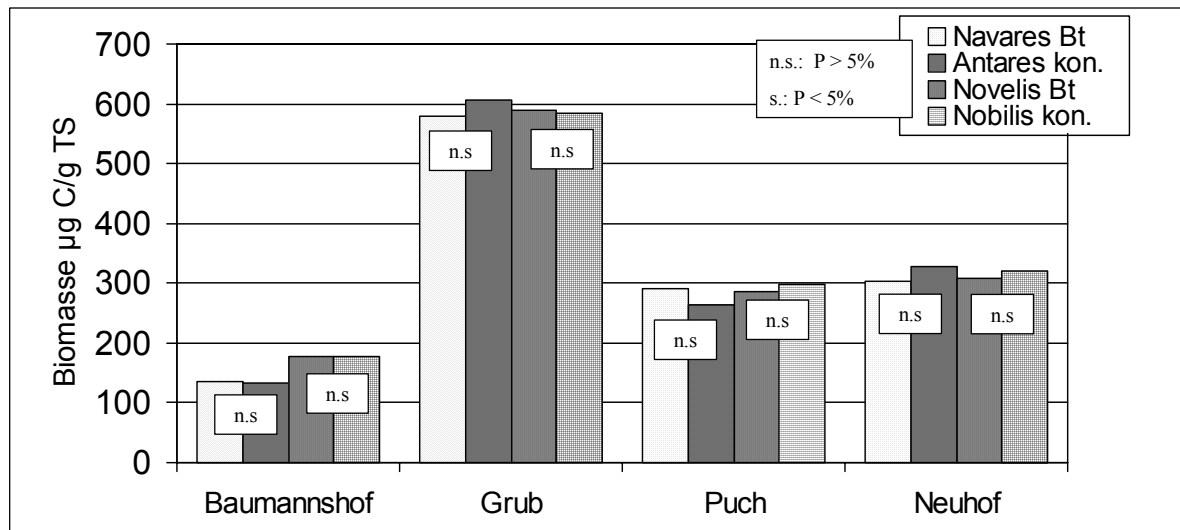


Abb. 2: Mittelwerte Biomasse und t-Test für Paarvergleich Bt-Mais/konventionell über alle Termingruppen und beide Insektizidstufen

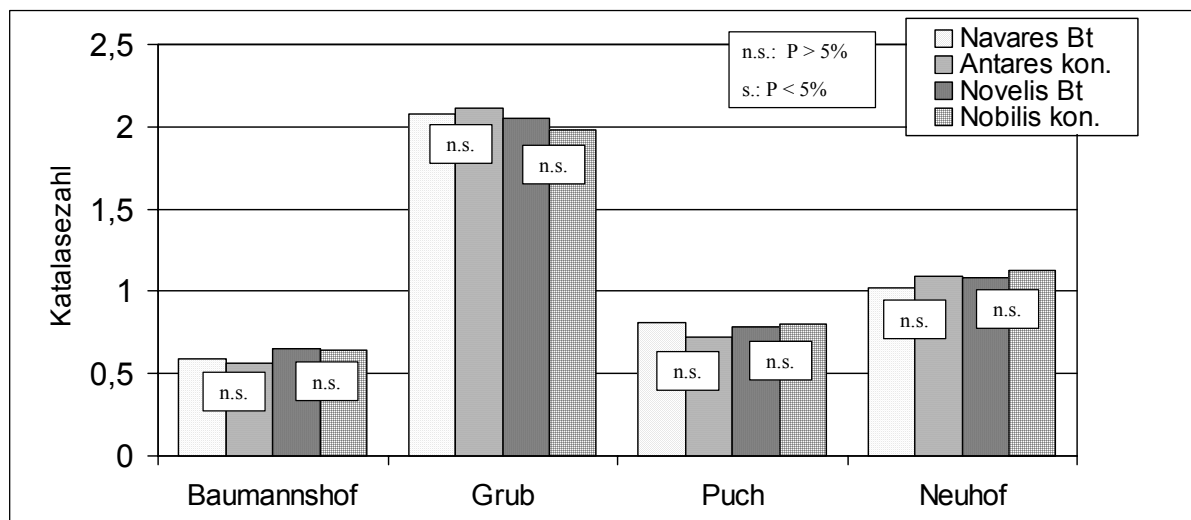


Abb. 3: Mittelwerte Katalasezahl und t-Test für Paarvergleich Bt-Mais/konventionell über alle Termingruppen und beide Insektizidstufen

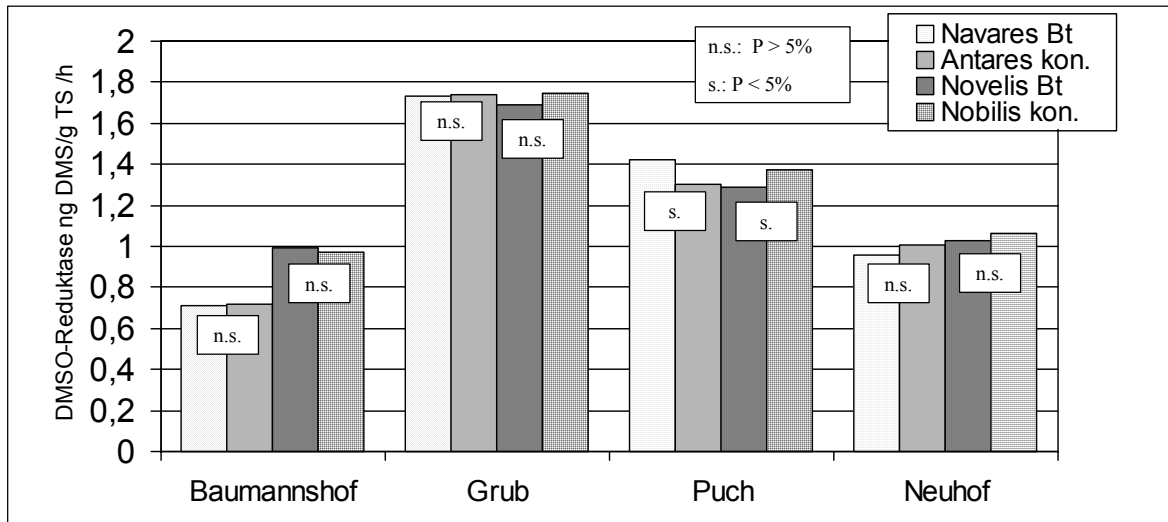


Abb. 4: Mittelwerte DMSO und (t-Test) für Paarvergleich Bt-Mais/konventionell über alle Termingruppen und beide Insektizidstufen

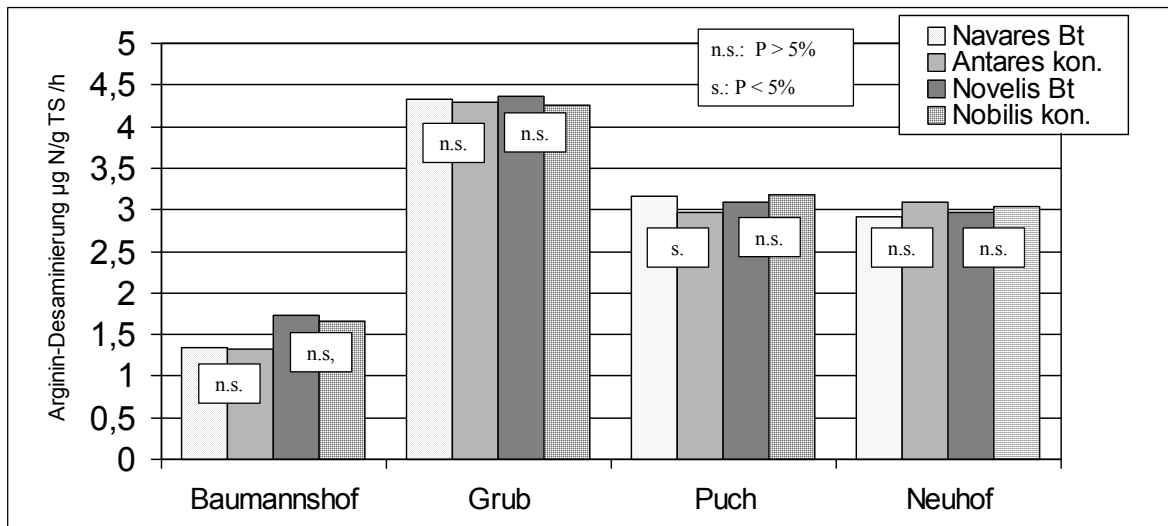


Abb. 5: Mittelwerte Arginin und t-Test für Paarvergleich Bt-Mais/konventionell über alle Termingruppen und beide Insektizidstufen

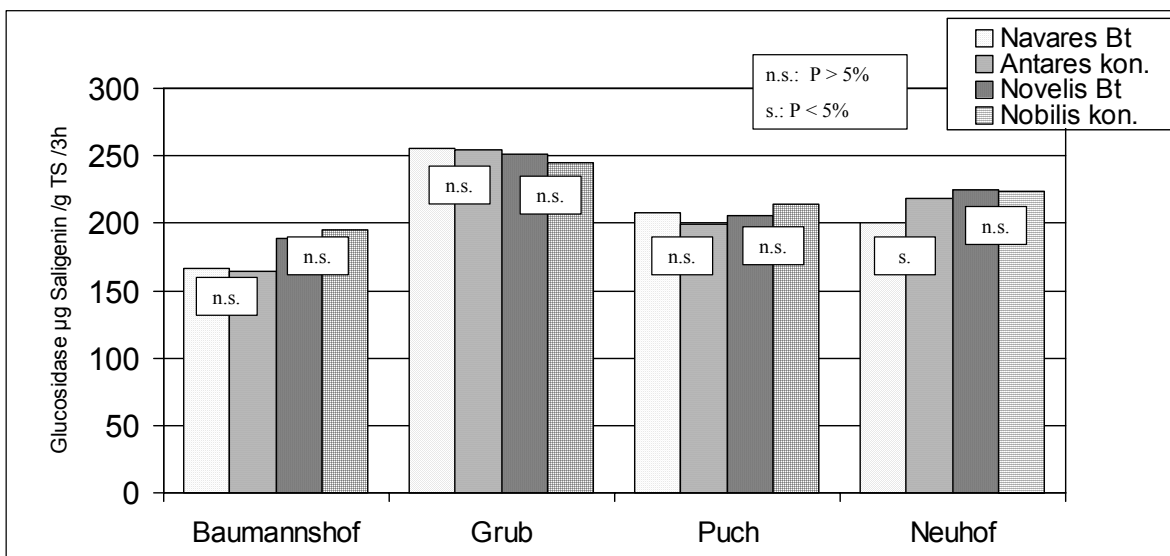


Abb. 6: Mittelwerte β -Glucosidase und t-Test für Paarvergleich Bt-Mais/konventionell über alle Termingruppen und beide Insektizidstufen

Literaturverzeichnis

Alef, K. und Kleiner, D. (1989): Rapid and sensitive determination of microbial activity in soils and in soils aggregates by dimethylsulfoxid reduction. *Biol. Fertil Soils* 8, 349 – 355.

FIFRA SAP Report. 2001.

Mücher, T. (2004): Untersuchung möglicher Effekte von transgenem, insektenresistentem Mais (Bt-Mais) auf Nichtzielorganismen im Boden, sowie Analyse und Bewertung von Beifußpopulationen (*Artemisia vulgaris* L.) des Maiszünslers (*Ostrinia nubilalis* Hbn.) als Mittel der Resistenzverzögerung . Diss: RWTH-Aachen.

Saxena, D. und Stotzky, G. (2001): *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin released from root exudates and biomass of Bt corn has no apparent effect on earthworms, nematodes, protozoa, bacteria and fungi in soil. *Soil. Biol. Biochem.*33, 1225-1230.

Schinner, F., Öhlinger, R., Kandeler, E. und Margesin, R. (1993): *Bodenbiologische Arbeitsmethoden*. 2. Aufl., Springer Verlag Berlin, Heidelberg.

3.4 Collembolen und Lumbriciden

3.4.1 Aufgabenstellung

Ziel der Untersuchungen war die Prüfung, ob der Anbau von Bt-Mais im Vergleich zu gentechnisch nicht veränderten Sorten sowie eine Insektizidbehandlung gegen den Maiszünsler im Vergleich zu insektizidfreiem Anbau negative Auswirkungen auf die Bodenfauna hat. Als Indikatororganismen dienten *Collembolen* (Springschwänze) und *Lumbriciden* (Regenwürmer), Tiergruppen, die aufgrund ihres Individuen- und Artenreichtums auf landwirtschaftlichen Flächen sehr gut eine quantitative und qualitative Veränderung des Bodens und des Nahrungsangebots durch Veränderung der Taxozönosen anzeigen können. Die Untersuchungen wurden auf fünf Großflächenversuchen an verschiedenen Standorten unter Dauermaisbau durchgeführt.

3.4.2 Umfassende Dokumentation und Auswertung der verwendeten Literatur

Über die Auswirkungen von Bt-Mais auf die Bodenfauna liegen bisher keine Ergebnisse aus echten Freilandversuchen mit natürlichen Populationen unter Praxisbedingungen vor. Die wenigen in der Literatur beschriebenen Untersuchungsansätze stammen aus Labor- oder „Halbfreilanduntersuchungen“ mit jeweils nur einer Art und sind damit auf landwirtschaftliche Flächen nur bedingt übertragbar. Goy et al. (1995) sowie Saxena und Stotzky (2001) untersuchten in Fütterungsversuchen im Labor die Auswirkung von Bt-Mais auf den Kompostwurm *Eisenia foetida* bzw. auf die Freilandform *Lumbricus terrestris*. Goy et al. hielten *E. foetida* in Kunsterde, der sie Blattextrakte von Bt- und Nicht-Bt-Mais beimischten. Nach 14 Tagen waren alle Tiere noch am Leben und hatten gleiche Gewichtszunahmen. Saxena und Stotzky benutzten für ihre Untersuchungen die Mineralbodenart *L. terrestris*. Sie hielten je 20 geschlechtsreife Tiere in Plastiktöpfen, die mit Mineralboden gefüllt und mit Bt- und Nicht-Bt-Mais bepflanzt waren. Nach 40 Tagen Versuchsdauer bei 24 °C und Tag/Nacht-Beleuchtung zeigte sich kein Unterschied bezüglich der Mortalität und der Biomasse. Zum gleichen Ergebnis kamen Topfversuche mit Mineralboden, in den Bt- und Nicht-Bt-Maisstroh eingemischt war. Das Bt-Toxin war unmittelbar nach Beendigung des Versuchs im Darm und im Kot der Regenwürmer nachzuweisen, konnte aber bereits 2-3 Tage nach Umsetzung der Würmer in frische Erde nicht mehr festgestellt werden.

Zwahlen et al. (2003) prüften in Labor- und „Halbfreilandversuchen“ den Einfluss des Bt-Toxins auf *L. terrestris*. Im Labor erfolgten dazu Fütterungsversuche an adulten Tieren in Glasröhrchen. Im Freiland wurden subadulte Tiere in Gazebeuteln, die mit Maisstroh und Erde gefüllt waren, 60 cm tief im Feld vergraben. Die Fütterungsversuche der Regenwürmer im Labor und im Freiland mit Nicht-Bt- oder Bt-Maisstroh dauerten 200 Tage. Geprüft wurde die Mortalität und die Gewichtsentwicklung der Tiere. Weder im Labor noch im Freilandversuch führte Bt-Mais zu einer höheren Mortalität. Im Laborversuch zeigte sich nach 160 Tagen Versuchsdauer (bei den adulten Tieren) ein signifikanter Gewichtsverlust bei der Gruppe, die mit Bt-Mais gefüttert wurden. Dies konnte im Freilandversuch (bei subadulten Tieren) nicht bestätigt werden. Unterschiede zwischen Labor- und Freilandversuchen ergaben sich auch bei der Abbaugeschwindigkeit des Bt-Toxins. Im Labor nahm der Toxingehalt des Maisstrohs zunächst stark ab und blieb dann bis Versuchsende auf konstant niedrigem Niveau. Im Freiland war der Toxingehalt des Maisstrohs zumindest bis zum 80. Versuchstag noch so hoch, dass er Zünslerlarven hätte abtöten können. Bei Versuchsende, nach 240 Tagen war das Toxin nur noch in geringen Men-

gen nachweisbar. Dem Versuch von Zwahlen et al. (2003) kommt deshalb eine große Bedeutung zu, weil hier die Reaktion der Regenwurm-Freilandart *L. terrestris* nicht nur in einem Laborversuch, sondern erstmals auch in einem „Halbfreilandversuch“ getestet wurde.

Über die Reaktion von *Collembolen* auf Bt- und Nicht-Bt-Mais gibt es nur wenig Veröffentlichungen. Deeb et al. (2003) fanden in Feldversuchen keine signifikanten Unterschiede zwischen Parzellen mit Bt-Mais und Nicht-Bt-Mais. Allerdings handelte es sich dabei um eine gegen Maiswurzelbohrer gentechnisch veränderte Sorte mit dem Cry3b Toxin.

3.4.3 Voraussetzungen, unter denen die Arbeiten durchgeführt wurden

Im Unterschied zu den in 3.4.2 dargestellten Arbeiten wurden die vorliegenden Untersuchungen im Freiland unter Praxisbedingungen durchgeführt. Auf Flächen mit Dauermais-anbau wurden Bt-Mais und Nicht-Bt-Mais und Insektizid- und Nicht-Insektizid-Parzellen verglichen. Der Dauermais-anbau ist als „worst case“ für eine Bt- bzw. Insektizidbelastung in der landwirtschaftlichen Praxis zu werten. Die vorliegenden Untersuchungen wurden im zweiten und dritten Jahr des Anbaus durchgeführt. Somit war gewährleistet, dass to-xinhaltige Wurzelausscheidungen, Pollen und die Abbauprodukte von Pflanzenresten bereits in die natürliche Nahrungskette gelangt waren. Ein weiterer Vorteil des Freilandversuches ist, dass die natürlich vorhandenen, artenreichen Taxozönosen geprüft werden konnten. Nachteile der Freilanduntersuchungen sind die manchmal sehr heterogene Verteilung der Tiere, eine z.T. geringe Besiedlungsdichte und die Einflüsse der unterschiedlichen Standort- und Witterungsfaktoren.

Die Versuche wurden auf Großparzellen (30 x 50 m) an fünf Standorten auf den Staatsgütern Baumannshof, Grub, Neuhof, Puch und Schwarzenau durchgeführt. Durch die breite Streuung der Versuchsstandorte über Bayern war es möglich, eventuelle Auswirkungen des Bt-Maises und der Insektizidmaßnahmen unter verschiedenen Boden- und Witterungsbedingungen zu prüfen. Die Versuche waren auf allen Standorten gleichartig angelegt (Abb.1). In einem ersten Block lagen vier Parzellen mit den Maissorten Bt 176 „Navares“, der isogenen Sorte „Antares“, sowie Bt MON 810 „Novelis“ und der isogenen Sorte „Nobilis“ nebeneinander. In einem zweiten Block standen die gleichen Sorten mit einer Insektizidanwendung. Die Versuchsflächen befanden sich inmitten eines größeren Maisschlags, sodass keine Randeinwirkungen durch andere Kulturpflanzen zu befürchten waren.

Für die Auswertung der Untersuchungen wäre es günstiger gewesen, wenn es auf den einzelnen Versuchsstandorten Versuchswiederholungen gegeben hätte. Nachdem dies aus versuchstechnischen Gründen nicht möglich war, wurden die Versuche von verschiedenen Standorten als Wiederholungen gewertet.

Da *Collembolen*- und *Lumbriciden*-Taxozönosen an der LfL schon in verschiedenen Projekten untersucht wurden (Bauchhenß, 1977, 1989, 1997, 1998), waren die technischen Voraussetzungen und Kenntnisse für die vorliegende Arbeit vorhanden.

3.4.4 Planung und Ablauf der Arbeiten

Die Untersuchungen wurden aus arbeitstechnischen Gründen auf fünf Großparzellen mit Dauermaisbau beschränkt, weil hier im Vergleich zu praxisüblichen Fruchtfolgen am ehesten mit Auswirkungen des Bt-Toxins zu rechnen ist.

Für die Prüfung der *Collembolen* wurden die Proben in 2001 und 2002 jeweils im Sommer oder im Herbst gezogen (Tab 1). Im Sommer erfolgte die Beprobung auf den Parzellen ohne Insektizid, im Herbst auf den Parzellen mit Insektizid (Novelis+I; Nobilis+I). Die Sommerproben dienten somit dem Vergleich Bt-Mais und Nicht-Bt-Mais, die Herbstproben dagegen in erster Linie dem Vergleich Insektizid und Nicht-Insektizid.

Für die *Lumbriciden*-Untersuchungen wurden nur im Herbst 2001 und 2002 auf ausgewählten Versuchsgliedern Proben gezogen und zwar auf folgenden Parzellen: Navares, Antares, Novelis und Nobilis sowie Nobilis+I. Da eine Schädigung der *Lumbriciden* durch das Insektizid nicht zu erwarten war, erschien die Untersuchung nur einer Insektizidparzelle als ausreichend.

3.4.5 Zusammenstellung der Gesamtproblematik und bisher bekannt gewordener Ergebnisse auf dem Gebiet der Aufgabenstellung

Beim Anbau transgener Nutzpflanzen ist es unabdingbar, deren Wirkung auf die Umwelt zu kennen. Nur so können Schädigungen der Biozönose bei großflächigem und langfristigen Anbau vermieden werden. Deshalb sind mehrjährige Untersuchungen der Gesamtbiozönose unter Praxisbedingungen notwendig. Die in 3.4.2 zitierten Arbeiten erfassen nur Teilaspekte durch Labor- oder Halfreilandversuche, weshalb die Untersuchungen unter Praxisbedingungen zu ergänzen sind. Dies konnte durch die vorliegenden Freilandversuche mit Dauermaisbau realisiert werden. Es wurden *Collembolen*- und *Lumbriciden*-Untersuchungen im 2. und 3. Jahr eines Dauermaisbaus durchgeführt. Durch den Daueranbau von Mais war gewährleistet, dass dessen Abbauprodukte zu Beginn der Untersuchungen bereits im Boden vorlagen und in unterschiedlichen Verrottungsstadien zusammen mit ihrem Pilz- und Bakterienbewuchs den *Collembolen* und *Lumbriciden* als Nahrungsquelle zur Verfügung standen. Zwangsläufig erfolgte somit die Inkorporation des Bt-Konstrukts bzw. von Crylab-Toxin über den Nahrungsweg.

Collembolen und *Lumbriciden* sind geeignete Testobjekte, weil sie eine wichtige Rolle im Nährstoffkreislauf innehaben, die Bodenstruktur verbessern und sich als *Detritus*fresser ausschließlich von verrottenden pflanzlichen Substanzen in verschiedenen Abbaustadien ernähren.

3.4.6 Angewandte wissenschaftliche und technische Methoden

Um subjektive Einflüsse bei der Untersuchung durch das Laborpersonal auszuschließen, erfolgten sämtliche Auszählungen und Artbestimmungen der Proben unter verdeckter Kennzeichnung.

***Collembolen*-Proben**

Für die *Collembolen*-Untersuchungen wurden pro Parzelle 20 Proben gezogen, die in zwei 7 Meter breiten Streifen, 5 Meter rechts und links der Mittellinie und 15 m vom unteren und oberen Parzellenrand entfernt, lagen. Die Proben wurden jeweils mit einem in der Bodenphysik gebräuchlichen 100 ml Stechzylinder an ungestörten Stellen zwischen den Saatreihen entnommen. Der 4 cm hohe Stechzylinder wurde so tief eingeschlagen, dass

der obere Rand mit der Bodenoberfläche abschloss. Die Stechzylinder wurden, mit zwei Deckeln versehen, in Kühltaschen ins Labor gebracht. Noch am gleichen Tag wurde mit der Austreibung der Tiere begonnen, indem die Proben zwei Tage auf 25°C, zwei weitere Tage auf 30°C und den letzten Tag auf 35°C erwärmt wurden. Die Temperatur im Trichterinneren lag dabei jeweils etwa 10 °C niedriger. Die ausgetriebenen Tiere wurden in Vorlagen mit 96 % Alkohol abgetötet und konserviert und unter dem Binokular ausgelesen und den Familien zugeordnet. Die Determination erfolgte anhand von aufgehellten Präparaten unter dem Mikroskop nach Gisin (1960) und Palissa (1964). Juvenile Tiere wurden grundsätzlich keiner Art zugeordnet. Sie sind in den Artenlisten summarisch aufgeführt.

Lumbricidenproben

Für die *Lumbriciden*-untersuchungen wurden **pro Parzelle 10 Proben** gezogen. Die Proben wurden im Mittelbereich der Parzellen, bis zu 5 m rechts und links der Mittellinie und 15 m vom unteren, bzw. oberen Rand entfernt gezogen. **Pro Parzelle** wurden in diesem Innenraum **10 Proben** von je einem Quadratmeter Fläche genommen. Die Probennahme erfolgte mittels der „Formalinmethode“ (2x10l 0,2% Lösung). Die Tiere wurden in 96 % Alkohol abgetötet und konserviert. Die Artbestimmung erfolgte unter dem Binokular nach Wilcke (1967), Bouche (1972) und nach Herr (1987). Die Biomasse wurde nach Bauchhenß (1981) aus dem Volumen berechnet. Juvenile Tiere wurden grundsätzlich nicht bestimmt. Sie sind in den Artenlisten summarisch aufgeführt.

Statistik

Bodentiere sind in der Regel nicht normal verteilt. Zur Absicherung möglicher Unterschiede wurden daher parameterfreie statistische Methoden gewählt. Für die weitere Auswertung wurde aus den 20 Messwiederholungen bei *Collembolen* und den 10 Messwiederholungen bei *Lumbriciden* für jeden Termin und Ort sowie jede Großparzelle der Median gebildet.

Die Hypothese (H_0), dass zwischen Bt-Mais und Nicht-Bt-Mais kein Unterschied bezüglich der Anzahl der *Collembolen* und der Anzahl, sowie dem Gewicht der *Lumbriciden* besteht, wurde mit dem Wilcoxon-Test für Paardifferenzen (Sachs 1992) überprüft. Die Differenz der Mediane zwischen Bt-Mais und der entsprechenden Nicht-Bt-Mais Variante wird gegen $\mu=0$ getestet. Mit diesem Test wird des weiteren überprüft, ob zwischen den mit Insektizid behandelten Versuchsgliedern und den entsprechenden Varianten ohne Insektizid ein signifikanter Unterschied besteht.

Analog wurden als Nebenhypothesen die Unterschiede zwischen Bt-Mais und Nicht-Bt-Mais sowie zwischen Insektizid und Nicht-Insektizid bei der *Collembolen*-Gesamtindividuumdichte sowie in den *Collembolen*-Familien und *Collembolen*-Arten und der Gesamtindividuumdichte der *Lumbriciden* sowie bei einzelnen *Lumbriciden*-arten und deren Biomasse getestet. Des weiteren wurde für jeden Untersuchungstermin für *Collembolen*, deren Familien und Arten, sowie für *Lumbriciden*, deren Biomasse und Arten auf Unterschiede zwischen den Varianten mit dem Kruskal-Wallis Test (Sachs 1992) überprüft. Die Darstellung der Ergebnisse der Nebenhypothesen erfolgt in grafischer Form und soll nicht als schließende Statistik beurteilt werden. Mit einer anschließenden Varianzanalyse wurden die Faktoren Jahr, Ort, Bt-Mais, und Insektizid hinsichtlich ihrer Gewichtung ausgewertet.

Für die Beratung bei der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse und die Durchsicht des Manuskripts danke ich Herrn Peter Eiblmeier.

3.4.7 Während der Durchführung des Forschungsvorhabens bekannt gewordene Fortschritte auf diesem Gebiet bei anderen Stellen

Während der Laufzeit des Forschungsvorhabens wurden die in 3.4.2 zitierten Arbeiten von Saxena und Stotzky (2001) und Zwahlen et al. (2003) bekannt. Da es sich hierbei um Labor- und „Halbfreiland“-Untersuchungen an jeweils nur einer Art handelt, brachten diese Ergebnisse für die vorliegende Arbeit keinen wesentlichen Erkenntnisgewinn. Die 2003 erschienene Arbeit von Deeb et al., in der Freilanduntersuchungen an *Collembolen* dargestellt werden, hat die hier gewonnenen Ergebnisse bestätigt. Allerdings handelte es sich dabei um eine gentechnisch veränderte Maissorte mit einem anderem Bt-Toxin, welches eine Resistenz gegen den Maiswurzelbohrer verleiht.

3.4.8 Darstellung und Bewertung der Ergebnisse

Familien- und Artenspektren der *Collembolen*

Insgesamt wurden 21.614 *Collembolen* ausgelesen und nach Familien geordnet. Die *Isotomiden* waren mit 9548 Individuen am häufigsten vertreten, gefolgt von *Onychuriden* mit 7.319, *Entomobryiden* mit 3.289, *Poduriden* mit 869 und *Sminthuriden* mit 589 Individuen. Vergleiche Tab. 3 und Abb. 3. Am Baumannshof war die Individuendichte in 320 100-ml-Proben mit 7.466 Tieren am höchsten, gefolgt von Grub mit 4.950, Puch mit 3.717, Schwarzenau mit 2.941 und Neuhof mit 2.549 Tieren. Bei den *Isotomiden* der Sommer- und Herbstproben des Jahres 2001 (6.152 Individuen) wurden die Arten determiniert. Insgesamt waren 14 Arten, allerdings mit sehr ungleicher Verteilung, vertreten (vergleiche Tab.4). Die Arten *I. notabilis*, *F. fimetaria* und *F. listeri* kamen auf allen Versuchsstandorten vor, *I. notabilis* mit insgesamt 2.204, *F. fimetaria* mit 116 und *F. listeri* mit 190 Individuen. Auf vier Standorten kamen vor: *F. candida*, *F. quadrioculata*, *I. viridis*, *I. minor* und *I. palustris*.

Artenspektrum der Regenwürmer

Insgesamt wurden 18.655 Regenwürmer ausgezählt und bestimmt. Es waren 10 Arten vertreten (vergl. Tabelle 4). Die häufigste Art war *Allolobophora caliginosa* mit 2.478 Tieren. Diese ist auf allen Untersuchungsstandorten vertreten. Am häufigsten kommt diese Art in Puch, Grub und am Neuhof vor. *Lumbricus terrestris* war mit insgesamt 690 Tieren als zweithäufigste Art, ebenfalls auf allen Untersuchungsstandorten vertreten. Am häufigsten kommt *L. terrestris* in Grub, am Neuhof und in Puch vor. Es folgen *A. chlorotica*, *A. rosea* und *O. lacteum* mit insgesamt 578, 365 und 39 Tieren, die jeweils auf 3 Standorten zu finden waren. In Grub war die Individuendichte (Summe aus 50 1m²-Proben) mit 7592 Tieren am höchsten, gefolgt von Puch mit 5713, vom Baumannshof mit 2641, vom Neuhof mit 2236 und von Schwarzenau mit 473 Tieren.

Weder für die *Collembolen*-Gesamt-Individuendichte, die *Lumbriciden*-Gesamt-Individuendichte noch für die *Lumbriciden*-Biomasse konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Bt-Varianten und den Nicht-Bt-Varianten ermittelt werden. Auch der Vergleich der Insektizid- mit der Nicht-Insektizid-Variante erbrachte keinen signifikanten Unterschied für die *Collembolen*-Gesamt-Individuendichte, die *Lumbriciden*-Gesamt-Individuendichte und die *Lumbriciden*-Biomasse (Abb. 2). Die differenzierte Auswertung der *Collembolen*-Familien, *Collembolen*-Arten und der *Lumbriciden*-Arten erbrachte nur für den Vergleich der Insektizid-Variante mit der Nicht-Insektizid-Variante bei *Isotomiden* und *Entomobryiden* einen Hinweis auf vorliegende signifikante Unterschiede. Sowohl bei

Isotomiden als auch bei den *Entomobyriden* wurden dabei höhere Abundanzen in der Insektizid-Variante ermittelt (Abb. 3-7). Bei einer Auswertung der einzelnen Bt-Varianten und Insektizid-Varianten zu verschiedenen Messzeitpunkten ergab sich kein Hinweis auf signifikante Unterschiede (Abb. 8-21).

Weitere Auswertungen zeigten, dass sowohl der Ort als auch das Jahr der Probennahme signifikanten Einfluss auf die *Collembolen*-Gesamt-Individuendichte hatten. Für die *Lumbriciden*-Gesamt-Individuendicht und die *Lumbriciden*biomasse konnte im Jahr der Erhebung für den Ort der Probennahme ein signifikanter Einfluss bestimmt werden. Eine Zusammenstellung der Ergebnisse der durchgeführten Varianzanalyse ist in Tabelle 6 dargestellt.

Die methodische Problematik bei der Bestimmung von *Lumbriciden*-Taxozönosen und *Collembolen*-Taxozönosen erfordert einen erheblichen Arbeitsaufwand (Bauchhenß, 1977). Mit den durchgeführten Arbeiten (Artbestimmung von 18600 Regenwürmern und Bestimmung der Familie von 21000 *Collembolen*) konnte daher nur ein geringes Spektrum der möglichen relevanten Anbauszenarien für Bt-Mais und eventueller Anreicherungs Vorgänge des Bt-Toxins hinsichtlich *Lumbriciden* und *Collembolen* methodisch korrekt geprüft werden. Unter diesen Bedingungen beeinflusste sowohl der Ort, als auch das Jahr die *Collembolen*-Taxozönosen. Für *Lumbriciden*-Taxozönosen konnte in dem Jahr der Beprobung ein signifikanter Ortseinfluss festgestellt werden. Es ergaben sich Hinweise, dass eine Insektizidapplikation die *Collembolen*-Taxozönosen positiv beeinflusst. Hinsichtlich Bt-Mais konnte für die beiden Sorten Navares und Nobelis vorerst kein Einfluss auf *Lumbriciden*-Taxozönosen und *Collembolen*-Taxozönosen festgestellt werden.

Es ist zu wünschen, dass die Untersuchungen, speziell an *Collembolen* und *Lumbriciden* weitergeführt werden können. Dabei wäre es wichtig, auf Parzellen mit echten Wiederholungen arbeiten zu können.

3.4.7 Zusammenfassung

Ziel der Arbeit war es festzustellen, ob und inwieweit ein großflächiger Anbau von Bt-Mais (Navares, Novelis) im Vergleich zu Nicht-Bt-Mais (Antares und Nobilis) und die Anwendung eines Insektizids (Baythroid, gegen den Maiszünsler) im Vergleich zu Nicht-Insektizid quantitative und qualitative Auswirkungen auf die *Collembolen*- und die *Lumbriciden*-Taxozönosen haben kann.

Collembolen und *Lumbriciden* gelten als Indikatororganismen für die Bodenfauna. Veränderungen des Bodens und vor allem des Nahrungsspektrums sind sehr gut an der Veränderung ihrer Taxozönosen zu erkennen (Bauchhenß 1977, 1989, 1997, 1998). Sie ernähren sich von pflanzlichen Abbauprodukten und deren mikrobiellem Besatz. Durch diese Ernährungsweise ist gewährleistet, dass die Tiere im zweiten und dritten Jahr des Dauermaisbaus sich von den Abbauprodukten der jeweiligen Maissorte ernähren müssen.

Die Untersuchungen fanden auf Großparzellenversuchen statt, die an fünf verschiedenen Standorten auf Staatsgütern in Bayern wiederholt wurden. In jedem Versuch wurden auf Parzellen von 30x50 Metern, die Sorten Bt-Navares, Antares, Bt-Novelis und Nobilis, jeweils mit und ohne Insektizidanwendung im Daueranbau angebaut.

Die Probennahme wurde bei *Collembolen* mit 100 ml Stechzylindern durchgeführt, die in Kühlflaschen ins Labor gebracht und noch am gleichen Tag ausgelesen wurden. Bei

Lumbriciden erfolgte die Austreibung mittels einer 0,2 % Formalinlösung in der Zeit voller Aktivität der Tiere.

Die *Collembolen*-Proben wurden in den Jahren 2001 und 2002 im Sommer und Herbst, bei *Lumbriciden* entweder 2001 (Schwarzenau) oder 2002 (alle übrigen Standorte) im Herbst gezogen.

Bei *Collembolen* wurden pro Probenentnahme und Parzelle 20 100 ml Proben genommen, bei *Lumbriciden* 10 1m² Proben. Die *Collembolen* (21.600 Tiere) wurden aus den Berlese-Vorlagen ausgelesen und den Familien zugeordnet. Die *Isotomiden* des Untersuchungsjahres 2001 (6.150 Tiere) wurden bis zur Art bestimmt. Bei *Lumbriciden* (18.600 Tiere) wurden alle Tiere bis zur Art bestimmt.

Für die Auswertung wurde bei *Collembolen* aus 20 Parallelproben einer Parzelle und bei *Lumbriciden* aus 10 Parallelproben der Median gebildet. Aufgrund dieser Medianwerte erfolgte die statistische Verrechnung der Ergebnisse nach dem Wilcoxon Test für Paardifferenzen und dem H-Test von Kruskal und Wallis (Sachs1992).

Die Parzellen von Bt-Mais und Nicht-Bt-Mais wiesen weder bei *Collembolen* noch bei *Lumbriciden* signifikante Unterschiede bezüglich der Abundanzwerte auf. Bei den *Collembolen*-Familien *Isotomidae* und *Entomobryidae* war die Individuendichte auf Insektizidparzellen signifikant höher als auf den Nicht-Insektizidparzellen. Dies konnte aber auf Artbasis nicht verifiziert werden.

Auch nach dem H-Test waren in keinem Fall signifikante negative Auswirkungen des Anbaus von Bt-Mais und der Anwendung eines Insektizids auf die *Collembolen*- und *Lumbriciden*-Taxozönosen der Untersuchungsflächen festzustellen. Die Untersuchung zeigt die Entwicklung nach dreijährigem Dauermaisbau. Sie sollte nach einigen Jahren und weiterem Dauermaisbau wiederholt und durch gleichzeitige Messungen des Toxingehalts im Boden komplettiert werden.

3.4.10 Anhang mit Tabellen, Abbildungen, Literaturverzeichnis

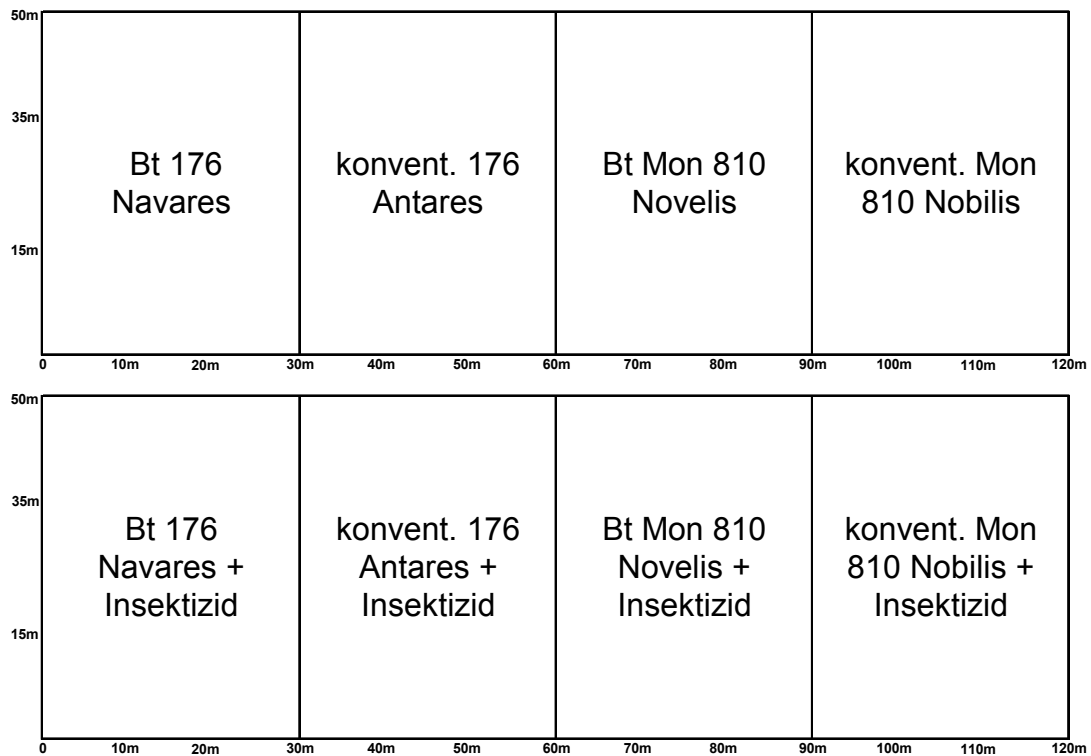


Abbildung 1: Versuchsplan

Tabelle 1: Probennahmetermine bei *Collembolen*

	Baumannshof	Grub	Neuhof	Puch	Schwarzenau
Sommer 2001	16.07.01	11.07.01	01.08.01	25.07.01	07.08.01
Herbst 2001	18.09.01	25.09.01	02.10.01	10.10.01	19.10.01
Sommer 2002	09.07.02	22.06.02	23.07.02	16.07.02	29.07.02
Herbst 2002	11.09.02	04.09.02	18.09.02	01.10.02	-----

Tabelle 2: Probennahmetermine bei *Lumbriciden*

	Baumannshof	Grub	Neuhof	Puch	Schwarzenau
Regenwurmproben	18.10.02	16.10.02	23.10.02	11.10.02	15.11.01

Tabelle 3: Abundanzwerte der *Collembolen*-Familien 2001/2002 (Summen aus 320 100ml Stechzylinderproben)

Collembolenfamilien	Baumannshof	Grub	Neuhof	Puch	Schwarzenau	Summe
Isotomidae	2306	3052	1212	2139	839	9548
Onychuridae	4475	790	705	1170	179	7319
Entomobryidae	399	656	147	219	1868	3289
Poduridae	147	381	336	4	1	869
Sminthuridae	139	71	140	185	54	589
Summe	7466	4950	2540	3717	2941	21614

Tabelle 4: Abundanzwerte der *Collembolen*-Arten 2001 (Summen aus 160 100 ml Stechzylinderproben)

Collembolenarten	Baumannshof	Grub	Neuhof	Puch	Schwarzenau	Summe
<i>Isotoma notabilis</i>	733	467	424	49	531	2204
<i>Isotomurus palustris</i>	0	278	142	1275	1	1696
<i>Isotomina thermophila</i>	473	7	3	0	0	483
<i>Folsomides parvulus</i>	0	318	0	7	0	325
<i>Folsomia listeri</i>	152	3	3	16	16	190
<i>Isotoma viridis</i>	22	16	129	0	4	171
<i>Folsomia fimetaria</i>	69	3	8	23	13	116
<i>Folsomia quadrioculata</i>	2	1	32	63	0	98
<i>Folsomia candida</i>	13	76	2	4	0	95
<i>Isotoma olivacea</i>	0	0	0	1	91	92
<i>Isotomiella minor</i>	44	0	9	1	1	55
<i>Folsomia multisetata</i>	0	0	0	34	0	34
<i>Folsomia spinosa</i>	16	0	0	1	0	17
<i>Isotoma violacea</i>	0	9	7	0	0	16
juvenil	251	180	33	74	22	560
Summe	1775	1358	792	1548	679	6152

Tabelle 5: Abundanzwerte der Regenwurmarten 2001 bzw 2002 (Summenwerte aus 50 1m²-Proben)

RW-Arten	Baumannshof	Grub	Neuhof	Puch	Schwarzenau	Summe
<i>A. caliginosa</i>	8	959	522	987	2	2478
<i>L. terrestris</i>	2	296	232	119	41	690
<i>A. chlorotica</i>	386	0	68	0	124	578
<i>A. rosea</i>	0	164	190	11	0	365
<i>L. rubellus</i>	54	0	0	119	0	173
<i>D. rubida</i>	71	4	0	0	0	75
<i>O. lacteum</i>	0	13	0	9	17	39
<i>A. longa</i>	0	2	0	0	0	2
<i>O. cyaneum</i>	0	0	0	0	1	1
<i>L. castaneus</i>	0	0	0	1	0	1
juvenil	2120	6154	1224	4467	288	14253
Summe	2641	7592	2236	5713	473	18655

Tabelle 6: A posteriori Varianzanalyse

Merkmal	Jahr	Ort	Bt	Insektizid
<i>Collembolen-Gesamtindividuen</i>	*	*	-	-
<i>Lumbriciden-Gesamtindividuen</i>	*	0	-	-
<i>Lumbriciden-Biomasse</i>	*	0	-	-

*) $p < 0.05$

-) $p \geq 0.05$

0) Keine Ergebnisse

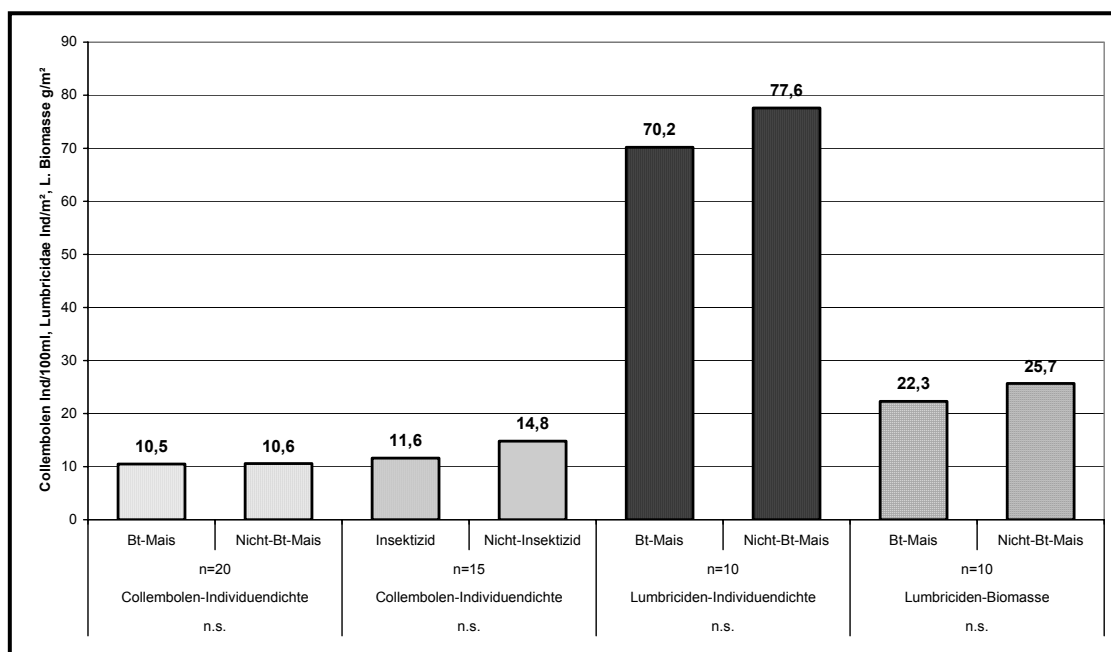


Abb. 2: Durchschnittliche Individuendichte und Biomasse der *Collembolen* und *Lumbriciden* auf Bt- und Nicht-Bt-Parzellen sowie Insektizid- und Nicht-Insektizid-Parzellen. Keine signifikanten Unterschiede (Wilcoxon-Test $p = 0,05$)

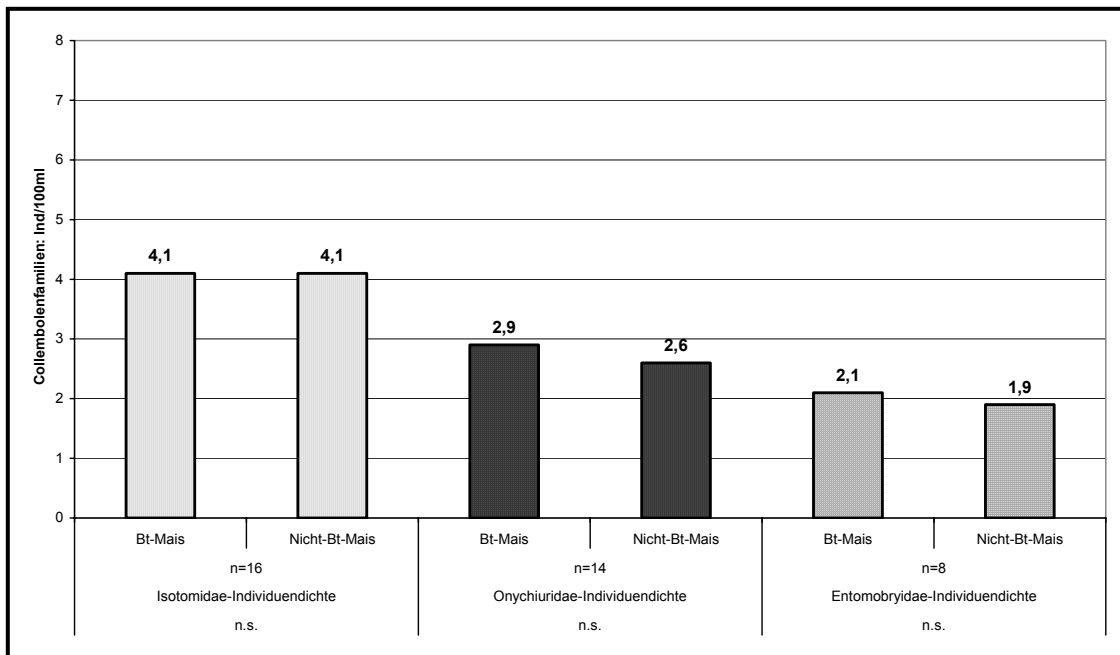


Abb. 3: Durchschnittliche Individuendichte und Biomasse der *Collembolen*familien Isotomidae, Onychiuridae und Entomobryidae (Familien mit der höchsten Individuendichte) auf Bt- und Nicht-Bt-Parzellen. Keine signifikanten Unterschiede (Wilcoxon-Test $p = 0,05$)

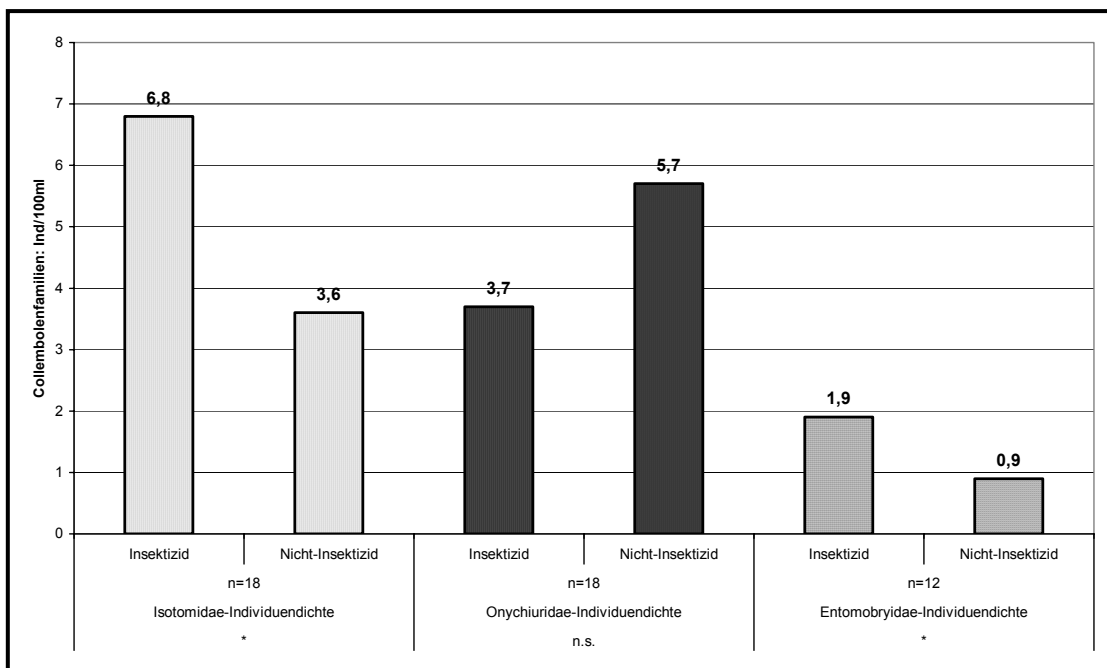


Abb.4: Durchschnittliche Individuendichte der *Collembolen*familien Isotomidae, Onychiuridae und Entomobryidae auf Insektizid- und Nicht-Insektizid-Parzellen. Die Werte für Isotomiden und Entomobryiden zeigen signifikante Unterschiede, die für Onychiuriden nicht (Wilcoxon-TEST; $p = 0,05$).

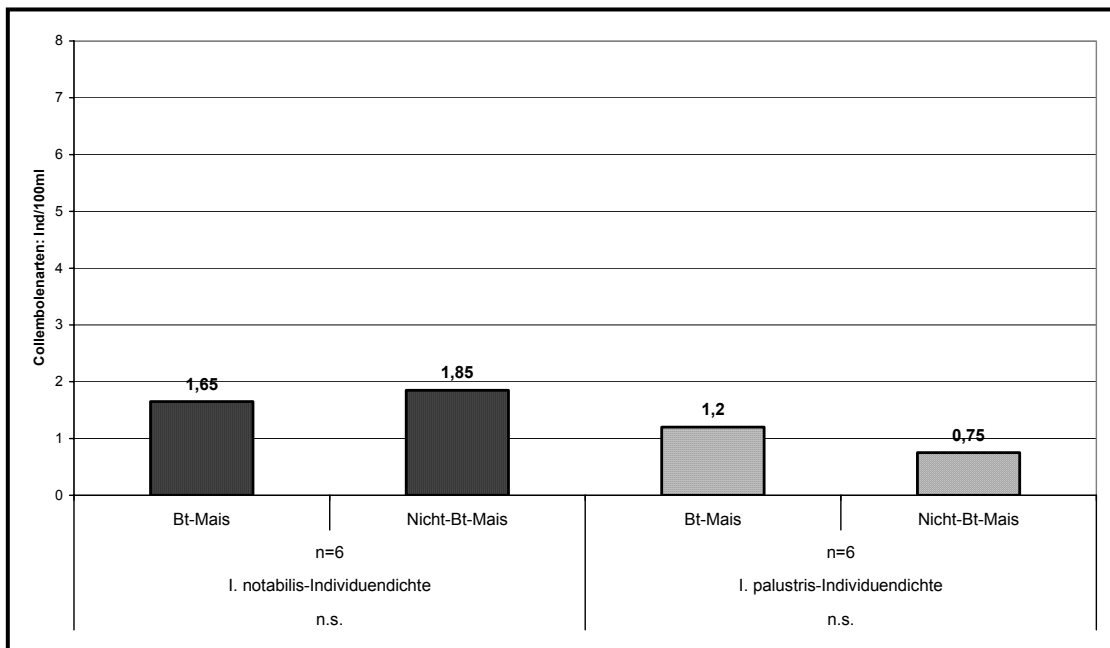


Abb. 5: Durchschnittliche Individuendichte der *Collembolen*arten *I. notabilis* und *I. palustris* (die Arten mit den höchsten Abundanzwerten) auf Bt-Mais- und Nicht-Bt-Mais-Flächen. Keine signifikanten Unterschiede (Wilcoxon-Test, $p=0,05$)

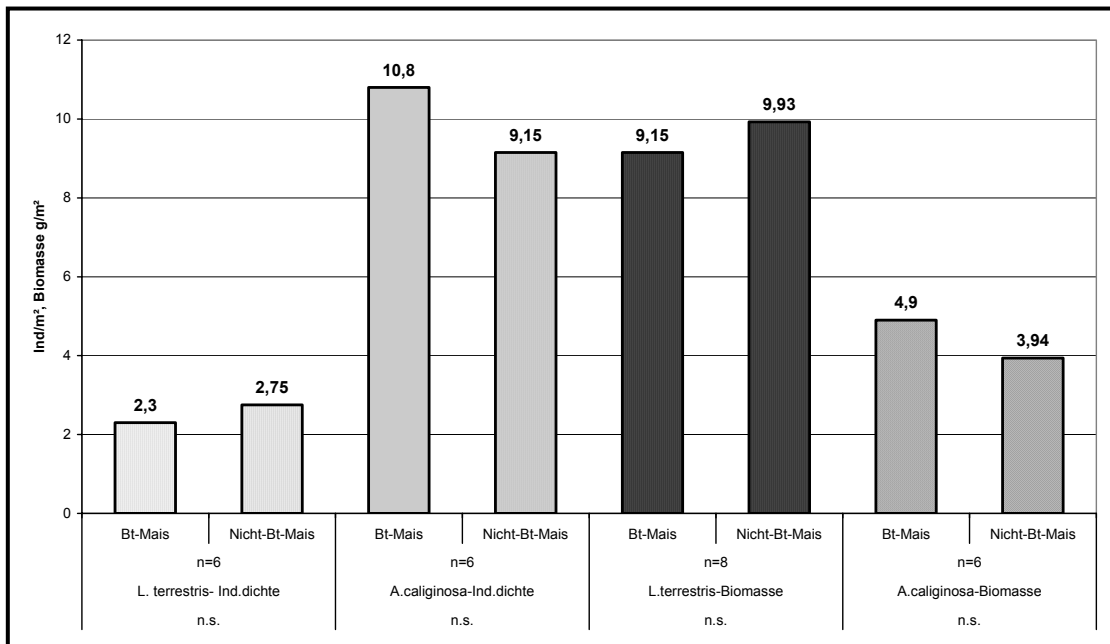


Abb.6: Durchschnittliche Individuendichte und Biomasse der *Lumbriciden*arten *A. caliginosa* und *L. terrestris* auf Bt-Mais und nicht Bt-Maisflächen. Die Abundanz- und Biomassewerte zeigen keine signifikanten Unterschiede. (Wilcoxon-TEST; $p = 0,05$).

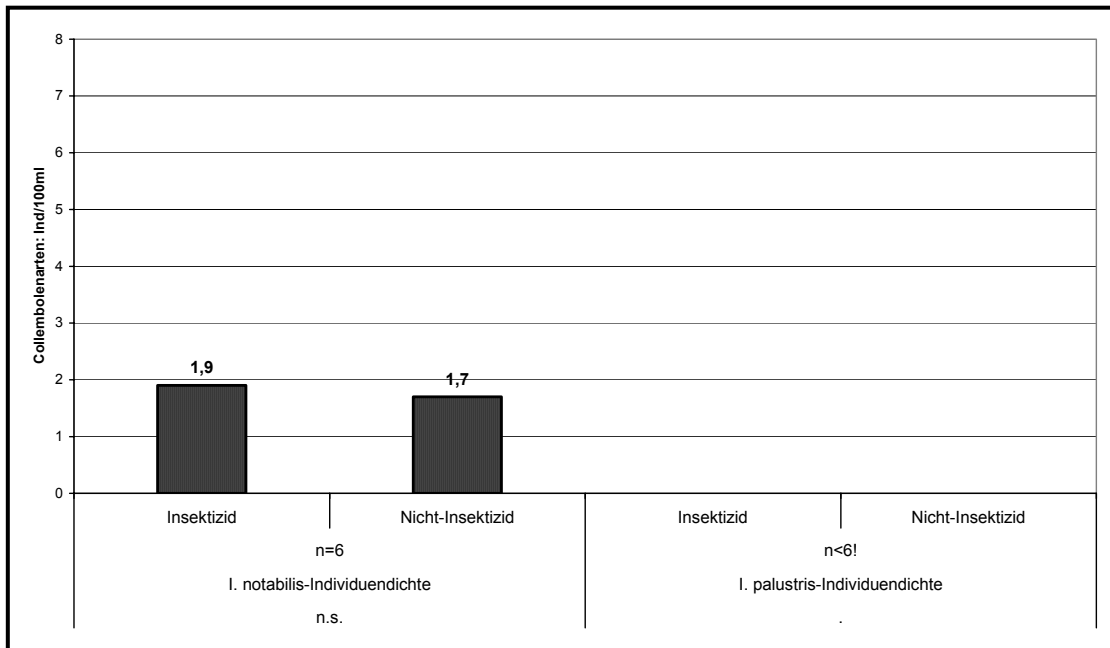


Abb.7: Durchschnittliche Individuendichte der *Collembola*arten *I. notabilis* und *I. palustris* auf Insektizid- und Nicht-Insektizid-Parzellen (bei *I. palustris* reichen die Wiederholungen für eine Bewertung nicht aus). Keine signifikanten Unterschiede (Wilcoxon-Test = $p > 0,05$).

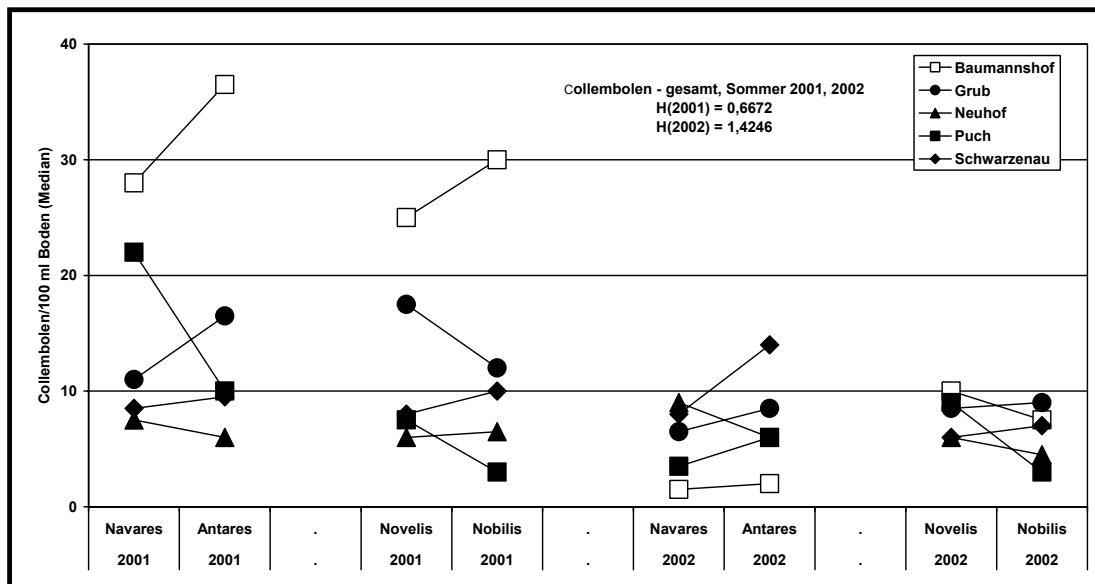


Abb. 8: Collembola-Gesamtindividuumdichte auf Bt-Navares-, Antares-, Bt-Novelis- und Nobilis-Parzellen, Medianwerte aus 20 Einzelproben, Sommer 2001 (links), Sommer 2002 (rechts).

Keine signifikanten Unterschiede (Kruskal-Wallis test, $p = 0,05$)

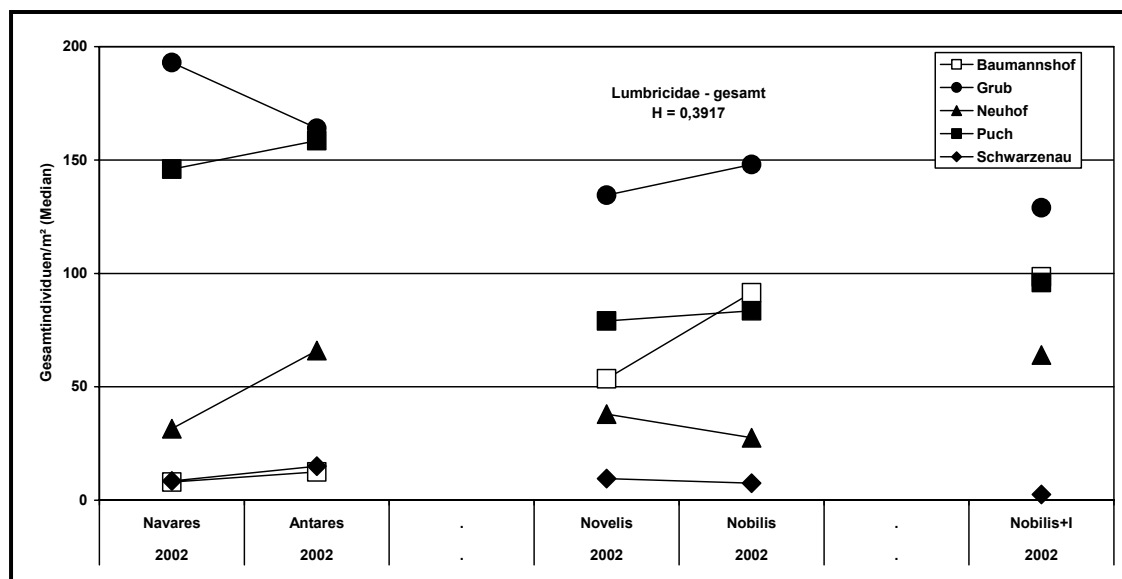


Abb. 9: Lumbricidae-Gesamtindividuidichte auf Bt-Navares-, Antares-, Bt-Novelis-, Nobilis- und Nobilis mit Insektizid (Nobilis+I)-Parzellen, Medianwerte aus 10 Einzelproben, Herbst 2002.

Keine signifikanten Unterschiede (Kruskal-Wallis Test $p = 0,05$)

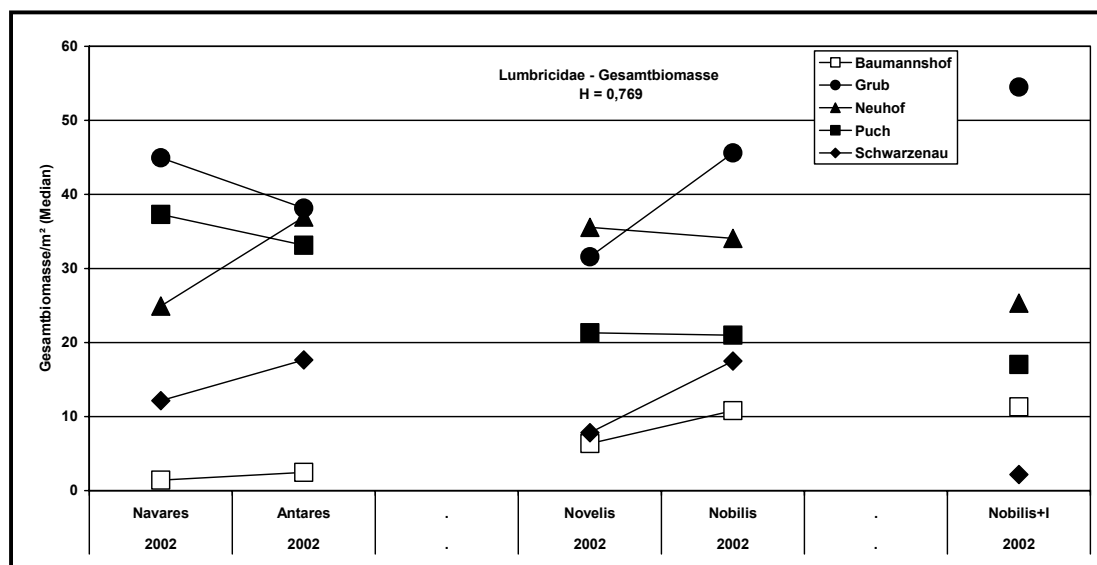


Abb. 10: Lumbricidae-Gesamtbiomasse, auf Bt-Navares-, Antares-, Bt-Novelis-, Nobilis- und Nobilis mit Insektizid (Nobilis+I)-Parzellen, Medianwerte aus 10 Einzelproben, Herbst 2002.

Keine signifikanten Unterschiede (Kruskal-Wallis Test $p = 0,05$)

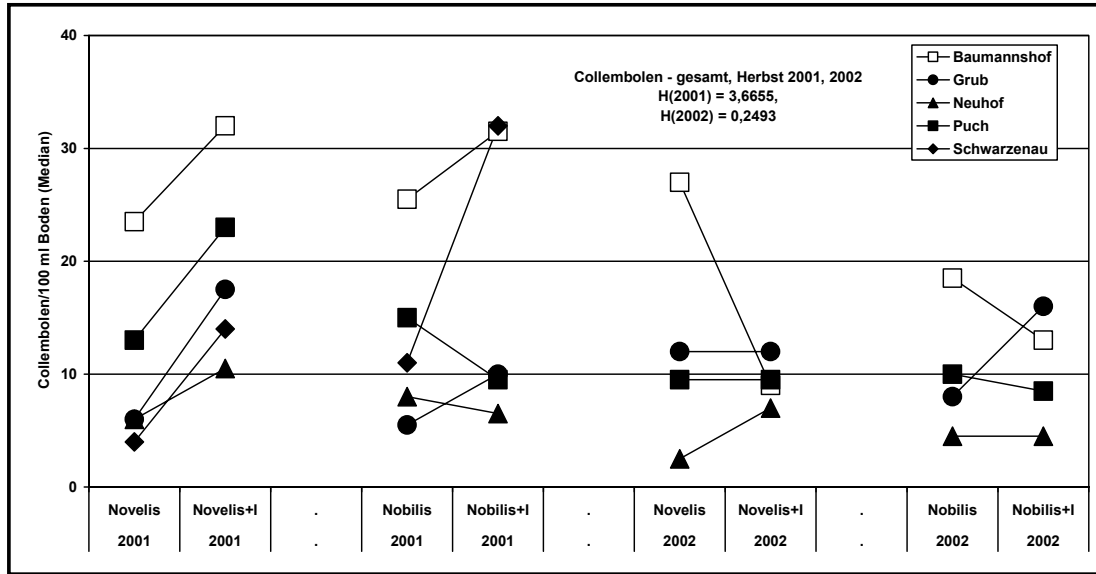


Abb. 11: Collembola-Gesamtindividuedichte auf Bt-Novelis-, Bt-Novelis mit Insektizid (Novelis+I)-, Nobilis- und Nobilis mit Insektizid (Nobilis+I)-Parzellen, Medianwerte aus 20 Einzelproben, Herbst 2001 (links), Herbst 2002 (rechts).

Keine signifikanten Unterschiede (Kruskal-Wallis test, $p = 0,05$)

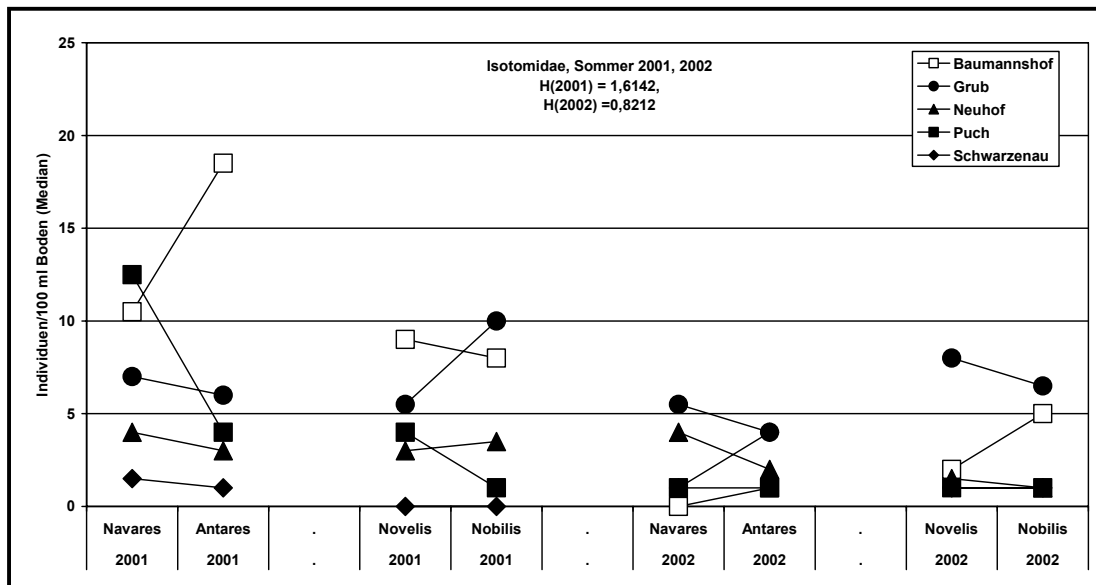


Abb. 12: Isotomiden-Gesamtindividuedichte auf Bt-Navares-, Antares-, Bt-Novelis- und Nobilis-Parzellen, Medianwerte aus 20 Einzelproben, Sommer 2001 (links), Sommer 2002 (rechts).

Keine signifikanten Unterschiede (Kruskal-Wallis test, $p = 0,05$)

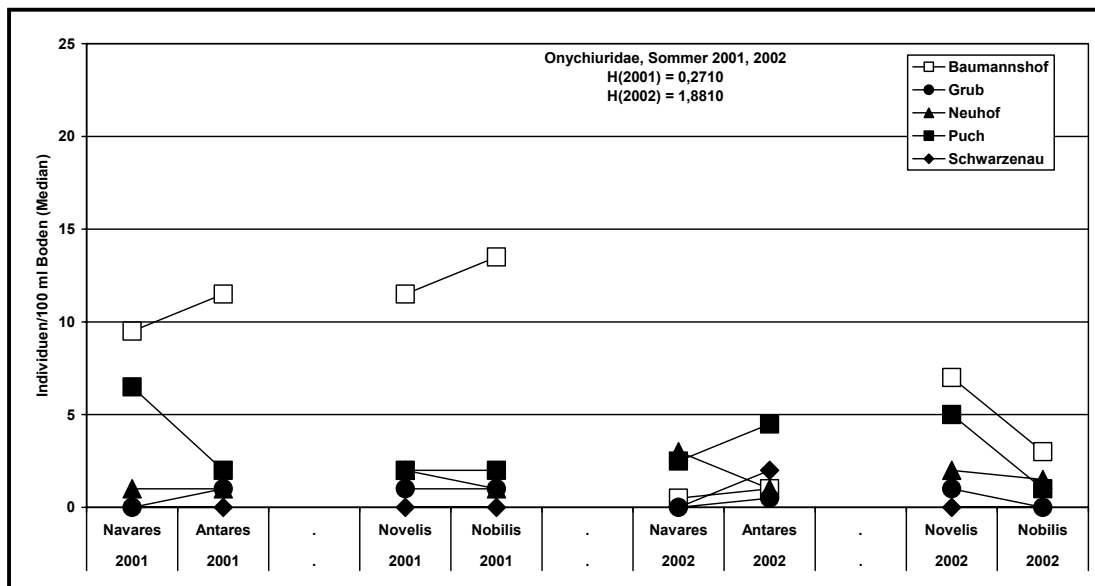


Abb. 13: Onychiuriden-Individuendichte auf Bt-Navares-, Antares-, Bt-Novelis- und Nobilis-Parzellen, Medianwerte aus 20 Einzelproben, Sommer 2001 (links), Sommer 2002 (rechts).

Keine signifikanten Unterschiede (Kruskal-Wallis test, $p = 0,05$)

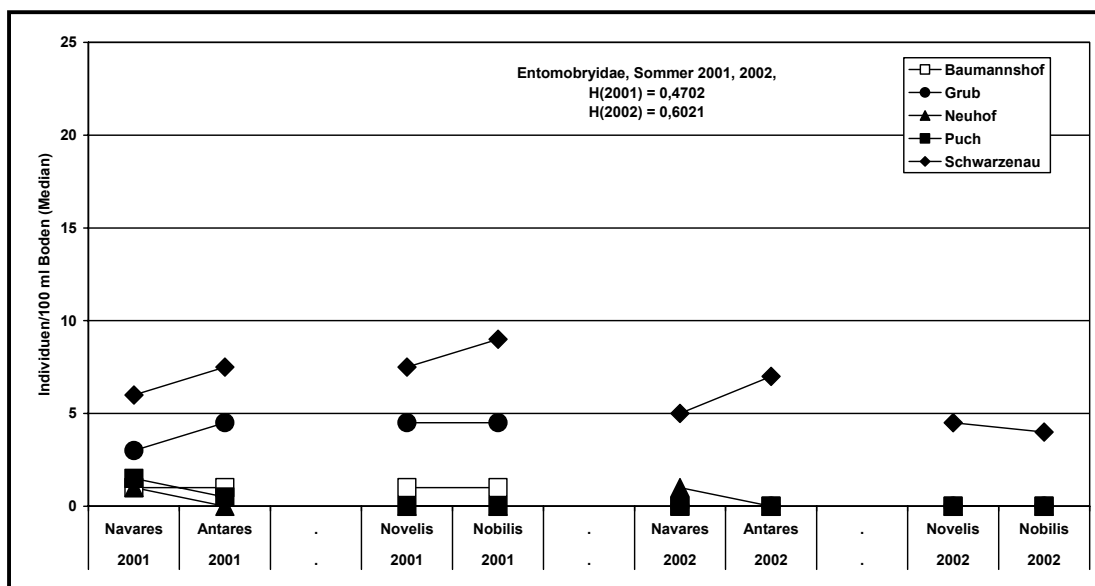


Abb. 14: Entomobryiden-Individuendichte auf Bt-Navares-, Antares-, Bt-Novelis- und Nobilis-Parzellen, Medianwerte aus 20 Einzelproben, Sommer 2001 (links), Sommer 2002 (rechts).

Keine signifikanten Unterschiede (Kruskal-Wallis test, $p = 0,05$)

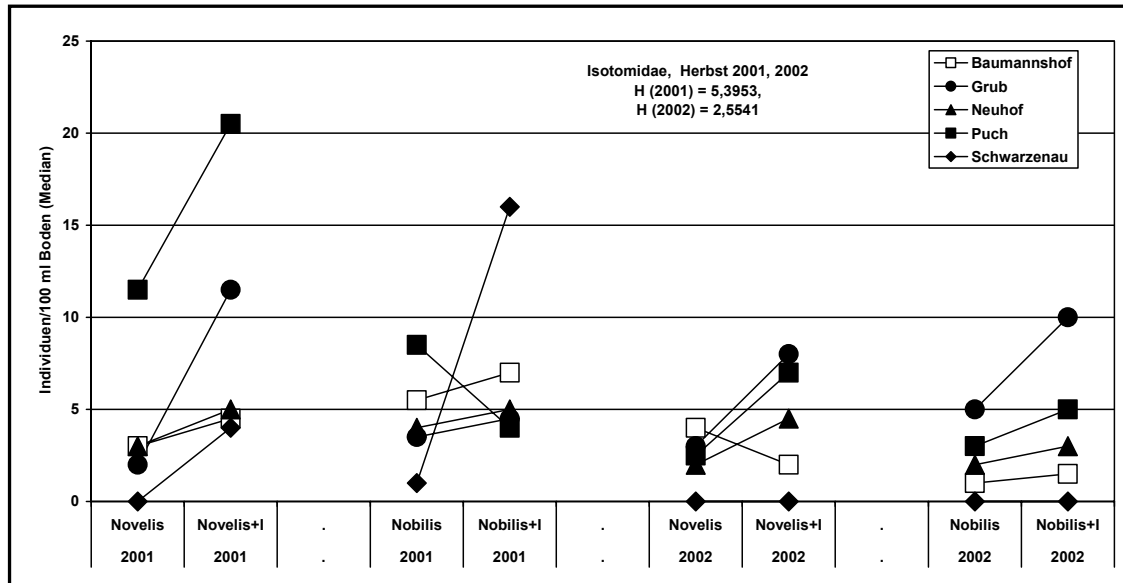


Abb. 15: Isotomiden-Individuendichte auf Bt-Novelis-, Bt-Novelis mit Insektizid (Novelis+I)-, Nobilis- und Nobilis mit Insektizid (Nobilis+I)-Parzellen, Medianwerte aus 20 Einzelproben, Herbst 2001 (links), Herbst 2002 (rechts).

Keine signifikanten Unterschiede (Kruskal-Wallis test, $p = 0,05$)

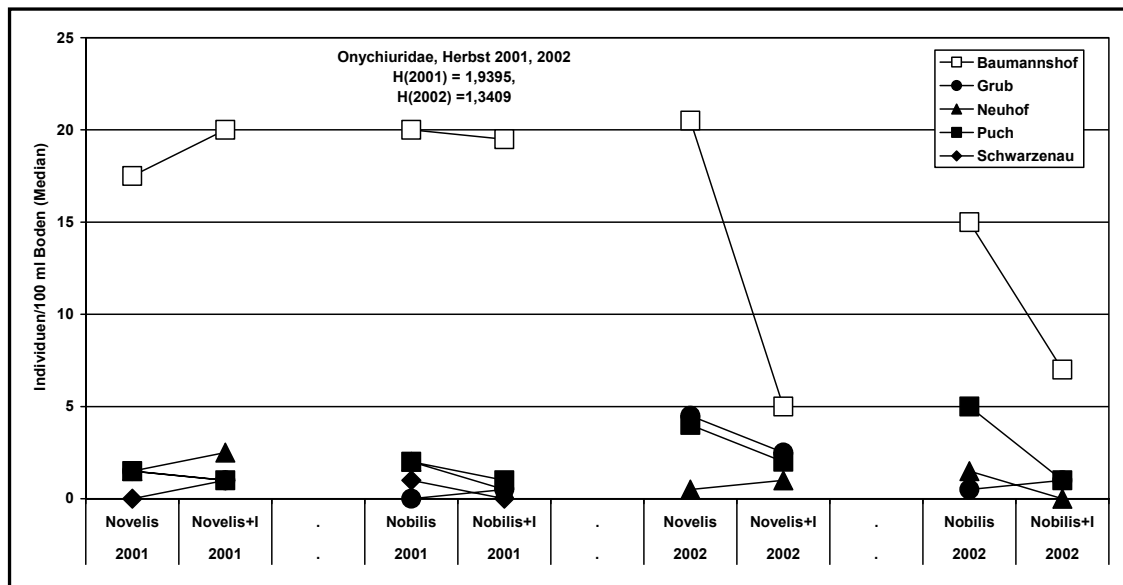


Abb. 16: Onychiuriden-Individuendichte auf Bt-Novelis-, Bt-Novelis mit Insektizid (Novelis+I)-, Nobilis- und Nobilis mit Insektizid (Nobilis+I)-Parzellen, Medianwerte aus 20 Einzelproben, Herbst 2001 (links), Herbst 2002 (rechts).

Keine signifikanten Unterschiede (Kruskal-Wallis test, $p = 0,05$)

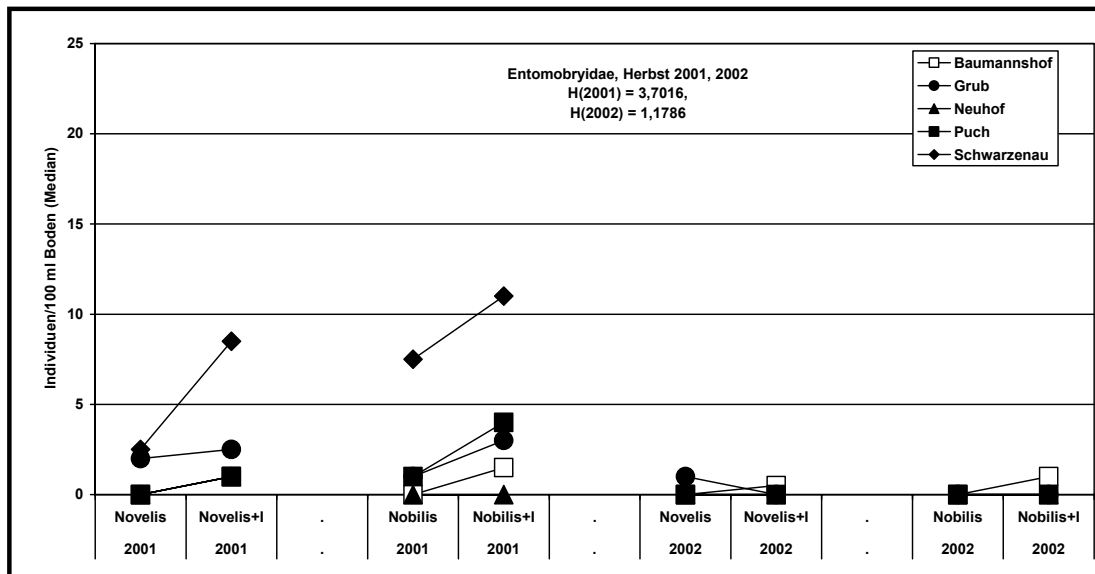


Abb. 17: Entomobryiden-Individuendichte auf Bt-Novelis-, Bt-Novelis mit Insektizid (Novelis+I)-, Nobilis- und Nobilis mit Insektizid (Nobilis+I)-Parzellen, Medianwerte aus 20 Einzelproben, Herbst 2001 (links), Herbst 2002 (rechts).

Keine signifikanten Unterschiede (Kruskal-Wallis test, $p = 0,05$)

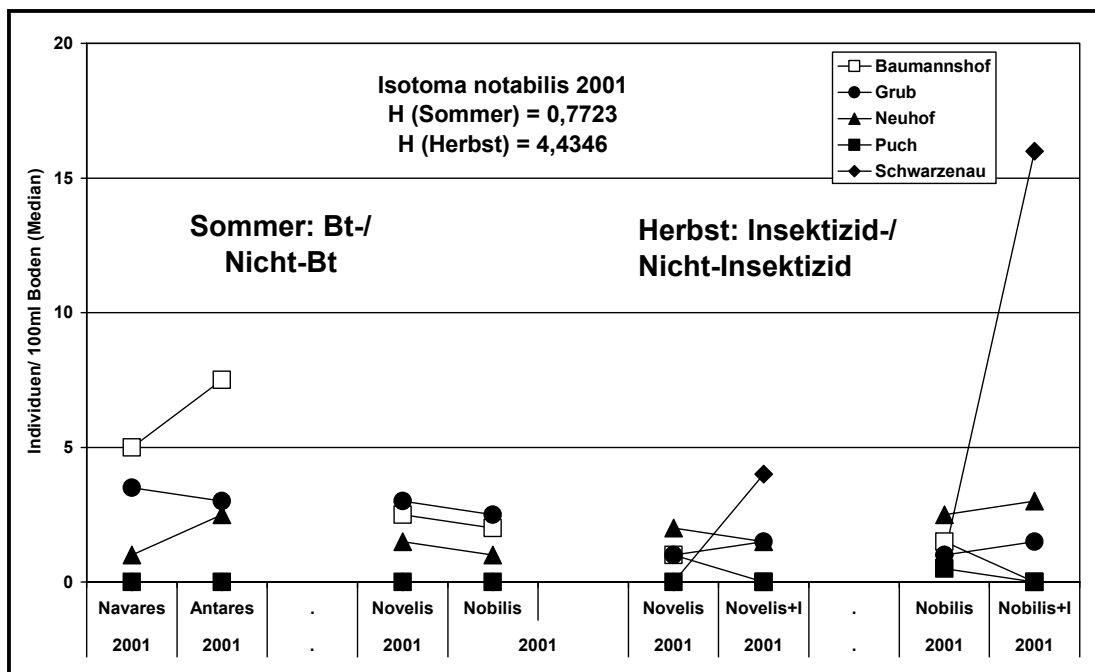


Abb. 18: Isotoma notabilis – Individuendichte auf Bt-Navares-, Antares-, Bt-Novelis- und Nobilis-Parzellen, Sommer 2001 (links) und auf Bt-Novelis-, Bt-Novelis mit Insektizid (Novelis+I)-, Nobilis- und Nobilis mit Insektizid (Nobilis+I)-Parzellen, Herbst 2001 (rechts), Medianwerte aus 20 Einzelproben.

Keine signifikanten Unterschiede (Kruskal-Wallis Test $p = 0,05$)

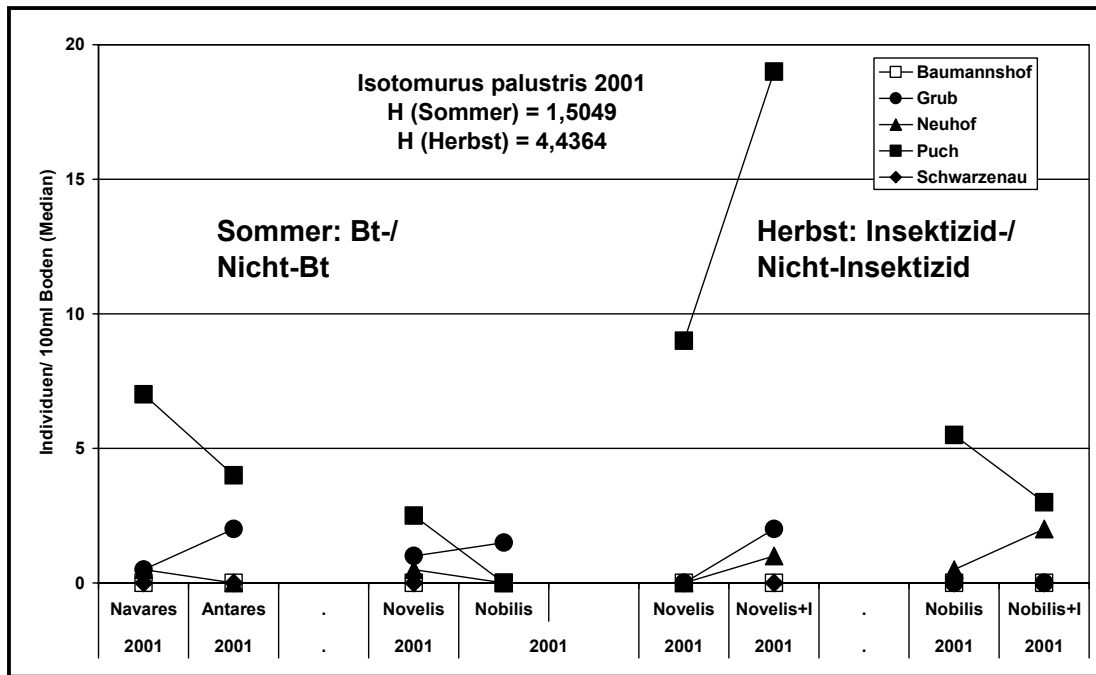


Abb. 19: *Isotomurus palustris* – Individuendichte auf Bt-Navares-, Antares-, Bt-Novelis- und Nobilis-Parzellen, Sommer 2001 (links) und auf Bt-Novelis-, Bt-Novelis mit Insektizid (Novelis+I)-, Nobilis- und Nobilis mit Insektizid (Nobilis+I)-Parzellen, Herbst 2001 (rechts), Medianwerte aus 20 Einzelproben.

Keine signifikanten Unterschiede (Kruskal-Wallis Test $p = 0,05$)

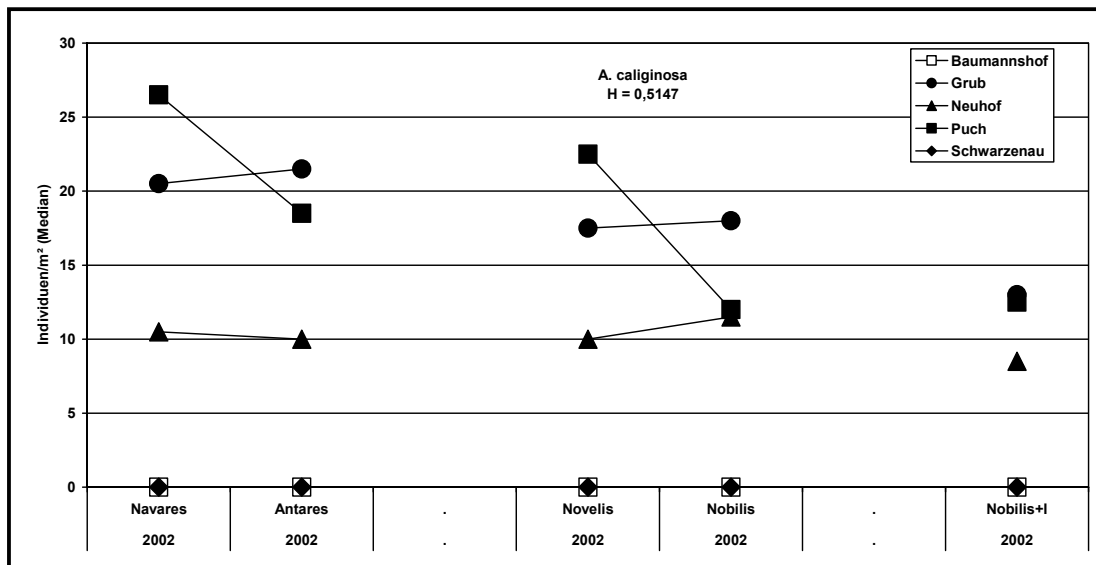


Abb. 20: *Aporrectodea caliginosa* - Individuendichte auf Bt-Navares-, Antares-, Bt-Novelis-, Nobilis- und Nobilis mit Insektizid (Nobilis+I)-Parzellen, Medianwerte aus 10 Einzelproben, Herbst 2002.

Keine signifikanten Unterschiede (Kruskal-Wallis Test $p = 0,05$)

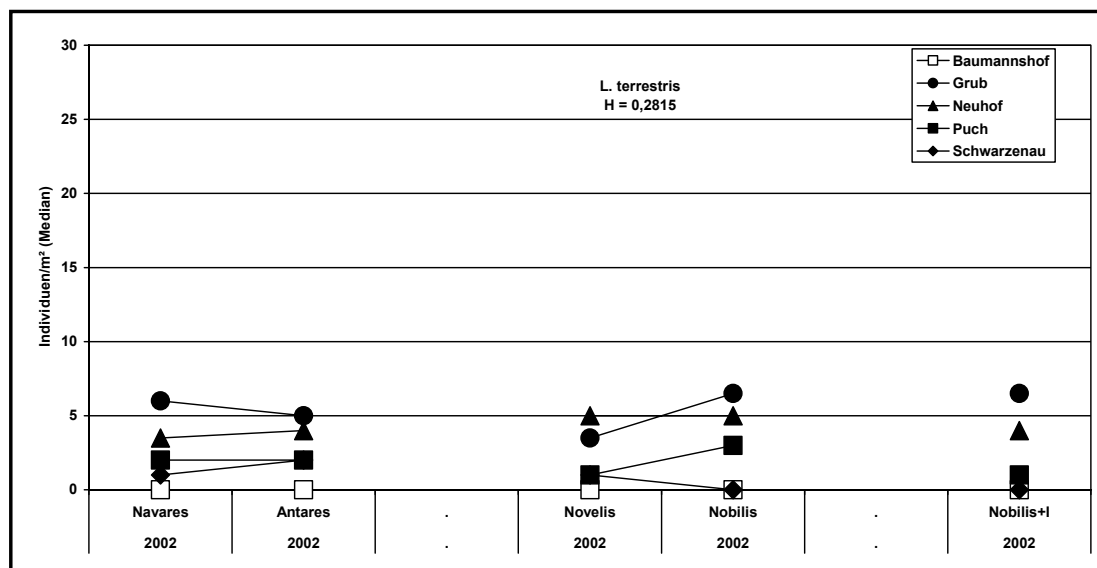


Abb. 21:; Lumbricus terrestris - Individuendichte auf Bt-Navares-, Antares-, Bt-Novelis-, Nobilis- und Nobilis mit Insektizid (Nobilis+I)-Parzellen, Medianwerte aus 10 Einzelproben, Herbst 2002.

Keine signifikanten Unterschiede (Kruskal-Wallis Test $p = 0,05$)

Literatur

- Ahl Goy, P. et al. (1995): Interaktion of an Insect tolerant maize with organisms in the ecosystem. Proceedings of the Key Biosafety Aspects of Genetically Modified Organisms, 10.-11. April 1995, vol.309, 50-53. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Blackwell, Berlin
- Al Deeb, M. A. (2003): The effect of Bt corn for corn rootworm control on nontarget soil microarthropods and nematodes. *Environmental Entomology* 32, 859-865
- Bauchhenß, J. (1977): Zur speziellen Problematik bodenzoologischer Untersuchungen In: *Vegetation und Fauna, Berichte der Internationalen Symposien der Internationalen Vereinigung für Vegetationskunde*, ed.: Reinhold Tüxen
- Bauchhenß, J. (1981): Artenspektrum, Biomasse, Diversität und Umsatzleistung von *Lumbriciden* auf unterschiedlich bewirtschafteten Grünlandflächen verschiedener Standorte Bayerns. – *Bayer. Landw. Jb.* 59, 119-124
- Bauchhenß, J. (1989): Vergleichende Untersuchungen der *Collembolen* und Oribatidenbesiedlung von Weinbergen und naturnahen Flächen auf 4 Weinberglagen Unterfrankens. *Bayer. Landw. Jb.* 66, 985-1010
- Bauchhenß, J. (1997): Earthworms as Bioindicators for Agricultural Soil Monitoring, Methods and Results – SOIL MONITORING Proceedings from the IV. international conference, Brno
- Bauchhenß, J. (1998): Methodik und Relevanz von Regenwurmuntersuchungen auf Boden-Dauerbeobachtungsflächen (BDF). *Mitt. d. DBG*, 87, 347-350
- Bauchhenß, J. (2001): Regenwürmer als Bioindikatoren – Methodik und Ergebnisse des Biomonitorings. *Festreden und Fachbeiträge zur Verabschiedung von Dr. Wilhelm Ruppert*. Schriftenreihe der Bayer. Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau 1/01, 57-64
- Bauchhenß, J. et al. (1993): Regenwürmer als Bioindikatoren. Ergebnisse des Bodenbeobachtungsprogramms der LBP. *SuB* 7, III 4-8
- Bouché, M. B. (1972): *Lombriciens de France*. – Paris, 671 p.
- Easton, E. G. (1983): A guide to the valid names of lumbricidae (Oligochaeta). In: *Earthworm ecology*, 475-485
- Gisin, G. (1960): *Collembolenfauna Europas*. – Genf.
- Herr, S. und Bauchhenß, J. (1987): Einfacher Bestimmungsschlüssel für Regenwürmer. *SuB*, 2, III 15-20
- Palissa, A. (1964): Apterygota. In: Brohmer, Ehrmann, Ulmer: *Die Tierwelt Mitteleuropas*. IV. 1a Insekten, 1. Teil. - Leipzig
- Sachs, L. (1992): *Angewandte Statistik*. – Berlin, Heidelberg, New York 848 p
- Saxena, D. und G. Stotzky (2001): *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin released from root exudates and Biomass of Bt corn has no apparent effect on earthworms, nematodes, protozoa, bacteria and fungi in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 1225-1230
- Wilcke, D. E. (1967): Oligochaeta. In: Brohmer, Ehrmann, Ulmer, Schiemenz: *Die Tierwelt Mitteleuropas*. I. Urtiere, Hohltiere, Würmer, Lief. 7 a, 1-161

Zwahlen, C., A. Hilbeck, R. Howald et W. Nentwig (2003): Effects of transgenic Bt corn litter on the earthworm *Lumbricus terrestris*. *Molecular ecology*, 12, 1077-1086