

„Faunistische Umweltrisikobewertung von *Bt*-Mais mit multiplen Resistenzgenen und Evaluierung von *Trigonotylus caelestialium* (KIRKALDY) und *Lumbricus terrestris* LINNAEUS als Modellorganismen“

Von der Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften der RWTH Aachen University zur Erlangung des akademischen Grades einer Doktorin der Naturwissenschaften genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Diplom-Biologin

Eva Schultheis

aus Aachen

Berichter:

Universitätsprofessor Alan J. Slusarenko B.Sc. (Hull), Ph.D. (London)

Universitätsprofessor em. Dr. rer. nat. Ingolf Schuphan

Tag der mündlichen Prüfung: 25.11.2011

Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der Hochschulbibliothek online verfügbar.

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung.....	1
2. Einleitung.....	2
3. Allgemeiner Teil.....	5
3.1 Mais in der modernen Landwirtschaft.....	5
3.1.1 Biologie des Maises	5
3.1.2 Wirtschaftliche Bedeutung.....	6
3.2 Wichtige Schädlinge im Mais: <i>Ostrinia nubilalis</i> & <i>Diabrotica virgifera virgifera</i>	8
3.2.1 Maiszünsler <i>O. nubilalis</i>	8
3.2.2 Maiswurzelbohrer <i>D. v. virgifera</i>	9
3.3 Gentechnologie in der Maiszüchtung	11
3.3.1 Möglichkeiten und Bedeutung der Gentechnik in der Landwirtschaft	11
3.3.2 Das <i>Bt</i> -Konzept	12
3.3.3 Stand der Anwendung von <i>Bt</i> -Pflanzen in Europa und weltweit	14
3.4 Zulassung von GV-Pflanzen in Europa	14
3.4.1 Verfahren.....	14
3.4.2 Umweltrisikobewertung als Grundlage der Zulassung von <i>Bt</i> -Mais	15
3.5 Untersuchte Organismen und Stand der Forschung.....	19
3.5.1 DKC 5143- <i>Bt</i> MON 89034 x MON 88017 als neuer „stacked“ Mais	19
3.5.2 Herbivore Arthropoden der Krautschicht und der Blüte sowie ihre Prädatoren.....	23
3.5.3 Lumbriciden.....	25
3.6 Fragestellung der vorliegenden Arbeit.....	27
4. Material und Methoden:	29
4.1 Feldversuch im Forschungsverbund.....	29
4.1.1 Konzeption & Randdaten	29
4.1.2 Kooperationen innerhalb des Forschungsverbundes.....	32
4.1.3 Probenahmemethodik Arthropoden.....	32
4.1.4 Probenahmemethodik Lumbriciden.....	37
4.1.5 Statistische Methoden.....	39

4.2	Labormethoden.....	40
4.2.1	<i>Trigonotylus caelestialium</i> als Modellorganismus im Labor	40
4.2.2	<i>Lumbricus terrestris</i> als Modellorganismus im Labor.....	45
4.2.3	Bestimmung des Gehaltes an Cry-Proteinen.....	50
4.2.4	Statistische Auswertung der Laborversuche	52
5.	Ergebnisse.....	55
5.1	Arthropoden	55
5.1.1	Thysanoptera.....	55
5.1.2	Coleoptera	58
5.1.3	Auchenorrhyncha	64
5.1.4	Heteroptera	72
5.1.5	Andere Arthropoden	82
5.1.6	Einfluss der Feldbewässerung	85
5.2	Lumbriciden.....	86
5.3	Wetterdaten	93
6.	Diskussion.....	96
6.1	Effekte des Anbaus der neuen <i>Bt</i> -Maissorte DKC 5143- <i>Bt</i> MON 89034 x MON 88017 auf ausgewählte Biozönosen eines Maisfeldes (Teil A).....	96
6.1.1	Arthropoden	96
6.1.2	Lumbriciden.....	100
6.2	Entwicklung und Validierung zweier Labor-Testsysteme mit repräsentativen Stellvertreter- Organismen der Maisfeld-Biozönose (Teil B)	101
6.2.1	<i>T. caelestialium</i> als Modellorganismus der Maiskrautschicht.....	101
6.2.2	<i>L. terrestris</i> als Modellorganismus des Bodens	103
6.3	Zusammenführung der Ergebnisse zu einer Gesamtbewertung.....	104
7.	Anhang.....	107
7.1	Literaturverzeichnis	107
7.2	Abbildungsverzeichnis	119
7.3	Tabellenverzeichnis	124
7.4	Rohdaten	128

1. Zusammenfassung

Landwirtschaftliche Nutzpflanzen sollen einen hohen Ertrag erreichen und dabei möglichst resistent gegenüber Krankheiten und Schädlingen sein. Eine Möglichkeit dazu bietet das *Bt*-Konzept, bei dem die Pflanze durch eine gentechnische Veränderung Cry-Proteine aus *Bacillus thuringiensis* (BERLINER) (*Bt*), einem ubiquitär vorkommenden Bakterium, exprimiert und sich damit spezifisch gegen Schädlinge schützt. Das untersuchte Event MON 89034 x MON 88017 bildet die gegen Lepidopteren spezifischen Proteine Cry1A.105 und Cry2Ab2 ebenso her, wie das gegen Coleopteren spezifische Cry3Bb1. Ein wichtiger Baustein in der Risikobewertung solcher gentechnisch veränderter Pflanzen (GV-Pflanzen) stellt die Überprüfung der direkten oder indirekten Auswirkungen des Anbaus der neuen Pflanzen auf die umgebende Biozönose (Nichtziel-Organismen, engl. non-target organisms, NTO) dar. Das Risiko für die NTO muss dabei als ein Zusammenspiel aus der reinen Exposition gegenüber der GV-Pflanze mit ihren neuen Inhaltsstoffen und einer Gefährdung durch selbige betrachtet werden. In der Entwicklung der ökotoxikologischen Risikobewertung stehen zwei verschiedene Herangehensweisen im Raum. In allen Ansätzen ist die Identifizierung von sinnvollen Stellvertreterarten mit ökologischer Relevanz Voraussetzung. Für die vorliegende Studie wurden mit den Insekten und Regenwürmern zwei ökologisch wichtige Organismengruppen ausgewählt, anhand derer die Vor- und Nachteile der verschiedenen Entwürfe in der Praxis verglichen werden sollten.

Um die Auswirkungen des Anbaus der neuen Maissorte DKC 5143-*Bt* MON 89034 x MON 88017 ganzheitlich auf die NTO der Umgebung zu untersuchen, wurde in Teil A der Studie in einem Feldversuch über drei aufeinanderfolgende Anbauperioden die neue Varietät im Vergleich mit ihrer nah-isogenen Parentsorte sowie zwei weiteren konventionellen Sorten und einer Bodeninsektizidbehandlung gegen *Diabrotica virgifera virgifera* LECONTE angebaut. Die Effekte auf die Zoozönose der Krautschicht und die der Blüte sowie die Gemeinschaft der Lumbriciden wurde untersucht. Die untersuchten Zoozönosen auf dem Versuchsfeld zeigten keine Reaktion auf den Anbau des gentechnisch veränderten Mais DKC 5143-*Bt* MON 89034 x MON 88017. Ein Einfluss der zum Vergleich angebauten konventionellen Sorten auf diese konnte jedoch nachgewiesen werden. In dessen Schwankungsbereich ließ sich die GV-Sorte im Bereich der nah-isogenen Sorte einordnen. *T. caelestialium* wurde als wichtigster Vertreter der herbivoren Wanzenengemeinschaft im Maisfeld identifiziert.

Gleichzeitig wurden in Teil B der Studie die Weichwanze *Trigonotylus caelestialium* (KIRKALDY) und der Regenwurm *Lumbricus terrestris* LINNAEUS als Stellvertreterarten für eine Verwendung als Modellorganismus ausgewählt und in Laborstudien untersucht. Dabei wurden für *T. caelestialium* die Möglichkeiten einer Haltung und Zucht unter Laborbedingungen evaluiert sowie das Schicksal der aufgenommenen Cry-Proteine und Unterschiede im Fraßverhalten, in Gewicht und Entwicklung in Abhängigkeit der verfütterten Maissorte untersucht. Für *L. terrestris* wurde versucht, in einem Dauerversuch über 200 Tage Exposition gegen die verschiedenen Maissorten die Überlebensrate zu bestimmen und in kurzfristigen Fluchttests gegenüber den reinen Cry-Proteinen das Verhalten der Organismen erfasst. Alle Daten wurden statistisch auf signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungen hin untersucht.

Die Haltung und Zucht von *T. caelestialium* unter Laborbedingungen konnte angepasst und etabliert werden. Eine Gefährdung durch die aufgenommenen Cry-Proteine ließ sich nicht zeigen. Im Zeitrahmen von sechs Stunden konnte eine komplette Ausscheidung/Abbau der Proteine gezeigt werden. Die Bioaktivität der Proteine in den Wanzen konnte in einem ersten Ansatz gezeigt werden.

Im kurzfristigen Laborversuch mit *L. terrestris* konnte mit mindestens 100-fach erhöhter Bodenkonzentration im Vergleich zum Freiland kurzfristig kein Fluchtverhalten durch die reinen Cry-Proteine auf Adulte hervorgerufen werden. Die langfristigen Versuchsansätze lieferten aufgrund methodischer Probleme keine auswertbaren Ergebnisse.

2. Einleitung

Mit der wachsenden Weltbevölkerung geht die Notwendigkeit einher, die landwirtschaftliche Produktion langfristig und vor allem nachhaltig zu steigern, um die Menschen ausgewogen zu ernähren. Dies gilt insbesondere, da durch den Klimawandel eine Reduzierung der Agrarfläche und des verfügbaren Wassers ebenso zu erwarten ist wie ein steigender Schädlingsdruck und vermehrter Unkräuterbefall (BMELV, 2011; Chmielewski, 2007).

Daher sollen die in der modernen Landwirtschaft angebauten Nutzpflanzen einen optimalen Ertrag erreichen und dabei möglichst einfach zu kultivieren sein. Dazu werden neue, spezielle Sorten entwickelt, die etwa an schwierige Umweltbedingungen angepasst sind oder ein vereinfachtes Management erlauben. Solche Möglichkeiten bieten *Bt*-Pflanzen, die durch eine gentechnische Modifikation Cry-Proteine aus *Bacillus thuringiensis* (BERLINER), einem ubiquitär vorkommenden Bakterium, exprimiert und sich damit spezifisch gegen Schädlinge schützt. Das *Bt*-Konzept wurde bis dato in Mais und Baumwolle ebenso wie in Reis, Kartoffeln, Auberginen, Tomaten und Pappeln realisiert und weltweit werden solche Pflanzen heute großflächig angebaut.

Wie alle gentechnisch modifizierten Organismen (gentechnisch veränderte Organismen, GVO; genetically modified organisms, GMO) unterliegen auch *Bt*-Pflanzen vor ihrer Markteinführung in der europäischen Union (EU) einem Zulassungsverfahren auf Grundlage einer Umweltrisikoprüfung. Darüber hinaus gelten nach der EU-Direktive 2001/18/EC für bereits zugelassene gentechnisch veränderte Pflanzen hinsichtlich eines Beobachtungsplanes, um vorhergesehene Effekte weiter zu beobachten und zu kontrollieren (case-specific monitoring) oder um nicht vorhergesehene Effekte frühzeitig erkennen zu können (general surveillance) (EC, 2001).

In Europa wurden bisher lediglich auf dem *Bt*-Konzept basierende gentechnische Veränderungen (event) an Mais gegen den heimischen, schädlichen Nachtschmetterling *Ostrinia nubilalis* (HÜBNER) (Lepidoptera: Crambidae), den Maiszünsler, kommerziell nutzbar gemacht. Die einzige zum Anbau zugelassene Veränderung in der EU ist derzeit MON 810 der Firma Monsanto. Mittlerweile sind mehr als 100 Sorten mit diesem Event nach der Sortenprüfung zugelassen (Biosicherheit, 2009).

In einer neuen Generation von *Bt*-Varietäten wurden Pflanzen mit Events wie dem untersuchten MON 89034 x MON 88017 entwickelt, die als sog. „stacked“ *Bt*-Pflanzen mehrere Cry-Proteine exprimieren, teilweise gegen verschiedene Schädlinge. So stellt MON 89034 x MON 88017 nicht nur die gegen Lepidopteren spezifischen Proteine Cry1A.105 und Cry2Ab2 her, sondern auch das gegen Coleopteren spezifische Cry3Bb1 gegen den schädigenden Blattkäfer *Diabrotica virgifera virgifera* LECONTE (Coleoptera: Chrysomelidae), den westlichen Maiswurzelbohrer. *D. virgifera virgifera*, ein mit konventionellen Methoden schwierig zu kontrollierender Schädling, wurde in den 90er Jahren aus den Vereinigten Staaten (USA) nach Osteuropa eingeschleppt und verbreitet sich seitdem kontinuierlich in Europa.

Wie in jeder beantragten Zulassung erfolgt auch im Fall des Events MON 89034 x MON 88017 entsprechend dem Reglement der EU eine neue Umweltrisikoprüfung (environmental risk assessment, ERA) einschließlich der Entwicklung eines Beobachtungsplanes.

Einen wichtigen Baustein der Untersuchungen stellt dabei die Überprüfung der Auswirkungen des Anbaus der neuen Pflanzen auf die umgebende Biozönose, also die Organismengemeinschaften auf dem Feld und in der Umgebung, dar. Diese Nicht-Zielorganismen (non-target organisms, NTO) könnten in ihrem Vorkommen oder ihren Dichten direkt oder indirekt beeinflusst werden. Das Risiko für die NTO muss dabei als ein Zusammenspiel aus der reinen Exposition gegenüber der GV-Pflanze mit neuen Inhaltsstoffen wie den Cry-Proteinen und einer Gefährdung durch die neuartigen Proteine selbst betrachtet werden.

Im Zuge einer Standardisierung des ERA ergeben sich dabei verschiedene Probleme: Die Biozönosen sind regional und überregional sehr vielfältig und häufig nicht untersucht. Ein „Urzustand“ kann

bedingt durch die seit Jahrhunderten betriebene, regional sehr unterschiedliche Kultivierung und Ausgestaltung der agrarisch genutzten Umwelt nicht angenommen werden, so dass eine Ausgangsbasis schwer zu definieren ist. Kurzfristig wechselnde Wetterbedingungen und sich langfristig verändernde Umweltbedingungen (Klimawandel) beeinflussen das Vorkommen und die Dichten der verschiedenen Organismen zusätzlich.

Dieser Problemstellung widmet sich die vorgestellte Dissertation. Im Rahmen der Fortentwicklung der ERA ist ein ökotoxikologischer Ansatz möglich, der den Fokus auf die neuen Pflanzeninhaltsstoffe legt und das Risiko für NTO stellvertretend anhand einiger Modellorganismen im Labor untersucht. Langwierige Freilanduntersuchungen wären nach diesem Ansatz nur noch vorgesehen, falls sich Fragestellungen ergeben, die im Labor nicht zu klären sind. Dem gegenüber können Feldversuche im Rahmen jeder Zulassung durch einen umweltbezogenen Ansatz begründet werden, indem nicht nur der neue Pflanzeninhaltsstoff im Fokus der Untersuchung steht, sondern ganzheitlich die neue Pflanze in ihrer Wechselwirkung mit der Gesamtzönose betrachtet werden soll (EFSA, 2008). Die vorliegende Arbeit muss im Gesamtzusammenhang mit diesen Herangehensweisen der Umweltrisikoprüfung eingeordnet werden. In beiden Ansätzen ist die Identifizierung von sinnvollen Stellvertreterarten mit ökologischer Relevanz Voraussetzung für eine klare Definition der verschiedenen Stufen im ERA.

Für die vorliegende Dissertation wurden mit den Insekten und Regenwürmern zwei ökologisch wichtige Organismengruppen ausgewählt, anhand derer die Vor- und Nachteile der verschiedenen Entwürfe in der Praxis verglichen werden sollten.

Um die Auswirkungen des Anbaus ganzheitlich auf die NTO der Umgebung zu untersuchen (Teil A), wurde in einem Feldversuch über drei aufeinanderfolgende Anbauperioden die neue Sorte DKC 5143-Bt MON 89034 x MON 88017 im Vergleich mit ihrer nah-isogenen Parentsorte sowie zwei weiteren konventionellen Sorten und einer Bodeninsektizidbehandlung gegen *D. virgifera virgifera* angebaut. Die Effekte auf die Zoozönose der Krautschicht und die der Blüte sowie die Gemeinschaft der Lumbriciden (Regenwürmer) wurden untersucht. Dazu wurden zur Erfassung der Organismen verschiedene Methoden in Abhängigkeit von der zu beprobenden Gemeinschaft verwendet:

- a. Klebetafeln in den Parzellen (Gemeinschaft der fliegenden Arthropoden der Krautschicht über die gesamte Wachstumsperiode)
- b. Kescher-Transekte durch die Parzellen des Feldversuchs (Gemeinschaft der fliegenden und blattoberflächenbewohnenden Arthropoden der Krautschicht an ausgewählten Terminen während der Wachstumsperiode)
- c. Klopfproben der männlichen Blütenstände (Gemeinschaft der blütenbesuchenden Arthropoden während der Vollblüte)
- d. Beprobung eines definierten Bodenvolumens (Gemeinschaft der Regenwürmer zur Zeit der größten Aktivität)

Gleichzeitig wurden anhand der nachgewiesenen Lebensgemeinschaften und der vorliegenden Erfahrungen aus Vorgängerprojekten und der Literatur geeignete Stellvertreterarten für eine Verwendung als Modellorganismus identifiziert (Teil B). Dieser Auswahl lagen mehrere Voraussetzungen zugrunde:

- 1) die überregionale Verbreitung dieser Art wenigstens in Mitteleuropa, um für ein standardisiertes ERA in verschiedenen Regionen nutzbar zu sein
- 2) ein konstantes Vorkommen in Mais in relativ hohen Abundanzen, um eine statistische Analyse zu ermöglichen
- 3) eine einfache Fangmethodik und leichte Bestimmbarkeit der ausgewählten Organismen, um eine Durchführbarkeit des ERA zu gewährleisten
- 4) eine nachgewiesene oder anhand des Fraßtyps anzunehmende Exposition gegenüber den Cry-Proteinen aus Mais, da ansonsten kein Risiko bestehen kann

Dem ökotoxikologischen Ansatz folgend wurden aus beiden Organismengruppen je eine Stellvertreterart ausgewählt, die in der Literatur ausführlich beschrieben ist und als

Modellorganismus für Untersuchungen im Labor hinsichtlich der direkten Reaktion auf die verschiedenen Cry-Proteine als Stressor genutzt werden konnte.

In der Gruppe der Arthropoden wurde hier die Weichwanze *Trigonotylus caelestialium* (KIRKALDY) (Heteroptera: Miridae) gewählt, die als häufigste Vertreterin innerhalb der Wanzencommunity auf dem Feld auch die o.g. Kriterien erfüllt und damit als Bindeglied zwischen Feld und Labor dienen kann. Folgende Aspekte wurden untersucht:

- B. 1) Möglichkeiten einer Haltung und Zucht unter Laborbedingungen
- B. 2) Schicksal aufgenommener Cry-Proteine (ELISA, Bioassay mit *O. nubilalis*)
- B. 3) Unterschiede im Fraßverhalten in Abhängigkeit der verfütterten Maissorte
- B. 4) Unterschiede im Gewicht in Abhängigkeit der verfütterten Maissorte
- B. 5) Unterschiede in der Entwicklung, Fortpflanzung und Lebensdauer in Abhängigkeit der verfütterten Maissorte (full life cycle test)

Im Gegensatz zur Auswahl in der Gruppe der Arthropoden, die durch die Ergebnisse des Feldversuchs beeinflusst wurde, erfolgte die Auswahl in der Gruppe der Lumbriciden anhand der vorhandenen Literatur und der etablierten ökotoxikologischen Standardtests mit dem Tauwurm *Lumbricus terrestris* LINNAEUS (Oligochaeta: Lumbricidae). Die Auswirkungen der Cry-Proteine wurden in zwei verschiedenen Ansätzen untersucht:

- B. 6) Dauerversuch: In einem Versuchsansatz über 200 Tage wurden adulte *L. terrestris* gegenüber den verschiedenen Maissorten in Töpfen exponiert und anschließend die Sterblichkeit bestimmt.
- B. 7) Kurzversuch: In Anlehnung an die ISO-Norm 17512-1 (2008) wurden Regenwurmfluchttests (avoidance tests) mit Exposition gegenüber freien Cry-Proteinen über jeweils 72 Stunden mit adulten *L. terrestris* durchgeführt.

Alle erhaltenen Daten wurden im frei verfügbaren Statistikprogramm R (2011) statistisch analysiert und auf signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungen hin untersucht. Die dabei verwendeten Tests wurden je nach Beschaffenheit der Datensätze ausgewählt.

3. Allgemeiner Teil

3.1 Mais in der modernen Landwirtschaft

Mais (*Zea mays* L.) kann heute nach Reis und Weizen weltweit als die drittwichtigste Kulturpflanze betrachtet werden (Ellstrand et al., 1999). Ihre Ursprünge liegen im mexikanischen Gras Teosinte, dem Sammelbegriff für Wildformen der Gattung *Zea*. Vor etwa 9.000 Jahren erfolgte in Mexiko aus den Wildformen *Zea mays* subsp. *parviglumis* und *Zea mays* subsp. *mexicana* die Domestizierung zur Nutzform *Zea mays* subsp. *mays* (Jaenicke-Després et al., 2003) (Tabelle 1).

Tabelle 1: Systematische Einordnung der Nutzpflanze Mais nach Heywood (1978)

Stamm:	Plantae
Abteilung:	Spermatophyta
Klasse:	Liliopsida
Unterklasse:	Commelinaähnliche (Commelinidae)
Ordnung:	Poales
Familie:	Poaceae
Unterfamilie:	Panicoidae
Gattung:	<i>Zea</i>
Art:	<i>Zea mays</i> L.
Unterart:	<i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> L.

Während die Wildformen weiterhin nur in Mexiko und Guatemala beheimatet sind, wird der Kulturmais heute weltweit auch in gemäßigten Klimaregionen angebaut. Seit den 50er Jahren erzeugt die Maishybridzüchtung Pflanzen, die nicht nur einen höheren Ernteertrag ermöglichen, sondern auch verbesserte Anbau- und Verwertungseigenschaften (Reifezeitpunkt, Standfestigkeit, Kältetoleranz im Frühjahr, Druscheignung bzw. Futterqualität) besitzen. Dies erlaubt heute auch einen Anbau nördlich des 50° Breitengrades. Während in Südamerika weiterhin vor allem Körnermais zum menschlichen Verzehr angebaut wird, wird in Deutschland heute schwerpunktmäßig Silomais zur Verfütterung und zur Energiegewinnung in der Biogasanlage angebaut (DMK, 2011a).

Eine relativ neuartige Züchtungstechnik ist die gentechnische Veränderung von Maispflanzen. Durch das Einfügen fremder Gene in das Genom des Maises entstehen Sorten mit wertsteigernden Eigenschaften, verbesserten Anbaueigenschaften oder veränderten Inhaltsstoffen (DMK, 2011b; Biosicherheit, 2011a).

3.1.1 Biologie des Maises

Die Kulturpflanze *Zea mays* gehört zu den annuellen Gräsern (Tabelle 1). An der monözischen Maispflanze sind die männlichen und weiblichen Blütenstände diklinisch. Während die männlichen Blüten in Rispenform an der Spitze der Pflanze stehen, befinden sich die weiblichen Blüten mit ihren langen klebrigen Narbenfäden seitlich der Stängel. Aus den weiblichen Fruchständen entwickeln sich nach der Bestäubung die Maiskolben. Zu etwa 90 % erfolgt eine anemogame Fremdbefruchtung, die durch die zeitliche Verschiebung von etwa zwei bis vier Tagen zwischen der Blüte der männlichen Rispen und dem Erscheinen der Narbenfäden gefördert wird (Proterandrie).

Mais hat geringe Ansprüche an den Boden und kann als C4-Pflanze die Sonnenenergie besonders effektiv nutzen. Gleichzeitig ist auch der Wasserverbrauch im Vergleich zum Biomasseaufbau besonders effizient (DMK, 2011c). Den Ansprüchen an Sonnenenergie folgend werden die vorhandenen Maissorten mit einer Reifezahl zwischen 100 und 900 klassifiziert. Während Sorten mit einer Reifezahl zwischen 100 und 300 bei geringerer Sonneneinstrahlung in Norddeutschland als

Silomais oder in Süddeutschland als Körnermais angebaut werden können, benötigen Sorten mit Reifezahlen über 400 zur vollen Ertragsausschöpfung eine höhere Gesamtsonneneinstrahlung, wie sie etwa im mittleren Westen der USA vorkommt (DMK, 2011d).

3.1.2 Wirtschaftliche Bedeutung

Um die wirtschaftliche Bedeutung weltweit betrachten zu können, ist es nötig die unterschiedlichen Nutzungsformen im Maisanbau zu unterscheiden. Während Mais in vielen Industrienationen vor allem in silierter Form als Viehfutter verwendet wird, dient er in vielen Entwicklungsländern etwa in Form von Maisbrei und Tortillas als wichtiges Grundnahrungsmittel der Ernährung der Bevölkerung (Bankole & Adebajo, 2003).

Dies schlägt sich auch in der Verteilung von Silomais und Körnermais nieder: In wichtigen Anbauländern Südamerikas spielt der Silomais gegenüber dem Körnermais nur eine untergeordnete Rolle, während etwa in Frankreich oder Deutschland mehr Silomais angebaut wird. Wegen der steigenden Weltbevölkerung, dem dadurch bedingten, ansteigenden Bedarf an pflanzlichen und tierischen Nahrungsmitteln und den begrenzten landwirtschaftlichen Flächen ist die hohe Flächenproduktivität des Maises von besonderem Interesse. Sie beträgt für Körnermais weltweit etwa das 1,6-fache des Weizens (45,2 dt / ha zu 24,4 dt / ha). Allerdings schwankt der Flächenertrag im regionalen Vergleich aufgrund klimatischer Bedingungen und produktionstechnischer Kapazitäten. Durch neue Züchtungen und eine Erweiterung der produktionstechnischen Kapazitäten sind jedoch weitere Steigerungen zu erwarten. Aktuell werden weltweit ca. 157 Millionen Hektar Land zum Körnermaisbau genutzt, hinzu kommen 30-50 Mio. Hektar zur Erzeugung von Silomais (Zahlen 2009: DMK, 2011e; Abbildung 1 (Körnermais)).

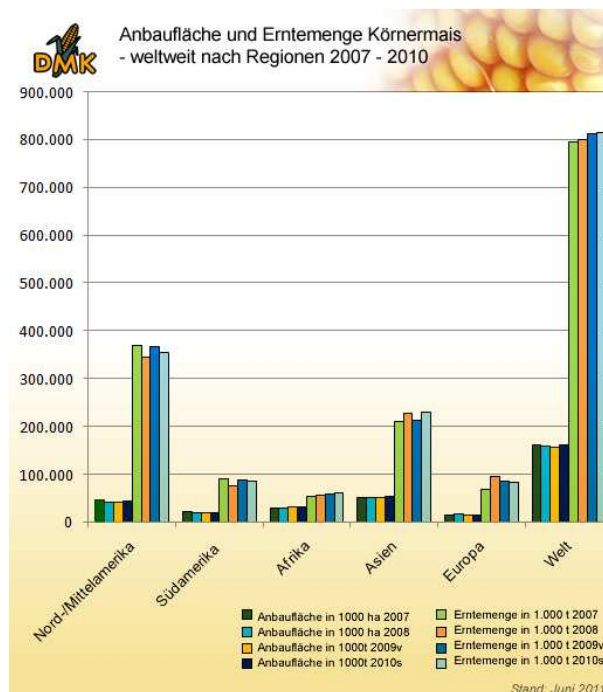


Abbildung 1: Übersicht über den weltweiten Körnermaisbau 2007-2010 durch das Deutsche Maiskomitee e.V., aufgeteilt in Anbaufläche in 1000 ha bzw. 1000 t nach Kontinenten (v: vorläufig, s: Schätzung) (Quelle: DMK, 2011f)

Weltweit kann also eine Gesamtanbaufläche von etwa 200 Mio. Hektar angenommen werden. Den größten Anteil an dieser Fläche hält die USA mit einer Körnermaisbaufläche von etwa 32,2

Millionen Hektar und einer Produktionsmenge von ca. 307.142 Tsd. t (2009). Es folgen China, Argentinien, Brasilien, Indien, Mexiko und als wichtigster Produzent innerhalb Europas Frankreich mit einer Produktionsmenge von 15.818,5 Tsd. t (2009: 15.230 Tsd. t) (Abbildung 2 für 2008, kompletter Datensatz für 2009 noch nicht verfügbar). Weltweit wurden laut Statistik der Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) im Jahr 2009 etwa 817.110 Tsd. t Körnermais produziert (FAO, 2011a).

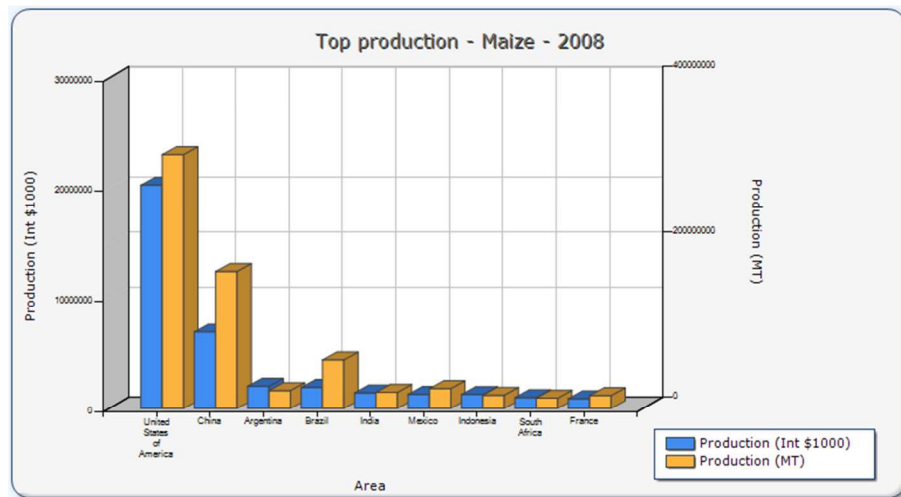


Abbildung 2: Übersicht über die wichtigsten Körnermais produzierenden Länder weltweit 2008, aufgetragen nach der jährlichen Produktion in internationalen Dollar und in Megatonnen (FAO, 2011b)

In der EU liegt die Anbaufläche von Körnermais mit etwa 8,9 Mio. ha deutlich über der von Silomais mit 5,2 Mio. ha (2008), in diesen Angaben entfallen jedoch knapp 2 Mio. ha Körnermais und 765 Tsd. ha Silomais auf die 10 neuen Mitgliedsländer, die im Zuge der EU-Osterweiterung zum 01.01.2005 der EU beigetreten sind (Estland, Lettland, Litauen, Polen, Tschechien, Slowenien, Slowakei, Ungarn, Malta und Zypern). Der Anteil der Körnermaisflächen an den gesamten Getreideflächen der EU liegt bei 15 % (zum Vergleich: Weizen 39 %). Der Schwerpunkt der Silomaisanbaufläche liegt deutlich mit 60 % in Frankreich und Deutschland (DMK, 2011g). Die Maisproduktion in Deutschland stieg seit den 60er Jahren kontinuierlich an und hatte 2009 mit einer Anbaufläche von etwa 2,1 Mio. Hektar einen neuen Spitzenwert erreicht. Etwa 80 % des in Deutschland angebauten Maises entfallen dabei als Futtermittel auf Silomais, der verbleibende Anteil auf Körnermais, der größtenteils in der Lebensmittelproduktion zu beispielsweise Popcorn, Cornflakes, Maismehl und Maisgrieß verarbeitet wird. Der Bedarf an Körnermais zur Lebensmittelherstellung übersteigt jedoch den nationalen Ertrag erheblich, so dass etwa 28 % der Gesamtverarbeitungsmenge importiert werden müssen (Zahlen für 2009: DMK, 2011h).

Eine steigende Bedeutung kommt dem Mais als Energiepflanze zu. Seit 2005 wird vermehrt Silomais angebaut, um die gesamte geerntete Biomasse als Häcksel in Biogasanlagen zu verwerten. Dabei wird ein Hektarertrag von bis zu 18.000 kWh Strom und 20.000 kWh Wärme erzielt. Diese Verwertung wird durch die EU gefördert, indem der Energiepflanzenanbau auf prämiengeförderten Stilllegungsflächen stattfinden kann oder auf Nicht-Stilllegungsflächen mit einer Energiepflanzenprämie gefördert wird. Auch das Erneuerbare-Energien-Gesetz bietet einen Anreiz, Mais als Energiepflanze zu nutzen, indem es Strom fördert, der ganz aus nachwachsenden Rohstoffen gewonnen wurde (EEG, 2004). Der Maisanteil am gesamten Energiepflanzenanbau betrug 2010 wie bereits im Jahr 2009 über 90 % (DMK, 2011i).

3.2 Wichtige Schädlinge im Mais: *Ostrinia nubilalis* & *Diabrotica virgifera virgifera*

Wie viele Kulturpflanzen ist auch Mais in der modernen Landwirtschaft zunehmend durch Schädlinge betroffen. Zwei weltweit auftretende Schädlinge, die auch in Deutschland zunehmend an Bedeutung gewinnen, sind der in Europa heimische Maiszünsler *Ostrinia nubilalis* (HÜBNER) (Lepidoptera: Pyralidae), ein Nachschmetterling, und der aus den USA eingeschleppte Maiswurzelbohrer *Diabrotica virgifera virgifera* LECONTE (Coleoptera: Chrysomelidae), ein Blattkäfer.

3.2.1 Maiszünsler *O. nubilalis*

Der Maiszünsler (engl. European corn borer, ECB) (Abbildung 3) befällt die Maispflanzen als Larve. Die adulten Weibchen legen ihre Eigelege auf der Unterseite der Maisblätter ab, dort schlüpfen auch die Larven. Sie fressen zunächst an den Blättern, bevor sie sich in den Stängel einbohren. Die Larven höhlen den Stängel aus und vermindern dadurch die Nährstoff- und Wasserversorgung der Pflanze. Im Laufe der Wachstumsperiode bohren sich die Larven weiter die Pflanze hinab und vermindern damit auch die Standfestigkeit der Pflanzen. Ernteverluste von bis zu 50 % bei starkem Befall können die Folge sein. Die Falter überwintern im Zustand einer Diapause in univoltinen Populationen als Larve im letzten Larvenstadium (L5) in Maisresten, Wurzeln und dem Boden, verpuppen sich im Mai und schlüpfen anschließend passend zur neuen Anbauperiode. Während bisher bivoltine Populationen nur in wärmeren Regionen Südeuropas und in weiten Teilen der USA auftraten (Engel, 1971), können heute bivoltine Populationen auch im süddeutschen Raum bei Freiburg nachgewiesen werden (LTZ Augustenberg, 2011; Abbildung 4).



Abbildung 3: *Ostrinia nubilalis* links: adultes Weibchen, rechts: Maiszünslerlarve in Maisstängel (Quelle: Biosicherheit, 2011b/c (links: Dr. R. Kaiser-Alexnat, rechts: G. Spelsberg))

Der Maiszünsler breitet sich seit den 30er Jahren vom Süden Deutschlands nach Norden aus. In Abbildung 4 kann die Verbreitung bis zum Jahr 2009 abgelesen werden. Seit 2006 kann der Schädling auch in Niedersachsen nachgewiesen werden. Für Braunschweig wurden in den Jahren 2008-2010 Einzelfunde dokumentiert. Lediglich Schleswig-Holstein kann in Deutschland noch als befallsfrei gelten. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit kann jährlich mit etwa 10-12 km angenommen werden (Schmitz et al., 2002).



Abbildung 4: Verbreitung des Maiszünslers in Deutschland 2009 (nördliche Verbreitungsgrenze, Erhebungen für Mecklenburg-Vorpommern und Niedersachsen für 2009 noch nicht berücksichtigt, für NRW erste Daten aus 2009; Quelle: Biosicherheit, 2011d (transgen/i-bio))

Um 1910 wurde der Maiszünsler aus Europa in die USA verschleppt, wo er bis zur verbreiteten Nutzung resistenter GV-Maissorten als einer der Hauptschädlinge für Ernteverluste von jährlich bis zu 1 Milliarde US-Dollar verantwortlich war (Huang et al., 1999). Weltweit werden die Ernteverluste durch den Maiszünsler mit etwa 4-7 % der Gesamternte angenommen (FAO, 2011a).

Eine Bekämpfung des Maiszünslers kann durch unterschiedliche Techniken erfolgen, die verschieden wirkungsvoll sind. Eine mechanische Methode stellt das Zerkleinern und tiefe Unterpflügen von Pflanzenresten dar (Ackermann et al., 2003; Zellner, 2001), der aber die Bemühungen um eine bodenschonende Landwirtschaft ohne Pflügen entgegenstehen. Eine Alternative stellen Insektizidbehandlungen mit synthetischen Insektiziden (zugelassen in Deutschland jedoch nur „Baythroid“ mit dem Wirkstoff Cyfluthrin) oder mit teureren, biologischen *Bt*-Präparaten dar, die jedoch nur während des kurzen Zeitraumes vom Schlupf bis zum Einbohren der Larven effektiv wirken. Darüber hinaus ist eine biologische Bekämpfung auch mittels Schlupfwespen (*Trichogramma evanescens* und *Trichogramma brassica*) möglich, die als Eiparasiten die Maiszünslereier abtöten und so die Schlupfrate vermindern. Diese Methode ist allerdings recht aufwändig und witterungsabhängig (Degenhardt et al., 2003).

Durch gentechnische Züchtungsmethoden sind als weitere Bekämpfungsstrategie Pflanzen, die sich durch die Produktion bakterieller, lepidopterenpezifischer Toxine selbst schützen, hinzugekommen.

3.2.2 Maiswurzelbohrer *D. v. virgifera*

Der Maiswurzelbohrer (engl. Western corn rootworm, WCR) befällt als Larve die Maiswurzel. Adulte weibliche Käfer (Abbildung 5 rechts) legen ihre Eier im Spätsommer in die obere Bodenschicht, wo nach einer Diapause die Larven im folgenden Juni schlüpfen und angezogen durch das durch die Wurzel freigesetzte CO₂ die Maiswurzel besiedeln (Abbildung 6, links; Moeser & Hibbard, 2005). Während die ersten beiden Larvenstadien an den Feinwurzeln fressen, besiedelt das dritte

Larvenstadium die Hauptwurzel. Durch den Wurzelfraß wird die Aufnahme von Wasser und Nährstoffen für die Pflanze erschwert (Abbildung 6, rechts a) und die Pflanzen verlieren an Standfestigkeit. Es kommt zum sog. „lodging“ (Abbildung 6, rechts b), das die Ernte behindert. Nach der Verpuppung im Boden fressen die Adulten an oberirdischen Pflanzenteilen wie den Blättern, Pollen und der Seide der weiblichen Blüten. Dieser Fraß führt zu verringerten Kolbenerträgen mit einem Einfluss auf die Saatgut- und Körnermaisernte.



Abbildung 5: Adulte *D. virgifera virgifera* (ungarischer Feldstamm, links männlich, rechts weiblich; Quelle: Biosicherheit, 2011e (K. Gloyna, BTL Bio-Test Labor GmbH))

Ursprünglich war der Käfer nur in Nordamerika beheimatet und bildete dort schon immer in den ausgedehnten Monokulturen ein Problem. Er konnte jedoch bis Mitte der 90er Jahre mit einer Fruchtfolge Mais – Soja erfolgreich kontrolliert werden, bis ein angepasster Biotyp entstand, der nun seine Eier in der Sojakultur ablegt und dann den folgenden Mais befällt (Spencer et al., 2005). Vor der großflächigen Einführung resistenter GV-Maissorten wurden durch den WCR in den USA jährliche Ernteausfälle und Kosten für Bekämpfungsmaßnahmen im Wert von 1 Mrd. US \$ verursacht (Krysan & Miller, 1986).



Abbildung 6: *D. virgifera virgifera* als Schädling (links: Larven an der Wurzel, Mitte: befallene Wurzel im Vergleich zu einer gesunden Wurzel, rechts: „lodging“ der Maispflanze als Reaktion auf die reduzierte Standfestigkeit; Quelle: Biosicherheit, 2011e (M. Czepo))

Seit 1992 erfolgte durch Flugzeuge eine Einschleppung des WCR nach Europa. Zunächst wurde der Käfer im Raum Belgrad / Serbien nachgewiesen. Von dort verbreitete er sich in den folgenden Jahren über Osteuropa. Parallel gab es weitere Einschleppungen nach Venedig / Italien (1998), Lombardei / Italien (2000), Paris / Frankreich (2002), Belgien, den Niederlanden und Großbritannien (2003). In Süddeutschland konnte der Käfer im Jahr 2009 in einigen Regionen nachgewiesen werden. Die Verbreitung über Europa im Jahr 2009 ist aus Abbildung 7 ersichtlich. In den roten Bereichen wurden in 2009 Käfer gefunden, der Schädling muss als etabliert angenommen werden. In den blauen Bereichen wurden zuvor Käfer nachgewiesen, für das Jahr 2009 sind aber keine Fänge dokumentiert.

Mitte August des Jahres 2010 wurde der Käfer erstmals in NRW auf einem Feld in Köln und einige Tage später in Straelen nahe der niederländischen Grenze gefunden (Landwirtschaftskammer, 2011).

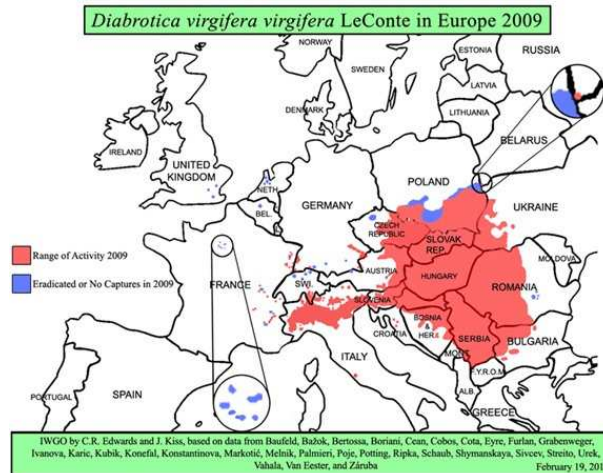


Abbildung 7: Vorkommen von *D. virgifera virgifera* in Europa 2009 (rote Bereiche: *D. v.* in 2009 aktiv vorkommend, blaue Bereiche: nur frühere Fänge, nicht aber in 2009; EPPO, 2011)

Aufgrund seines Potentials als Schädling wird der Maiswurzelbohrer in der EU als Quarantäneschädling behandelt. Die durch die EU-Kommission in den Entscheidungen 2003/766/EC (EC, 2003b), 2006/564/EC (EC, 2006) und 2008/644/EC (EC, 2008) vorgegebenen Sofortmaßnahmen wurden in Deutschland durch das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz 2008 in die Verordnung zur Bekämpfung des Westlichen Maiswurzelbohrers (MaiswBekV) umgesetzt (JKI, 2008). Ziel dieser Verordnung ist eine Ausrottung eingewandeter Einzeltiere vor der Etablierung einer Population.

Da eine Bekämpfung mit konventionellen Methoden wie Bodeninsektiziden und Saatgutbeizung aufgrund der Umweltauswirkungen problematisch und ohne die gewünschte Effektivität ist (Furlan et al., 2006), scheint eine Bekämpfung durch gentechnisch modifizierte *Bt*-Pflanzen ein probates Mittel.

3.3 Gentechnologie in der Maiszüchtung

3.3.1 Möglichkeiten und Bedeutung der Gentechnik in der Landwirtschaft

Durch die Einführung der Hybridtechnik in der Pflanzenzüchtung in den 1960er Jahren verlagerte sich die Pflanzenzüchtung erstmals vom Feld ins Labor, wo sich kontinuierlich neue Methoden wie die Züchtung mittels induzierter Mutationen oder verschiedene in vitro Verfahren entwickelten.

Dem wissenschaftlichen Fortschritt folgend, bestand der nächste Schritt in der gezielten Veränderung des Erbguts, etwa durch das Einbringen neuer Genabschnitte über Mikrobombardements, Elektroporation oder über Gentransfer mittels *Agrobacterium tumefaciens* (SMITH & TOWNSEND) CONN. Gentechnische Methoden machten es möglich, Gene anderer Organismen in das Genom der Maispflanze einzubringen und so neue Eigenschaften zu etablieren.

A. tumefaciens, ein gramnegatives Bodenbakterium, infiziert in vivo dikotyledone Pflanzen, indem es über sein tumorinduzierendes Ti-Plasmid die vorher durch die Aktivität der *vir*-Gene exprimierte T-DNA in die Pflanzenzelle transferiert. Bei anfälligen Pflanzen entsteht daraufhin eine Wurzelhalsgalle (Lewin, 1991). Marc van Montagu und Jozsef Schell beschrieben 1983 erstmals seine Fähigkeit, DNS in Pflanzen zu übertragen (Van Montagu, 2011). Damit war der Grundstein zur gezielten

Pflanzentransformation gelegt. Für die Nutzung des *A. tumefaciens* als Vektor werden dabei die tumorinduzierenden Gene auf dem Ti-Plasmid gegen die einzubauende DNS ausgetauscht. Durch die Aktivierung intakter *vir*-Gene auf einem weiteren Ti-Plasmid ohne T-DNA-Region kann diese neu eingebaute Region in die Pflanzenzelle übertragen und in die DNS eingebaut werden. Die zu behandelnden Pflanzenzellen werden gemeinsam mit dem Bakterium kultiviert, anschließend mit Hilfe eines Markers die erfolgreich transformierte Zellen bestimmt, aus diesen wiederum Pflanzen regeneriert und weitergezüchtet (Hellens & Mullineaux, 2000).

Dabei können drei Typen gentechnischer Veränderung unterschieden werden: die ältesten gentechnisch veränderten Maispflanzen besitzen sog. „added value traits“. Zu diesen Sorten mit wertsteigernden Eigenschaften gehört auch der *Bt*-Mais, der so modifiziert wurde, dass er Insektenfraß selbst abwehren kann, indem er spezifisch insektentoxische Proteine (Cry-Proteine) des Bakteriums *Bacillus thuringiensis* BERLINER exprimiert. Gentechnisch veränderte Kulturpflanzen der nächsten Generation sind einerseits Weiterentwicklungen der obigen Sorten mit verbesserten Anbaueigenschaften wie breiteren Insekten- oder Pilzresistenzen (stacked traits) oder höherer abiotischer Stresstoleranz (input traits) und andererseits auch Sorten mit veränderten Inhaltsstoffen, etwa bezogen auf Stärkegehalt, Biomasse (Energimais) oder spezielle Proteine (output traits) (DMK, 2011b; Biosicherheit, 2011a).

3.3.2 Das *Bt*-Konzept

Bacillus thuringiensis (GLARE & O'CALLAGHAN, 2000), ein häufig genutzter Donor in der grünen Gentechnik, ist ein aerobes, gram-positives, ubiquitär vorkommendes Bakterium. Es wurde 1901 erstmals beschrieben und kann auch in verschiedenen Pflanzen und Schmetterlingsraupen gefunden werden. In den Sporangien vieler *B. thuringiensis*-Stämme können kristalline Proteine (Cry-Proteine) nachgewiesen werden, die zunächst inaktiv vorliegen (Protoxin) und bei Aktivierung auf verschiedene Organismengruppen toxisch wirken können. Dabei wirken Proteine aus unterschiedlichen Stämmen durch ein Schlüssel-Schloss-Prinzip spezifisch auf bestimmte Zielorganismen (Schnepf et al., 1998). Nehmen diese die Sporangien auf, lösen sich die Protoxine durch das jeweilige Milieu im Mitteldarm und die Proteaseverdauung und werden so zum Toxin aktiviert. In ihrer aktivierten Form können sie an Rezeptoren im Mikrovilisaum des Darmepithels binden und eine Perforation der Epithelmembran verursachen. Durch den resultierenden erhöhten osmotischen Druck aufgrund gestörter pH- und Ionengradienten platzen die Zellen und das Tier stirbt (De Maagd et al., 2001; Bravo et al., 2007). In letzter Zeit zeigten weitergehende Untersuchungen, dass der Wirkmechanismus komplexer ist als bisher angenommen und verschiedene Enzyme wie Aminopeptidasen, Rezeptormoleküle wie Cadherin und Oligomerisierung von einzelnen Proteinen zu größeren Strukturen eine Rolle spielen. Auch wird Mikroorganismen im Magen anfälliger Arten eine Rolle in der Anfälligkeit zugeschrieben (Crickmore, 2005; Broderick et al., 2006; Siqueria et al., 2006; Bravo et al., 2007; Soberón et al., 2007; Rodrigo-Simón et al., 2008; Ibiza-Palacios et al., 2008). Derzeit sind rund 230 *Bt*-Proteine bekannt, die ursprünglich nach ihrer Toxizität gegenüber bestimmten Insektenordnungen in 5 Hauptklassen (Cry 1-5) unterteilt wurden. Eine Übersicht über einige Cry-Proteine bzw. Cry-Proteinfamilien mit beschriebener pestizider Wirkung und ihrer nachgewiesenen Zielorganismen liegt in Tabelle 2 vor. Dabei sind alle umrandeten Kästchen als eine überprüfte Interaktion zwischen einem Protein und einer potentiellen Zielgruppe zu interpretieren. Schwarz ausgefüllte Kästen zeigen eine nachgewiesene Wirkung im Bioassay an, während graue Kästen für eine eventuelle Interaktion stehen. Weiße Kästen zeigen nachgewiesene Inaktivität an. Die aktuelle Einteilung richtet sich, auch wegen der immer größer werdenden Anzahl bekannter Toxine, nach deren Sequenzhomologien (Crickmore et al., 1998; Crickmore et al., 2011), wobei nur für einen Bruchteil der beschriebenen Proteine wurden bisher Zielorganismen und Wirkmechanismus bestimmt wurden.

Tabelle 2: Übersicht bekannter Cry-Proteine / -Proteinfamilien und getesteter Zielorganismen (schwarz gefüllt: aktiv, weiß gefüllt: nicht aktiv, grau gefüllt: eventuell aktiv, ungefüllt: nicht getestet, Toxinfamilien, für die keine Bioassaydaten verfügbar sind, sind nicht aufgeführt; Quelle: Van Frankenhuyzen, 2009)

		Coleoptera	Collembola	Diptera	Blattaria	Hemiptera	Hymenoptera	Isoptera	Lepidoptera	Neuroptera	Orthoptera	Siphonoptera	Thysanoptera	Echinostomida	Rhabditiida	Cancer cells				Coleoptera	Collembola	Diptera	Blattaria	Hemiptera	Hymenoptera	Isoptera	Lepidoptera	Neuroptera	Orthoptera	Siphonoptera	Thysanoptera	Echinostomida	Rhabditiida	Cancer cells
Cry 1A																		Cry 19B																
Cry 1B																		Cry 20A																
Cry 1C																		Cry 21A																
Cry 1D																		Cry 22A																
Cry 1E																		Cry 22B																
Cry 1F																		Cry 23A																
Cry 1G																		Cry 24B																
Cry 1H																		Cry 24C																
Cry 1I																		Cry 27A																
Cry 1J																		Cry 29A																
Cry 1K																		Cry 30A																
Cry 2A																		Cry 30B																
Cry 3A																		Cry 30C																
Cry 3B																		Cry 31A																
Cry 3C																		Cry 32A																
Cry 4A																		Cry 32B																
Cry 4B																		Cry 32C																
Cry 5A																		Cry 32D																
Cry 5B																		Cry 33A																
Cry 6A																		Cry 34A																
Cry 6B																		Cry 34B																
Cry 7A																		Cry 35A																
Cry 7B																		Cry 35B																
Cry 8A																		Cry 36A																
Cry 8B																		Cry 37A																
Cry 8C																		Cry 38A																
Cry 8D																		Cry 39A																
Cry 8E																		Cry 40A																
Cry 8F																		Cry 40B																
Cry 8G																		Cry 41A																
Cry 9A																		Cry 42A																
Cry 9B																		Cry 43A																
Cry 9C																		Cry 43B																
Cry 9D																		Cry 44A																
Cry 9E																		Cry 45A																
Cry 10A																		Cry 46A																
Cry 11A																		Cry 47A																
Cry 11B																		Cry 48A																
Cry 12A																		Cry 49A																
Cry 13A																		Cry 51A																
Cry 14A																		Cry 55A																
Cry 15A																		Cyt 1A																
Cry 16A																		Cyt 1B																
Cry 17A																		Cyt 2A																
Cry 18A																		Cyt 2B																
Cry 19A																		Cyt 2C																

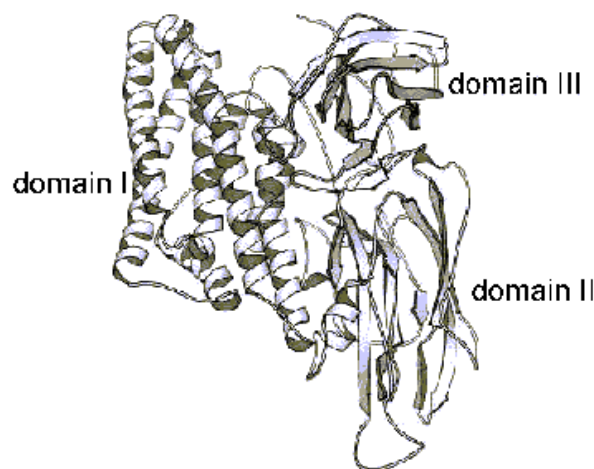


Abbildung 8: schematische Übersicht eines Cry-Proteins mit den drei Domänen in α -Helix (Domäne I) bzw. β -Faltblattstruktur (Domäne II und III) (Quelle: De Maagd et al., 2003)

Im Allgemeinen bestehen die Cry-Proteine jeweils aus drei Domänen. Eine dieser Domänen liegt im Wesentlichen als α -Helix vor, die beiden anderen als β -Faltblattstrukturen. In jedem Cry-Protein liegen im Inneren fünf strukturerhaltende Abschnitte vor, während alle anderen Bereiche der Proteine auf den jeweiligen Wirt zugeschnitten sind (Abbildung 8).

Werden nun die kodierenden Genomabschnitte von *B. thuringiensis* durch den Vektor *A. tumefaciens* in das Genom einer Pflanze übertragen, produziert diese selbst das Cry-Protein, entweder in der inaktiven oder auch der aktiven Form, in jedem Fall jedoch nicht kristallin, sondern gelöst. Frisst nun ein Zielorganismus an der Pflanze, nimmt er das Toxin auf und verendet. Wichtige Proteingruppen für diese Anwendungen sind die gegen Lepidopteren spezifische Cry1- und die gegen Coleopteren spezifische Cry3-Gruppe. Im Zuge der stetigen Fortentwicklung des *Bt*-Konzepts werden neuerdings auch Sorten mit synthetisch veränderten, gekürzten oder fusionierten Cry-Proteinen wie Cry1A.105 und mit Kombinationen von verschiedenen Cry-Proteinen (stacked events) entwickelt.

3.3.3 Stand der Anwendung von *Bt*-Pflanzen in Europa und weltweit

Weltweit sind heute vor allem Baumwolle (*Gossypium hirsutum* L.) und Mais (*Zea mays* L.) wichtige *Bt*-Pflanzen, aber auch Kartoffeln (*Solanum tuberosum* L.) und Tomaten (*Lycopersicon esculentum* L.) sind erhältlich (CERA, 2011a). Reis (*Oryza sativa* L.) wurde zwar bereits verändert, aber bisher nicht kommerzialisiert. In 2009 erfolgte jedoch eine Zulassung von *Bt*-Reis in China (James, 2009).

In Europa wurde bislang lediglich *Bt*-Mais mit Resistenzen gegen den Maiszünsler, hervorgerufen durch die Expression des Cry-Proteins Cry1Ab, für den kommerziellen Anbau zugelassen. Das einzig zugelassene Event gegenwärtig ist MON 810 der Firma Monsanto (CERA, 2011b), nachdem die 1997 erfolgte Zulassung von Bt 176 durch die Firma Syngenta Crop Protection AG im Jahr 2007 auslief und kein Antrag auf Verlängerung gestellt wurde (Transgen, 2011). Darüber hinaus gibt es einige Zulassungen zum Import und die Verwendung als Lebens- oder Futtermittel. Etwa 100 Sorten, die das Event MON 810 tragen, wurden bisher nach einer Sortenprüfung zugelassen (Transgen, 2009).

Weltweit werden gentechnisch veränderte (nicht nur *Bt*) Pflanzen in 25 Ländern angebaut. GV-Mais wird dabei auf einer Fläche von insgesamt 42 Mio. ha angebaut (Gesamtanbaufläche Mais 158 Mio. ha), damit sind 26 % der weltweit angebauten Maispflanzen gentechnisch verändert. Der größte Anteil der Anbauflächen liegt dabei in den USA, Argentinien, Kanada, Südafrika, Uruguay, den Philippinen, Chile und Honduras. In Europa ging die Anbaufläche von *Bt*-Mais entgegen dem weltweiten Trend 2009 nach zuvor steigenden Flächen von 109.000 ha (2008) auf 94.000 ha zurück, bedingt durch verhängte Anbauverbote in Frankreich (2008) und Deutschland (2009). Der Hauptanteil (80%) an den verbleibenden Flächen liegt in Spanien (22 % der spanischen Maiserzeugung). Weitere Anbauländer in Europa sind die Tschechische Republik, Portugal, Rumänien, Polen und die Slowakische Republik (James, 2009).

In der Zulassung durch die EU befinden sich derzeit *Bt*-Maislinien, die Resistenzen gegen den Maiswurzelbohrer durch die Expression des Cry3Bb1-Proteins tragen.

3.4 Zulassung von GV-Pflanzen in Europa

3.4.1 Verfahren

Grundsätzlich ist der Einsatz gentechnisch modifizierter Nutzpflanzen innerhalb der EU zulassungspflichtig. In jedem Einzelfall erfolgt diese Zulassung nach der Prüfung festgesetzter Kriterien bezogen auf die Sicherheit eines Produktes (Erlaubnisvorbehalt im Einzelfallprinzip). Dabei

ist bezogen auf die Rahmenbedingungen zwischen dem Einsatz als Lebens- und Futtermittel nach Import (1829/2003/EC) (EC, 2003a) und dem Inverkehrbringen zum Anbau (2001/18/EC) (EC, 2001) zu unterscheiden. Bei dem Inverkehrbringen zum Zwecke des Anbaus muss neben der Sicherheit der Gesundheit von Mensch und Tier auch die Sicherheit der Umwelt nachgewiesen werden. Dazu wird eine Umweltrisikoprüfung (environmental risk assessment, ERA, vgl. folgendes Kapitel) vorgenommen. Geprüft wird, ob ein GV-Produkt genauso sicher ist wie ein konventionell erzeugtes Produkt, es wird also die relative Sicherheit bewertet.

Der Antrag auf Inverkehrbringung einer Neuentwicklung wird durch den Hersteller an die zuständige nationale Behörde (in Deutschland BVL) gestellt, die diesen an die europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) weitergibt. Dort wird er nach den Vorgaben der Verordnung 2001/18/EC, der Entscheidung der EU Kommission 2002/811/EC sowie Richtlinien der EFSA (EC, 2001; EFSA, 2006a, 2008, 2009, 2010a) beurteilt und eine Empfehlung ausgesprochen. Eine Entscheidung erfolgt anschließend durch den Ministerrat sowie den ständigen Ausschuss und bei Uneinigkeit durch die europäische Kommission.

3.4.2 Umweltrisikobewertung als Grundlage der Zulassung von *Bt*-Mais

Neue *Bt*-Maislinien werden in der EU einer Umweltrisikoprüfung vor Zulassung unterzogen. Dabei werden die Auswirkungen des Anbaus dieser neuen Events auf die umgebende Umwelt in jedem Zulassungsfall aufs Neue evaluiert, um mögliche direkte und indirekte, akute und chronische Effekte aufzudecken. Zusätzlich zu dieser Überprüfung der Umweltverträglichkeit wird in der EU-Direktive 2001/18/EC ein Beobachtungsplan für die Zeit nach der Zulassung vorgesehen, um a) in bestimmten Fällen unklare Datenlagen und vorhersehbare Effekte zu überprüfen, falls solche in der ERA identifiziert wurden (case-specific monitoring) und um b) unvorhersehbare Effekte, die potentiell nach der Freisetzung auftreten könnten, möglichst zeitnah zu identifizieren (general surveillance) (EC, 2001, 2002; EFSA, 2006b, 2010a). Um die Umweltverträglichkeit zu überprüfen, ist ein mehrstufiges Verfahren vorgesehen.

Zunächst muss eine Problemanalyse stattfinden (Abbildung 9: (1) problem formulation), in der Hypothesen bezüglich des Gefährdungspotentials einer neuen Pflanze aufgestellt werden. Hier fließt Expertenwissen ebenso ein wie vorhandene Studien und Wissen um Wirkweise und (etwa bei *Bt*-Pflanzen) Expressionsdaten. Eine Abschätzung der ein Risiko definierenden Faktoren „Wahrscheinlichkeit der Exposition“ und „Gefährdungsmoment“ (exposure & hazard) muss einzeln erfolgen und in den nachfolgenden Stufen (2) und (3) evaluiert werden. Nur wenn beide Faktoren wirken, kann ein Risiko angenommen werden.

Ein integraler Bestandteil der Umweltrisikoprüfung ist die Risikoabschätzung für Nicht-Zielorganismen in der Agrarlandschaft, also alle Organismen, die durch die zu prüfende Pflanze nicht beeinflusst werden sollten. Dies wären z.B. im Fall des *Bt*-Mais MON 810 alle in der Agrarlandschaft vorkommenden Organismen außer dem Zielorganismus *Ostrinia nubilalis*. In der Problemanalyse müssen potentiell gefährdete NTO identifiziert werden. Dies geschieht über eine Abschätzung der relevanten Expositionswege und die Identifizierung möglicher Effekte. Im Fall MON 810 können etwa Lepidopteren aufgrund der Verwandtschaft zum Zielorganismus als potentiell gefährdet eingestuft werden. Weitere interessante Organismen können etwa über die Kombination von Wissen um Fraßverhalten und Expressionsdaten der Cry-Proteine identifiziert werden. In einem weiteren Schritt kann der Einfluss auf das Ökosystem durch etwaige Veränderungen modelliert und der Einfluss auf definierte Schutzziele untersucht werden.

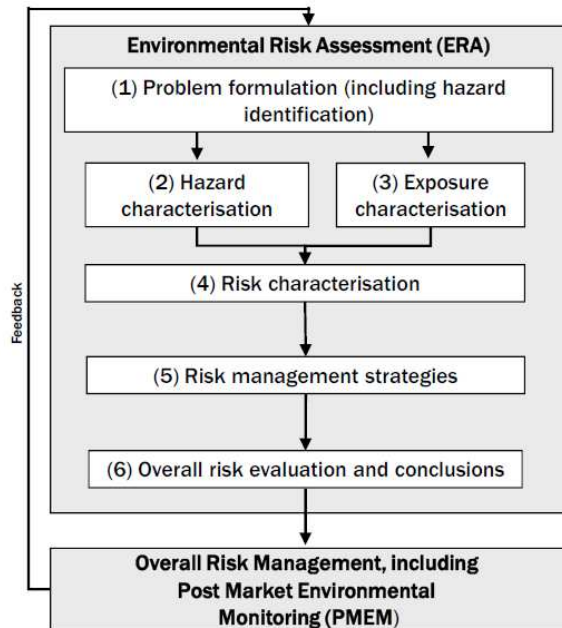


Abbildung 9: Übersicht über das 6-stufige Konzept der Umweltrisikoprüfung nach der Direktive 2001/18/EC und der Verordnung 1829/2003/EC (Quelle: EFSA, 2010a)

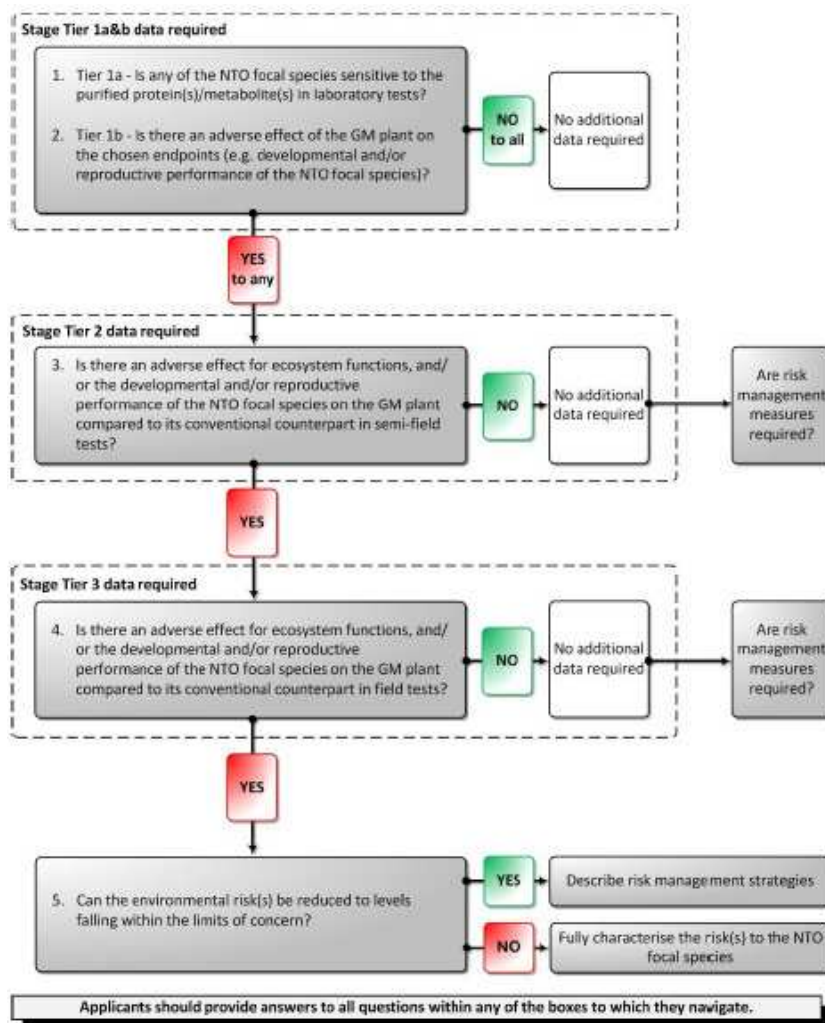


Abbildung 10: Entscheidungsbaum für den mehrstufigen Ansatz (tiered approach) in der Hypothesen-basierten Untersuchung in der Umweltrisikoprüfung (EFSA, 2010a)

Einen weiteren wichtigen Teil der Problemanalyse machen die Festsetzung der zu untersuchenden Parameter und die anzuwendenden Probenahmetechniken aus.

Es entsteht letztlich ein Arbeitsplan, der mit sog. „first tier“-Versuchen in Labor und Gewächshaus mit einigen zuvor ausgewählten Stellvertreterarten startet (Abbildung 10: Tier 1a und 1b). Die Ausgestaltung der „lower tier“-Versuche erfolgt je nach Einzelfall, so kann auch ein Review bekannter Datensätze dazuzählen und erneute Laborversuche unnötig machen. Ergeben sich in den „lower tier“-Untersuchungen Fragestellungen, die nur in komplexeren Experimenten, Halfreiland- oder Freilandversuchen beantwortet werden können, folgen diese in den „higher tier“-Versuchen, die multitrophische und Art-Art-Interaktionen berücksichtigen und auch Faktoren der umgebenden Umwelt mit einbeziehen (Abbildung 10: tier 2, tier 3, (EFSA, 2010; Romeis et al., 2008, 2006; Garcia-Alonso et al., 2006)).

Wie Abbildung 10 zeigt, setzt die Durchführung dieses an die Pestizidzulassung angelehnten Ansatzes (Suhre, 2000) nicht voraus, dass in jedem Fall alle Schritte durchlaufen werden müssen. Vielmehr erfolgt nach jedem Schritt ein Abgleich mit der Risikohypothese, aus dem sich entweder weitere Fragestellungen oder eine Entscheidung ergeben. Dies verhindert das unnötige Erheben von großen Datensätzen und ermöglicht so einen verantwortlichen Umgang mit Ressourcen.

Eine Gefährdung durch die Aufnahme eines Stoffes wie dem Cry1Ab-Protein aus MON 810 zum Beispiel setzt einerseits eine Aufnahme durch Organismen voraus, was anhand von vorhandenem Wissen zum Verhalten (insbesondere Fraßverhalten) angenommen und etwa mit Proteinanalysen von im Freiland gefangenen Tieren verifiziert werden kann. Dabei kommen z.B. Herbivore in Frage, die direkt am Mais fressen und dabei Pflanzenteile aufnehmen, in denen das Cry1Ab exprimiert wird oder Räuber, die diese exponierten Herbivoren fressen.

Andererseits ist für ein Risiko aber auch das Gefährdungsmoment durch das Protein Voraussetzung, das in Laborversuchen in einem worst case-Szenario untersucht und mittels einer Dosis-Wirkungs-Beziehung ausgewertet werden kann. Aus einer Kombination beider Faktoren kann dann eine Abschätzung des Risikos erfolgen (Abbildung 9: (4) risk characterisation). Werden wie oben erläutert in diesem Schritt Risiken charakterisiert, erfolgt im fünften Schritt eine Formulierung von Risikomanagement-Strategien. Im Fall von MON 810 spielt dies eine Rolle in der Bekämpfung der Resistenzentwicklung beim Zielorganismus. So wurden bestimmte Refugiengrößen definiert, in denen konventioneller Mais angebaut werden muss, um zu garantieren, dass langfristig eine Mehrzahl suszeptibler Falter überlebt, so dass eventuell vorhandene resistente Falter sich mit hoher Wahrscheinlichkeit mit suszeptiblen Faltern paaren und so die Resistenzgene „verdünnt“ werden. Dies soll die Entwicklung von Resistenzen verzögern (high dose refuge strategy, Carrière & Tabashnik, 2001).

Im finalen sechsten Schritt (Abbildung 9: (6)) erfolgt dann eine Zusammenführung aller Ergebnisse, die zur letztendlichen Empfehlung durch die EFSA führt und die Grundlage für die Auflagen bei einer Zulassung hinsichtlich der Risikominimierung bilden. Bestandteil dieser Auflagen ist der Monitoring-Plan zum sog. „post market environmental monitoring“ (PMEM). Im PMEM werden anbaubegleitend definierte Daten erhoben. Diese sollen im Einzelfall dazu dienen, Wissenslücken über vermutete negative Einflüsse zu schließen, die in der Sicherheitsbewertung nicht abschließend beurteilt werden konnten (case-specific monitoring). Darüber hinaus werden in jedem Fall allgemeine Daten erhoben, die dazu dienen, unvorhersehbare Wechselwirkungen zu erfassen oder solche, die über allgemein bekannte, jedoch im speziellen Fall noch nicht beobachtete Wirkungswege eintreten (general surveillance).

Die zuvor vorgestellte Vorgehensweise wird durch die von der EFSA festgesetzten Rahmenbedingungen für die Umweltrisikooanalyse vorgegeben, muss aber durch Wissenschaftler umgesetzt werden. Dabei gibt es eine anhaltende Debatte um die Notwendigkeit von Feldversuchen und die Wahl der Testorganismen (Andow & Hilbeck, 2004; Romeis et al., 2006, 2007, 2008), die auf unterschiedlichen Sichtweisen der Problemstellung beruhen. Wird das in *Bt*-Pflanzen eingebrachte Cry-Protein als Stressor im Sinne eines Pestizids angesehen (Romeis et al., 2006, 2007, 2008), kann in Anlehnung an die Pestizidzulassung nach validen, hochdosierten Laborversuchen mit definierten Testorganismen und klaren Messgrößen eine Risikobewertung vorgenommen werden. Die Umwelt, in die eine Pflanze ausgebracht wird, wird hierbei jedoch größtenteils außer Acht gelassen, da

angenommen wird, dass die einzige Abweichung der neuen Variante in der Expression des Proteins liegt. Nur diese wird beurteilt. Wird das Ökosystem Agrarlandschaft in den Mittelpunkt der Betrachtung gestellt und wird weiterhin angenommen, dass die veränderte Pflanze in ihrer Gesamtheit Auswirkungen auf die Umwelt hat (Andow & Hilbeck, 2004), lässt sich daran die Notwendigkeit festmachen, alle neuen Entwicklungen auch im Freiland unter realistischen Bedingungen mit allen beeinflussenden Faktoren (wie der Einfluss des Wetters und der

landwirtschaftlichen Praxis, den Bodengegebenheiten oder der Einwanderung von Organismen aus der Umgebung) zu untersuchen. Diese Umweltfaktoren führen möglicherweise zu einem klareren Bild eventueller Wechselwirkungen, sind gleichzeitig aber für schwankende, schwierig bis gar nicht statistisch auszuwertende Datensätze verantwortlich. Die ökologische Relevanz der im Laborversuch erhaltenen Daten an sich ist beschränkt, da eine künstliche Umgebung, sehr hohe Toxingaben, eine künstliche Diät und wenn überhaupt sehr vereinfachte Wechselwirkungen zu anderen Organismen die Versuche einschränken. Durch zusätzliche Feldforschung können die dort erhaltenen Daten jedoch erweitert werden. Darüber hinaus werden wertvolle Daten etwa zur Funktion verschiedener Organismen in Ökosystemen oder trophischen Interaktionen gesammelt, die zukünftig schon in der Problemanalyse berücksichtigt werden können. Feldversuche können eventuelle Unterschiede zwar unter Umständen aufzeigen, verantwortliche Einzelfaktoren werden aber nicht klar herausgestellt.

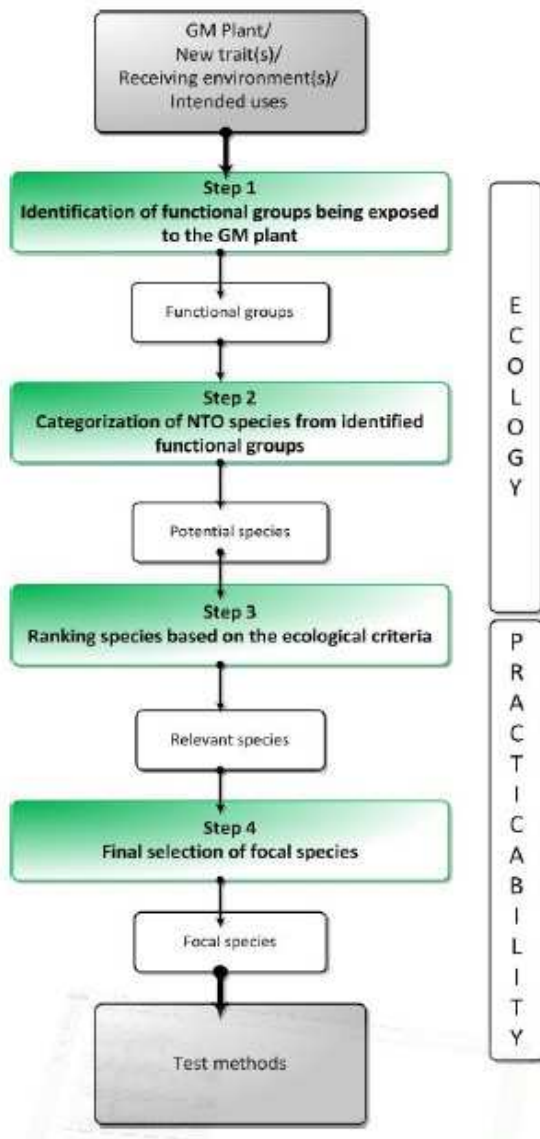


Abbildung 11: Übersicht über den mehrstufigen Ansatz zur Auswahl möglicher Stellvertreterarten (EFSA, 2010)

In keinem Fall können jedoch mit allen potentiell involvierten Arten Labortests durchgeführt werden, so dass eine Auswahl von Testorganismen (Abbildung 11) vonnöten ist. Diese Auswahl beeinflusst die Relevanz der Daten und die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die Agrarlandschaft. Neben ökologischer Relevanz und Funktionalität einer Kandidaten-Art muss dabei ebenso betrachtet werden, spielt die Handhabbarkeit dieser Art im Labor eine wichtige Rolle (Versuchsprotokolle; Testsysteme; Erfahrung mit Zucht der Tiere).

3.5 Untersuchte Organismen und Stand der Forschung

Die neuen *Bt*-Maislinien beeinflussen möglicherweise im Feld lebende Biozösen, also Nicht-Zielorganismen, die direkt am Mais fressen oder Räuber sind, die exponierte Herbivore fressen. Dieser Einfluss könnte etwa durch die Aufnahme des Cry-Proteins in effektiven Dosen aus *Bt*-Pflanzen oder belasteter Beute, oder durch eine Qualitäts- bzw. Quantitätsminderung anfälliger Beute, sein (Romeis et al., 2009). In Feldversuchen kann die Zusammensetzung der Zösen und die Abundanzen bzw. Dichten einzelner Arten als Endpunkte sowie die tatsächliche Exposition untersucht werden, während in Laborstudien Daten zum Gefährdungsmoment etwa in Fraßstudien erhoben werden können.

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei verschiedene Gruppen von Nicht-Zielorganismen ausgewählt. Diese beiden Organismengruppen werden in den folgenden Abschnitten vorgestellt. Da die Umweltrisikoprüfung im Einzelfallprinzip erneut für jedes Event erfolgt (case by case), ist ein genaues Wissen um die Veränderung und die neuentstandene Pflanze Voraussetzung zur Planung, Durchführung sowie Auswertung des Prüfplanes. Die in dieser Studie verwendete Sorte DKC 5143-*Bt* MON 89034 x MON 88017, ihr Zulassungs- und Forschungsstand werden zunächst vorgestellt.

3.5.1 DKC 5143-*Bt* MON 89034 x MON 88017 als neuer „stacked“ Mais

Die Sorte DKC 5143-*Bt* MON 89034 x MON 88017 ist eine GV-Maissorte der neuen Generation, die mehrere Cry-Proteine gegen verschiedene Schadinsekten exprimiert (stacked events). Sie wurde durch die konventionelle Kreuzung der zwei *Bt*-Events MON 89034 und MON 88017 vor dem Hintergrund der konventionellen Sorte DKC 5143 hergestellt.

MON 89034 wurde durch die Verwendung des PV-ZMIR245-Plasmids (Abbildung 12) transformiert und exprimiert die Cry-Proteine Cry1A.105 und Cry2Ab2. Es wurde erstmals in den USA 2007 als Futter- bzw. Nahrungsmittel zugelassen, 2008 auch zum Anbau. Seit 2009 besteht eine Zulassung in der EU als Futter- bzw. Nahrungsmittel. Entwickelt wurde das Produkt durch die Monsanto Company Ltd. und ist resistent gegen den Maiszünsler *Ostrinia nubilalis* ebenso wie gegen weitere in den USA relevante Schädlinge (*Ostrinia furnacalis* (Asian corn borer), *Diatraea grandiosella* (Southwestern corn borer), *Diatraea saccharalis* (sugarcane borer), *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm) und *Helicoverpa armigera* bzw. *Helicoverpa zea* (corn earworm)). Das synthetische Cry1A.105 wird durch das chimäre *cry1A.105*-Gen kodiert, dass aus verschiedenen Abschnitten früher verwendeter *cry*-Gene besteht. So entsprechen die Domänen I und II des entstehenden Cry1A.105 den entsprechenden Domänen der Cry1Ab- und Cry1Ac-Proteine, während die Domäne III dem Cry1F-Protein nahezu identisch ist. Die C-terminale Domäne entspricht der des Cry1Ac-Proteins. Das zweite exprimierte Cry-Protein, Cry2Ab2, entstammt ursprünglich dem *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* und unterscheidet sich vom durch den Wildtyp exprimierten Protein um lediglich eine Aminosäure. Die genaue Zusammensetzung der Genkassette kann Tabelle 3 entnommen werden. Beide *cry*-Gene unterliegen der Regulation durch einen 35S-Promotor und werden in allen Pflanzenteilen exprimiert. Die ursprünglich als Marker zur Isolation transformierter Zellen eingefügte Resistenz gegen Kanamycin und vergleichbare Antibiotika durch Einbau des *nptII*-Gens (T-DNA II in Abbildung 12 und Tabelle 3) wurde anschließend durch konventionelle Züchtung entfernt, ist also nicht Bestandteil des Events MON 89034 (CERA, 2011c).

Tabelle 3: Ursprung und Funktion der Komponenten des PV-ZMIR245-Plasmids, genutzt für die Herstellung des MON 89034 (verändert nach: Freisetzungsantrag, 2008)

Genetisches Element	Größe (~kb)	Funktion (Referenz)
T-DNA I		
B ¹ -rechte Border	0,36	DNA Region aus <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , welche die 24 bp rechte Bordersequenz enthält, die für den Transfer der T-DNA genutzt wird
P ² -e35S	0,62	Promotor und 5'UTR für den Blumenkohlmosaik-Virus (CaMV) 35S RNA, die die duplizierte Enhancerregion enthält
L ³ -Cab	0,06	5' untranslatierte Region des Gens für das Weizenchlorophyll a/b-bindende Protein zur Erleichterung der Expression
I ⁴ -Ract1	0,48	Intron vom Reis Actin Gen zur Erleichterung der Expression
CS ⁵ -cry1A.105	3,53	Kodierende Sequenz für das <i>Bacillus thuringiensis</i> Cry1A.105 Protein
T ⁶ -Hsp17	0,21	3' Transkriptionsterminationssequenz für das Weizenhitzeschockprotein 17.3, das die Transkription beendet und die Polyadenylierung anführt
P-FMV	0,56	Braunwurzmosaikvirus 35S Promotor
I-Hsp70	0,80	Erstes Intron vom Maishitzeschockprotein 70 Gen
TS-SSU-CTP	0,40	DNA Region, die die Chloroplastentransitpeptidsequenz von Maisribulose 1,5-Bisphosphate-Carboxylase und das erste Intron enthält. Die hierdurch erzielte Lokalisation führt zu einer Expression des Cry2Ab2 Proteins in der Pflanze, die ausreichend ist, den gewünschten Fraßschutz zu vermitteln.
CS-cry2Ab2	1,91	Kodierende Sequenz für ein Cry2Ab2 Protein vom <i>Bacillus thuringiensis</i> . Diese kodierende Sequenz nutzt eine modifizierte Kodon-Anwendung.
T-nos	0,25	3' Transkriptionsterminationssequenz des Nopalin-Synthese (nos) Gens vom <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , das die Transkription beendet und die Polyadenylierung anführt
B-linke Border	0,44	DNA Region aus <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , die die 25 bp linke Bordersequenz für den Transfer der T-DNA enthält
T-DNA II		
B-rechte Border	0,36	DNA-Region aus <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , die die 24 pb rechte Bordersequenz für den Transfer der T-DNA enthält
T-nos	0,25	3' Transkriptionsterminationssequenz der Nopalin-Synthese (nos) kodierenden Sequenz aus <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , das die Transkription beendet und Polyadenylierung anführt
CS-npt II	0,79	Kodierende Sequenz für das Neomycin Phosphotransferase II Protein, das Resistenz zu Neomycin und Kanamycin vermittelt
P-35S	0,32	Promotor und Leader für den Blumenkohlmosaik-Virus (CaMV) 35S RNA
B-linke Border	0,44	DNA Region aus <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , das die 25 bp linke Bordersequenz für den Transfer von T-DNA enthält

1. B - Borderregion. Diese Regionen sind nicht unbedingt für die Insertion nötig, dienen aber der Unterstützung der Transformation.
2. P - Promotor
3. L - Leader
4. I - Intron
5. CS - Kodierende Sequenz
6. T - Transkriptionsterminationssequenz



T-DNA I

Zusätzlich hat MON 88017 auch eine Toleranz gegenüber Herbizidbehandlungen mit dem Wirkstoff Glyphosat (Produkt Roundup®), vermittelt durch das *cp4 epsps* Gen. Es kodiert für eine herbizidtolerante Form des Enzyms 5-Enolpyruvylshikimat-3-Phosphat-Synthase (EPSPS) aus *A. tumefaciens* (Stamm CP4). In der nicht-resistenten Form kann es durch Glyphosat gebunden und inaktiviert werden. Damit wird die Synthese der aromatischen Aminosäuren Tyrosin, Phenylalanin und Tryptophan (Shikimisäureweg) blockiert. Das *cp4 epsps*-Gen unterliegt der Regulation durch einen Aktin-Promotor aus *Oryza sativa* (CERA, 2011d).

21

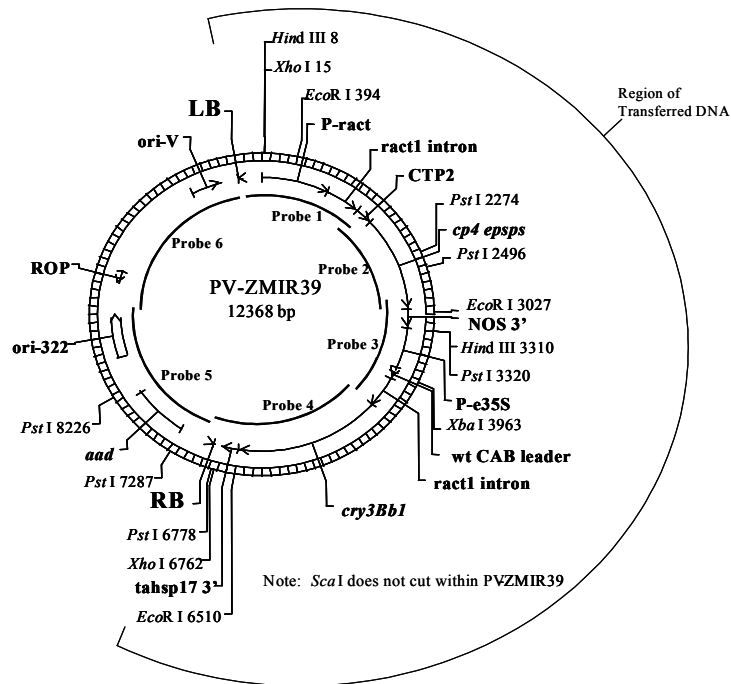


Abbildung 13: Karte des Plasmids PV-ZMIR39, genutzt für die Entwicklung von MON88017 (Freisetzungsantrag, 2008)

Tabelle 4: Komponenten des Plasmids PV-ZMIR39 und ihre Funktionen, genutzt zur Entwicklung von MON88017 (verändert nach: Freisetzungsantrag, 2008)

Element	Größe (~kb)	Funktion
B ¹ -linke Border	0,02	DNA Region aus <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , das die 25 bp linke Bordersequenz für den Transfer von T-DNA enthält
P ² -Ract1	0,93	Promotor aus dem Reis-Actin-Gen
I ³ -Ract1	0,46	Intron aus dem Reis-Actin-Gen zur Erleichterung der Expression
S ⁴ -CTP2	0,23	DNA-Sequenz, die das N-teminalchloroplastentransitpeptid codiert
CS ⁵ -cp4 epsps	1,37	DNA-Sequenz, die das native CP4 EPSPS Protein codiert
T ⁶ -nos	0,26	3' Transkriptionsterminationssequenz für die Nopalinsynthase (nos) aus <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , die die Transkription beendet und die Polyadenylierung anführt
P-e35S	0,61	Promotor und Leader für den Blumenkohlmosaik-Virus (CaMV) 35S RNA, die die duplizierte Enhancerregion enthält
L ⁷ -Cab	0,07	5' untranslatierte Region des Gens für das Weizenchlorophyll a/b-bindende Protein zur Erleichterung der Expression
I-Ract1	0,46	Intron vom Reis-Actin-Gen
CS-cry3Bb1 ⁸	1,96	DNA Sequenz, die die synthetische Variante des Cry3Bb1-Protein aus <i>Bacillus thuringiensis</i> codiert
T-Hsp17	0,23	3' Transkriptionsterminationssequenz für das Weizenhitzeschockprotein 17,3, das die Transkription beendet und die Polyadenylierung anführt
B-rechte Border	0,24	DNA Region aus <i>Agrobacterium tumefaciens</i> , die die rechte Bordersequenz, die für den Transfer der T-DNA genutzt wird, enthält

1. B – Borderregion, 2. P – Promotor, 3. I – Intron, 4. S – Sequenz, 5. CS – Kodierende Sequenz, 6. T – Transkriptionsterminationssequenz, 7. L – Leader, 8. Cry3Bb1 bezieht sich auf das Protein in MON 88017-Mais, wenn nicht anders angegeben.

Die in dieser Studie genutzte, konventionelle Kreuzung der beiden oben vorgestellten Events wird als MON 89034 x MON 88017 bezeichnet. Sie exprimiert alle oben vorgestellten Cry-Proteine (Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry3Bb1) und ist tolerant gegenüber „Roundup®“ (Wirkstoff Glyphosat).

MON 89034 x MON 88017 unterliegt als konventionelle Kreuzung nicht in allen Ländern einer Regulierung als neuer GVO, so lange beide Parentallinien zugelassen sind. Dies trifft etwa auf die USA zu. In anderen Ländern wie Japan, Kanada und der EU unterliegen auch konventionelle Kreuzungen von bereits erprobten GVO-Linien als neue Events einem Zulassungsprozess. Eine erste Zulassung des Events MON 89034 x MON 88017 erfolgt 2009 in Japan (Japanese Biosafety Clearing House, 2009). In der EU erfolgte nach Antrag in den Niederlanden am 12. Februar 2007 auf Grundlage der EU Verordnung 1829/2003 eine Zulassung zur Verwendung und Verarbeitung als Futter- bzw. Lebensmittel nach Import am 30.03.2010 (EFSA, 2010b). Zusätzlich wurde am 03.06.2009 ein Antrag auf Zulassung zum Anbau bei der nationalen Behörde in Belgien eingereicht, der am 04.11.2009 als vollständig akzeptiert wurde. Derzeit werden zur Stellungnahme weitere Daten vom Antragsteller erwartet (EFSA, 2011).

Alle eingebrachten Gene und ihre Produkte der beiden Ursprungslinien wurden in der Vergangenheit in Zulassungsverfahren verschiedenster Aufsichtsbehörden als sicher bewertet, zugelassen und aufgrund jahrelanger Nutzung als sicher angesehen (history of safe use). Eine Interaktion der verschiedenen Proteine oder nachteilige synergistische Effekte zwischen ihnen in der „stacked“ Kreuzung konnten bislang nicht gezeigt werden (Japanese Biosafety Clearing House, 2009; EFSA, 2010b).

3.5.2 Herbivore Arthropoden der Krautschicht und der Blüte sowie ihre Prädatoren

3.5.2.1 Organismengruppe und *Bt*-Mais-Forschung

Herbivore Arthropoden und ihre Gegenspieler (Prädatoren) sind in einer hohen Diversität im Maisfeld vertreten. Sie nutzen vielfältige Pflanzensubstrate, variieren in ihrem Fraßverhalten und ihrer Mobilität (Schmitz & Bartsch, 2001; Bourguet et al., 2002; Kiss et al., 2002; Dively & Rose, 2003; Jasinski et al., 2003; Candolfi et al., 2004; Musser et al., 2004; Rauschen et al., 2004, 2008; Daly & Buntin, 2005; Harwood et al., 2005; Scholte & Dicke, 2005; Eckert et al., 2006; Sanvido et al., 2009; Meissle & Romeis, 2009).

Häufig vorkommende Gruppen sind dabei die Zikaden, pflanzenfressende und räuberische Wanzen, Blattkäfer, Marienkäfer, Thripse, Spinnen, Blattläuse, Dipteren wie Schwebfliegen und Netzflügler wie Florfliegen.

Für einige herbivore Gruppen wie Xylem- und Mesophyll-saugende Zikaden (Auchenorrhyncha), pflanzensaugende Wanzen (Heteroptera: Miridae), Thripse (Thysanoptera) und Blattkäfer (Coleoptera: Chrysomelidae) konnte, wenigstens für einige Arten, bereits eine Exposition gegenüber Cry-Proteinen aus *Bt*-Mais nachgewiesen werden (Zwahlen et al., 2000; Dutton et al., 2004; Harwood et al., 2005; Obrist et al., 2005, 2006a; Rauschen et al., 2008; Rauschen, 2008; Meissle & Romeis, 2009). Für die Art *Zyginidia scutellaris* konnte gezeigt werden, dass der *Bt*-Mais MON 88017 keinen Einfluss auf das Vorkommen im Feld hat (Rauschen et al., 2010a).

Auch Prädatoren können durch die Aufnahme belasteter Beute dem Cry-Protein gegenüber exponiert sein. Dies wurde für Generalisten wie die Kugelspinne *Theridion impressum* (Arachnida: Theridiidae) (Meissle & Romeis, 2009) und die räuberischen Wanzengattungen der Blumenwanze *Orius* (Heteroptera: Anthocoridae) und der Sichelwanzen (Heteroptera: Nabidae) (Harwood et al., 2005; Obrist et al., 2006b; Torres & Ruberson, 2008) gezeigt. Für Parasitoide oder Prädatoren mit einem engen Beutespektrum kann bei Belastung der Beute ebenfalls von einer Exposition ausgegangen werden.

Bei nachgewiesener Exposition könnte im Fall eines Gefährdungsmoments durch die vorliegenden Cry-Proteine ein Risiko für die teilweise als Nützlinge anzusehenden Nicht-Zielorganismen vorliegen. Da in den oben zitierten Studien jeweils *Bt*-Pflanzen mit nur einem Event verwendet wurden, sind Studien zur Wirkung von Cry-Proteinen in Kombination angesichts der neuen Generation der „stacked“ Pflanzen angeraten.

3.5.2.2 Modellorganismus *Trigonotylus caelestialium*

Wird ein Cry-Protein durch einen suszeptiblen Zielorganismus aufgenommen, ist die Interaktion zwischen z.B. Insekt und Protein in einigen Fällen sehr genau verstanden, in anderen bestehen Hypothesen oder der Vorgang ist noch völlig ungeklärt. In jedem Fall ist in der suszeptiblen Interaktion das Schicksal des Proteins an den Zielorganismus gekoppelt. Wird das Cry-Protein durch einen Nicht-Zielorganismus aufgenommen, bestehen verschiedene Möglichkeiten zum Verbleib des Proteins. Es könnte den NTO intakt passieren und durch diesen zeitnah in bioaktiver Form ausgeschieden werden oder es könnte im Ursprungszustand im NTO eingelagert und längerfristig angereichert werden. In diesen Fällen verbliebe das Protein in bioaktiver Form in der Umwelt oder im Tier und wäre gegebenenfalls für andere Organismen weiterhin verfügbar. Eine weitere Möglichkeit könnte jedoch auch partieller oder kompletter Verdau sein, nach dem das Protein nicht mehr bioaktiv wäre und damit für höhere trophische Ebenen nicht mehr verfügbar wäre.



Abbildung 14: *T. caelestialium* (adultes Männchen) auf Maisblatt (Quelle: K. U. Priesnitz)

Um ein tieferes Verständnis für das Schicksal, also die Aufnahmeraten und den Verbleib, der Cry-Proteine aus *Bt*-Mais zu erhalten, wurde die Weichwanze *Trigonotylus caelestialium* (KIRKALDY) (Heteroptera: Miridae) (Abbildung 14) als Modellorganismus ausgewählt.

Im eigenen Labor konnte für diese Wanze bereits eine Exposition gegenüber Cry3Bb1 aus MON 88017 gezeigt werden (Rauschen et al., 2009; Schultheis, 2008). Diese Daten wurden von Meissle & Romeis (2009) bestätigt. Übereinstimmend wurde eine relativ hohe Exposition (2-5 µg / g Frischgewicht bzw. 100 µg / g Trockengewicht) an Cry-Proteinen aus *Bt*-Mais (Cry3Bb1 aus MON 88017) gezeigt werden. Darüber hinaus erfüllen die *T. caelestialium* auch weitere Anforderungen an einen geeigneten Stellvertreterorganismus. Es konnte bereits gezeigt werden, dass *T. caelestialium* als häufige bis dominante Spezies innerhalb der Wanzen auf deutschen Maisfeldern auftritt, gut zu fangen und sicher zu bestimmen ist (Rauschen et al., 2009, Schultheis, 2008). Ebenso lagen erste Erfahrungen in der Haltung im Labor vor (Schultheis, 2008). Aufgrund der Größe der Wanze von etwa 5-6 mm sind Untersuchungen etwa auf den Proteingehalt hin auf Individuenbasis möglich.

Die Wanze hat eine weite geografische Verbreitung (Wheeler, 1985, 2000, 2001) und wird aufgrund ihres massenhaften, schädigenden Auftretens in Reis (Ishimoto et al., 2004) intensiv im asiatischen

Raum, vor allem in Japan, erforscht (rice leaf bug, jap. アカヒゲホソミドリカスミカメ (akahigehosomidorikasumikame)). Dort konnte auch eine Zucht auf Weizen etabliert werden (Ito, 2000; Higuchi & Takahashi, 2000). Blinn & Yonke beschrieben 1986 die Entwicklung im Labor auf verschiedenen Gräsern. Durch Goto & Higuchi (2004) konnten erste Hinweise auf eine relative Habitatreue gezeigt werden, die für eine Nutzung als Indikatororganismus Voraussetzung wäre. Es wurden nicht nur Sexualpheromone zur Bekämpfung als Schadinsekt entwickelt (Kakizaki, 2004), sondern besteht die Möglichkeit, mit synthetisch hergestellten Pheromonen ein besonders effektives Monitoring durchzuführen (Ishimoto et al., 2006). Es wurden sogar Methoden etabliert, um einzelne Individuen im Labor zu markieren und im Feld zu verfolgen, wobei Mima et al. (2002) eine Rubidiumlösung verwendeten und Kobayashi & Kikuchi (2004) mit Staub eines fluoreszierenden Pigments arbeiteten.

3.5.3 Lumbriciden

3.5.3.1 Organismengruppe und *Bt*-Mais-Forschung

Als zweite Organismengruppe von besonderem Interesse wurde in diesem Projekt die ökologisch wichtige Gruppe der Lumbriciden ausgewählt (Oligochaeta: Lumbricidae; Abbildung 15). Diese bodenbewohnenden Zwitter spielen als Destruenten in der Bioturbation von Böden eine tragende Rolle, da sie Pflanzenteile in den Boden einziehen, um diese später ebenso wie humusreiche Erde mit dem enthaltenen Detritus als Nahrung zu nutzen und anschließend als extrem nährstoffreiche Kothäufchen auszuscheiden. Dieser Regenwurmkot enthält viele Ton-Humus-Komplexe und ist weniger sauer als gewöhnliche Erde. Wird er mit Boden vermischt, kommt es zu stabilen Krümelaggregaten. Es gibt allerdings auch Hinweise darauf, dass nicht nur totes Material, sondern in geringem Umfang auch Wurzeln als Nahrung verwendet werden (Cortez & Bouche, 1992; Abbildung 15: root grazing)

Bereits Aristoteles (384-322 v.Chr.) erkannte ihre gewichtige Rolle und nannte sie „Eingeweide der Erde“ (Buch, 1986). Der Regenwurm wurde 2004 zum „Wirbellosen Tier des Jahres“ erklärt (NABU, 2011). Mit ihrer Ernährung und der Anlage von Gängen und Wohnröhren leisten die Regenwürmer (earthworms) eine zentrale Rolle in der nachhaltigen Verbesserung der Bodenfruchtbarkeit. Der Gasaustausch und die Wasserdurchlässigkeit bzw. die Wasserkapazität eines Bodens profitieren ebenso von den Gängen, die die Regenwürmer anlegen, wie die Bodenstruktur und die Versorgung mit Nährstoffen (Verlagerung nach unten) und Mineralen und Spurenelementen (Verlagerung in den Oberboden) (Dunger, 1964).

Auch Pflanzen profitieren nicht nur indirekt durch die verbesserte Nährstoffversorgung des Bodens, sondern auch direkt durch eine Nutzung der Gänge für ihr Wurzelwachstum in tieferen Schichten und das, durch die Auskleidung der Gänge mit Kottapeten bedingte, erhöhte Nährstoffangebot in den Gängen (Buch, 1986; Graff, 1983).

Haimi (2000) zeigte darüber hinaus, dass die Regenwürmer durch ihren positiven Einfluss auf die Mikroorganismengemeinschaft im Boden auch einen indirekten Einfluss auf die Bioremediation von Schadstoffen in Böden haben.

Je nach Lebensweise können drei Gruppen innerhalb der Regenwürmer unterschieden werden (Abbildung 15: epigeic, endogeic, anecic): Epigäische Würmer leben ausschließlich in der organischen Auflage eines Bodens (O-Horizont). Anektische Gattungen graben vertikal durch alle Bodenschichten bis zu einer Tiefe von mehr als zwei Metern, während endogäische Formen in der oberen Mineralbodenschicht (A-Horizont) horizontal graben.

In Deutschland kann insgesamt von einem Bestand von 39 Arten aus sieben (heute: sechs) Gattungen ausgegangen werden (Graff, 1953), wobei sich der Bestand je nach Habitat unterscheidet. Nach Graff

können zwei Gattungsgruppen unterschieden werden, die sich nicht nur in ihrer Pigmentierung, sondern auch in ihren ökologischen Ansprüchen unterscheiden. Die rot-pigmentierten Gattungen *Eisenia*, *Lumbricus* und *Dendrobaena* leben demnach vorrangig in Laubwäldern, die Adulten sogar nur in der dort vorhandenen Streuschicht, während die nicht-rot-pigmentierten (Farbspektrum von schwarz / grau bis blau / grün) Gattungen *Octoclasium*, *Eiseniella* und *Allolobophora* in tieferen Bodenschichten vorkommen.

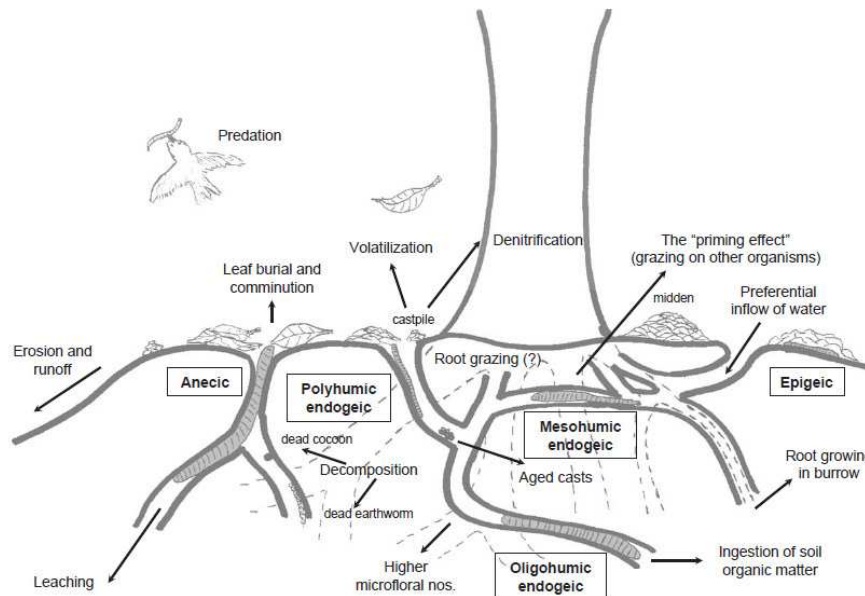


Abbildung 15: Schematische Übersicht der funktionellen Beziehungen zwischen Regenwürmern und ihrer umgebenden Umwelt (Quelle: Römke et al., 2005)

Durch ihre herausragende Stellung innerhalb der Bodenorganismen sind Regenwürmer für den Erhalt der Bodenfunktion. Beim Anbau neuer Feldsorten oder bei der Nutzung neuer landwirtschaftlicher Methoden ist daher die Verträglichkeit für Lumbriciden von hoher Bedeutung. Einerseits könnten sie durch den Anbau von *Bt*-Mais beeinträchtigt werden, falls das *Bt*-Protein in den Boden eingebracht würde und dort verbliebe (Exposition) und gleichzeitig eine Gefährdung durch die Proteine für Regenwürmer vorläge (Gefährdungsmoment), andererseits bietet gerade *Bt*-Mais die Chance, regenwurmgefährdende Bodenbearbeitungsmethoden wie das Pflügen zur Schädlingsbekämpfung unnötig zu machen. Auch eine Bodenbearbeitung mit (potentiell toxischen) Pestiziden könnte reduziert werden.

Zur Auswirkung des Anbaus von *Bt*-Mais auf Regenwürmer gibt es einige Studien. Clark & Coats (2006) arbeiteten mit dem Regenwurm *Eisenia fetida* (Kompostwurm, kommt auch in Wiesen vor) und den Cry1Ab-exprimierenden *Bt*-Mais-Linien Bt 11 und MON 810 sowie den jeweiligen nah-isogenen Linien. Sie stellten Blattmaterial in einem Testsystem über 28 Tage zur Verfügung und bestimmten nicht nur akute, sondern auch subakute Effekte. Akute Effekte waren nicht zu beobachten, allerdings konnten partiell subakute Effekte beobachtet werden, die die Autoren mit der veränderten Nährstoffzusammensetzung korrelierten.

Die Auswirkungen des Anbaus von Cry1Ab-exprimierendem *Bt*-Mais wurde auch auf den Regenwurm *Aporrectodea caliginosa* (Feldwurm) untersucht (Vercesi et al., 2006). Dabei wurden in vielfältigen worst case-Testansätzen über eine Dauer von 28 Tagen keine signifikanten Unterschiede bei den erhobenen Parametern festgestellt, mit Ausnahme einer schwachen, aber signifikanten Abnahme der Schlupfrate aus dem Kokoon in der *Bt*-Behandlung.

Schrader et al. (2008) konnten in Mikrokosmosversuchen einen positiven Einfluss von *Aporrectodea caliginosa* auf den Abbau des Cry1Ab-Proteins aus *Bt*-Mais zeigen.

3.5.3.2 Modell *Lumbricus terrestris*

Der tiefbohrende Tauwurm *L. terrestris* hat eine lange Geschichte als Modellorganismus. Er wird bereits seit 1985 in der Umweltprobenbank des Bundes (UPB) geführt, um durch Beprobung ausgewählter Bestände rückblickend chemische Veränderungen im Boden über einen längeren Zeitraum beobachten zu können (UPB, 2011). Dabei wurde der Tauwurm ausgewählt, da er als in Deutschland am weitesten verbreiteter Tiefbohrer genügend Biomasse produzieren soll, um reproduzierbare und repräsentative Probenahmen durchführen zu können und durch seine Ernährungsweise sowohl tote organische Substanz als auch Mineralboden aufnimmt und die gesamte Belastungssituation im Boden abbilden kann (UPB, 2011). Auch für „first tier“-Laboruntersuchungen ist neben dem Kompostwurm *E. fetida* der Tauwurm *L. terrestris* ein etablierter Testorganismus. Es liegen standardisierte Testvorschriften für ökotoxikologische Untersuchungen von verschiedenen Agenzien vor, wie die ISO-Norm 17512-1 zum Regenwurmflechttest (ISO 17512-1, 2008). *L. terrestris* können aufgrund ihrer langen Entwicklungsdauer nicht in Massenzuchten vermehrt werden, sind aber als Freilandfänge kommerziell erhältlich, während *E. fetida* einfach gehalten und vermehrt werden kann, aber keine ökologische Relevanz für die meisten Ökosysteme besitzt (Iglisch & Kriegerowski, 1986; Lowe & Butt, 2005).

Zu den Auswirkungen von Bt-Maisanbau auf den Tauwurm liegen ebenfalls einige Studien vor. Ahmad et al. (2006) zeigten, dass eine Exposition von Cry3Bb1 im Boden durch Anbau von Bt-Mais oder Einarbeitung von Bt-Mais-Pflanzenmaterial zu einem internen Gehalt an Cry3Bb1 im *L. terrestris* führt, aber im 12- bzw. 33-Tage-Test nicht zu signifikanten Unterschieden in Gewicht oder Sterblichkeit zu einer Kontrollgruppe. Angesichts der Lebensdauer des Tauwurms und da Cry-Proteine in Pflanzenresten bis zu 240 Tage im Boden nachgewiesen werden konnten (Zwahlen et al., 2003a), führten Zwahlen et al. (2003b) eine Laborstudie über 200 Tage durch. Sie konnten keinen Einfluss von Cry1Ab aus Bt 11 auf *L. terrestris* bis zum 160. Tag des Labortests feststellen. Danach beobachteten sie einen signifikanten Gewichtsverlust in der Bt-Gruppe, deren Gründe aber vielfältig sein könnten und weiter untersucht werden müssen. Umgekehrt konnten Schrader et al. (2008) in Mikrokosmosversuchen einen positiven Einfluss des *L. terrestris* auf den Abbau des Cry1Ab-Proteins aus Bt-Mais zeigen. Neben den artifiziellen Laborstudien gab es auch Feldversuche: Juvenile *L. terrestris* wurden im Feld einzeln in Käfigen gehalten und mit Bt 11-Blattmaterial bzw. dessen nah-isogener Sorte gefüttert (Zwahlen et al., 2003b). Es wurden keine signifikanten Unterschiede in der Sterblichkeit oder den Entwicklungsparametern gemessen. Debeljak et al. (2007) untersuchten ebenfalls den Einfluss von Cry1Ab-exprimierendem Bt-Mais unter Feldbedingungen und erstellten ein Modell, um die Biomasse durch *L. terrestris* vorherzusagen. Dabei zeigte sich jedoch die Jahreszeit als bestimmender Faktor und ein Einfluss durch Bt-Mais konnte nicht nachgewiesen werden.

3.6 Fragestellung der vorliegenden Arbeit

Die vorliegende Arbeit kann in zwei Teile unterteilt werden. In Teil A sollten die Auswirkungen des Anbaus der GV-Maissorte DKC 5143-Bt MON 89034 x MON 88017 auf Nicht-Zielorganismen in einem Feldversuch untersucht werden. Dies ergab sich aus der vorgestellten Herangehensweise an die Sicherheitsbewertung und den im Zulassungsantrag angegebenen Daten durch den Antragsteller (Monsanto, 2010), die vor allem die ersten Stufe des mehrstufigen Ansatzes in der Umweltrisikobewertung (vgl. Abbildung 10, S. 16, tier 1) abdecken. Zusätzlich sollten in Teil B repräsentativen Stellvertreterarten mit ökologischer Relevanz als Voraussetzung für die Entwicklung und Durchführung einer Umweltrisikobewertung identifiziert werden und passende Testmethoden entwickelt werden. Dazu war ein Vorgehen in umgekehrter Reihenfolge des „tiered approach“ in einem standardisierten ERA nötig. Mit den vorgestellten Gruppen „herbivore Arthropoden und ihre Prädatoren“ und „Regenwürmer“ wurden zwei sehr verschiedene, aber ökologisch wichtige Zönosen

in den zwei Kompartimenten „Krautschicht“ und „Boden“ gewählt, anhand derer die Vor- und Nachteile der verschiedenen Entwürfe in der Praxis im Vergleich studiert werden sollten.

In Teil A wurden die Auswirkungen des Anbaus der neuen Sorte DKC 5143-Bt MON 89034 x MON 88017 ganzheitlich auf die NTO der Umgebung untersucht. In einem Feldversuch über drei aufeinanderfolgende Anbauperioden wurde die neue Varietät im Vergleich zu seiner nah-isogenen Parentsorte sowie zwei weiteren konventionellen Sorten und einer Bodeninsektizidbehandlung gegen *D. virgifera virgifera* angebaut.

Dabei wurden folgende Fragen behandelt:

- A. 1) Ergeben sich beim Anbau von DKC 5143-Bt MON 89034 x MON 88017 Veränderungen innerhalb der Organismengemeinschaften, die über normale Schwankungen zwischen Anbaujahren oder konventionellen Maissorten hinausgehen?
- A. 2) Kann für weitere Arten eine Exposition gegenüber den exprimierten Cry-Proteinen nachgewiesen werden bzw. die bereits belegte Exposition anderer Arten bestätigt werden?
- A. 3) Können bestimmte Arten als ökologisch relevante, geeignete Modellkandidaten identifiziert werden?
- A. 4) Ergeben sich weitere, nicht vorhergesehene Effekte aus dem Anbau der Sorte DKC 5143-Bt MON 89034 x MON 88017, insbesondere auf der Ebene der Organismengemeinschaft?

Neben diesen Art- und Abundanzenerhebungen im Feldversuch sollte in Teil B je eine Art aus jeder Gruppe im Labor als Modellorganismus untersucht werden. Dazu wurde aus der Gruppe der Arthropoden aufgrund der nachgewiesenen Lebensgemeinschaft, den vorliegenden Erfahrungen aus Vorgängerprojekten und der Literatur die Wanze *Trigonotylus caelestialium* ausgewählt.

Dieser Auswahl lagen folgende Voraussetzungen zugrunde:

- die überregionale Verbreitung, um für eine standardisierte ERA in verschiedenen Regionen nutzbar zu sein,
- ein konstantes Vorkommen in Mais in relativ hohen Abundanzen, um eine statistische Analyse zu ermöglichen,
- die bekannten, einfachen Fang- und Identifizierungsmethoden,
- die nachgewiesene Exposition gegenüber Cry-Proteinen.

T. caelestialium wurde somit als Bindeglied zwischen Feld- und Laboruntersuchungen angesehen. Ihre Eignung als Stellvertreterart für eine Verwendung in einer standardisierten ERA sollte untersucht werden.

Es sollten folgende Fragen beantwortet werden:

- B. 1) Kann *T. caelestialium* unter Laborbedingungen gehalten und gezüchtet werden?
- B. 2) Was passiert nach der Aufnahme der Cry-Proteine? Werden sie abgebaut, ausgeschieden oder akkumuliert?
- B. 3) Gibt es Unterschiede im Fraßverhalten in Abhängigkeit von der Maissorte?
- B. 4) Gibt es Unterschiede im Gewicht in Abhängigkeit von der Maissorte?
- B. 5) Gibt es Unterschiede in der Entwicklung, Fortpflanzung und Lebensdauer in Abhängigkeit von der Maissorte (full life cycle test)?

Im Gegensatz zur feldbasierten Auswahl in der Gruppe der Arthropoden erfolgte in der Gruppe der Lumbriciden die Auswahl mit *L. terrestris* anhand der vorhandenen Literatur und der etablierten ökotoxikologischen Standardtests. Hinsichtlich der Cry-Proteine sollten hier folgende Fragen adressiert werden:

- B. 6) Können Unterschiede in der Sterblichkeit und anderen Parametern bei in einem Dauerversuch über 200 Tage mit fortgesetztem Anbau der verschiedenen Maissorten beobachtet werden?
- B. 7) Führt die akute Exposition von adulten *L. terrestris* gegenüber puren Cry-Proteinen zu einer Vermeidungsreaktion (Flucht)? Gibt es dabei Unterschiede zwischen den einzelnen Cry-Proteinen?

4. Material und Methoden:

4.1 Feldversuch im Forschungsverbund

4.1.1 Konzeption & Randdaten

Im Rahmen des BMBF-Forschungsverbundes „Freisetzungsbegleitende Sicherheitsforschung an Mais mit multiplen Genen zur Maiszünsler- und Maiswurzelbohrerresistenz“ wurde in den Jahren 2008-2010 im Rahmen einer Freisetzung nach Gentechnikgesetz ein vergleichender Feldversuch unter landwirtschaftlichen Bedingungen auf der Fläche des Friedrich-Löffler-Institutes in Braunschweig-Ölper durchgeführt (Flächenkennziffer 38114/01240, Gemarkung Ölper, Flur 10, Flurstück 214/3, Abbildung 16-18).

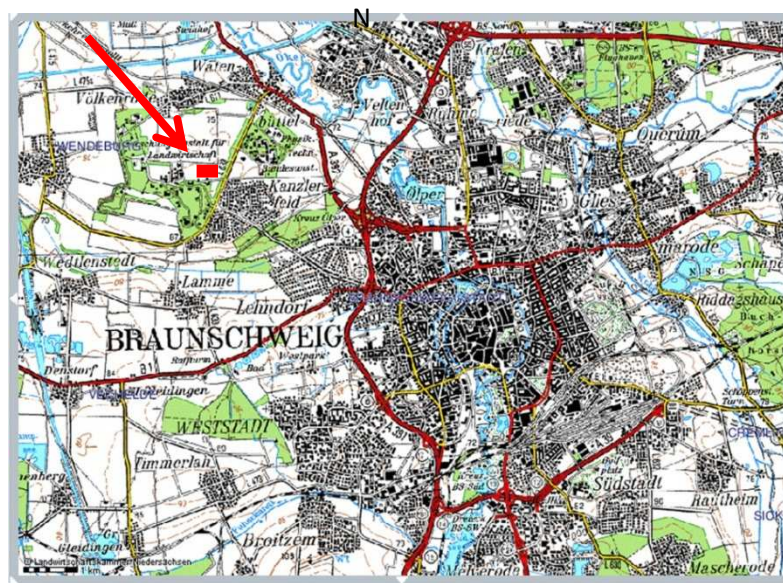


Abbildung 16: Lage des Versuchsfeldes im Westen von Braunschweig (markiert durch ein rotes Rechteck und einen Pfeil) (Quelle: Freisetzungsantrag, 2008)

Öffentlicher Teil des Standortregisters

Online - Anbaumitteilung

Übersicht nach Bundesländern

SUCHE im Standortregister

Karte zum Standortregister

Startseite | Gentechnik | Standortregister

Details zur Anbau-/Freisetzungsmittteilung

Details der Mitteilung				
Flächenkennziffer	38114/01240			
PLZ der Fläche	38114			
Gemeinde der Fläche	Braunschweig			
Bundesland	Niedersachsen			
Größe (m ²)	11200			
Gemarkung	Ölper			
Flur	10			
Flurstück	214/3			
Schlagnr./-name				
Typ	Mitteilungsdatum	Spezifischer Erkennungsmarker	Bezeichnung des Organismus	Anbau- / Freisetungszeitraum
Freisetzung	10.05.2010	6786-01-0194	Mais	2010
Bemerkung:				

Druckversion | Seite empfehlen | nach oben

BVL

Abbildung 17: Auszug aus dem Standortregister (Quelle: BVL, 2011)

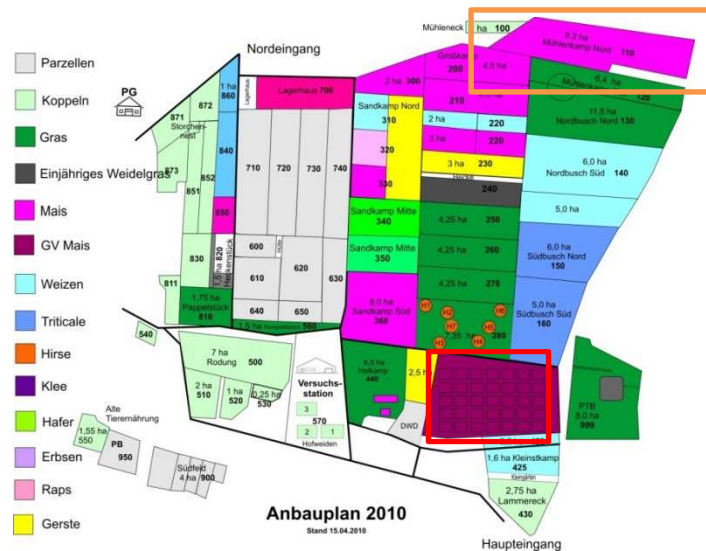


Abbildung 18: Anbauplan des Friedrich-Löffler-Instituts 2010 (Quelle: verändert nach FLI Braunschweig, persönliche Mitteilung), Versuchsfeld des BMBF-Verbands in rot umrahmt, Feld Mühlenkamp Nord in orange umrahmt

Das Versuchsfeld umfasste dabei etwa 6 ha, aufgeteilt in fünf Säulen mit je acht Versuchseinheiten, insgesamt also 40 Parzellen mit einer jeweiligen Fläche von 42 m x 30 m (0,126 ha). In jeder Parzelle wurden 40 Reihen Mais mit einer Spurbreite von 0,75 m ausgesät. Diese Säulen wurden mit den Buchstaben A-E bezeichnet und durch ein Wegenetz unterteilt und insgesamt durch eine Mantelsaat mit mindestens 10 m Breite (mind. 16 Reihen) umgeben. Es ergab sich eine mit *Bt*-Mais bebaute Fläche von 1,008 ha (Abbildung 17, beantragte Fläche nach Anmeldung von 1,12 ha). Vor Beginn des Versuchsanbaus wurde auf der genutzten Fläche ebenfalls Mais angebaut.

Der gentechnisch veränderte Mais DKC 5143-*Bt* MON 89034 x MON 88017 (Monsanto Co., St. Louis, Missouri, USA) (nachfolgend als MON bezeichnet), die nah-isogene Parentallinie DKC 5143 (Monsanto Co., St. Louis, Missouri, USA) (ISO) und zwei weitere, konventionelle Vergleichssorten DKC 4152 (Monsanto Co., St. Louis, Missouri, USA) (DKC) und Benicia (Pioneer Hi-Bred Inc., Johnston, Iowa, USA) (BEN) wurden in jeweils acht Parzellen angebaut. Zusätzlich zu diesen 32 Parzellen wurde auf weiteren acht Parzellen die nah-isogene Sorte DKC 5143 angebaut und mit dem Bodeninsektizid „Force 1,5 G“ (Monsanto Co., St. Louis, Missouri, USA) (Wirkstoff Tefluthrin, 1,5 %-ig, Granulat) (TEF) gegen den Maiswurzelbohrer *D. v. virgifera* mit einer Aufwandmenge von 12,67 kg des Präparats pro Hektar behandelt. Die Versuchsparzellen wurden in einem systematisch-randomisierten Design angeordnet, wobei beachtet wurde, dass keine zwei Parzellen einer Sorte direkt nebeneinander lagen und dass von jeder Sorte möglichst gleich viele Parzellen am Feldrand und in der Mitte des Feldes lagen. Dieses Design wurde vor der ersten Aussaat entwickelt und für alle drei Feldsaisons beibehalten (Abbildung 19).

	1	2	3	4	5	6	7	8
A	MON	Benicia	DKC 5143 + Tefluthrin	DKC 4250	DKC 5143	MON	DKC 4250	DKC 5143 + Tefluthrin
B	DKC 5143	DKC 5143 + Tefluthrin	DKC 5143	MON	Benicia	DKC 5143	DKC 5143 + Tefluthrin	DKC 4250
C	DKC 5143 + Tefluthrin	Benicia	MON	DKC 4250	DKC 5143	MON	DKC 4250	Benicia
D	Benicia	DKC 5143	DKC 4250	Benicia	DKC 5143 + Tefluthrin	Benicia	MON	DKC 5143
E	DKC 4250	MON	DKC 5143 + Tefluthrin	DKC 5143	MON	DKC 5143 + Tefluthrin	DKC 4250	Benicia

Abbildung 19: Anordnung des Braunschweiger Feldversuchs 2008-2010: Maissorten GV-Mais DKC 5143-*Bt* (MON, rot), nah-isogene Sorte DKC 5143 (grün), konventionelle Sorten Benicia (lila) und DKC 4250 (blau) sowie DKC 5143 mit Bodeninsektizidbehandlung Tefluthrin (gelb); eingetragen zusätzlich Trennwege (weiß) und Mantelsaat (dunkelgrün)

Die gesamte Feldfläche wurde nach guter landwirtschaftlicher Praxis behandelt (Tabelle 5).

Tabelle 5: Übersicht über die Aussaat- und Erntetermine, Boden- und Herbizidbehandlungen und die Bewässerung (Quelle: FLI Braunschweig, persönliche Mitteilung)

Datum	Ereignis	Mittel (Wirkstoff)	Fläche	Konzentration	Menge
26.02.08	organische Düngung	Rindermist	6 ha	0,28 % N	30 t;cm ³ / ha
27.02.08	organische Düngung	Rindermist	1,5 ha	0,28 % N	30 t;cm ³ / ha
11.03.08	Pflügen		Gesamt		
16.05.08	mineralische Düngung	Diammoniumphosphat 1	Gesamt	32,40 kg N / ha	180 kg;l / ha
16.05.08	Bodenbearbeitung		Gesamt		
20.05.08	Aussaat	nach Plan			0,02 dt/ha
22.05.08	mineralische Düngung	AHL 28 % Liter	Gesamt	90 kg N / ha	250 kg;l / ha
03.06.08	Pflanzenschutz spritzen	?	Gesamt	?	?
04.06.08	mineralische Düngung	ESTA Kieserit gran.	Gesamt		100 kg;l / ha
09.06.08	Beregnung	bis 13.06.	Gesamt		25-30 mm / qm
30.07.08	Beregnung	bis 04.08.	Gesamt		25-30 mm / qm
13.10.08	Ernte Silomais	bis 14.10.			
19.11.08	Ernte Körnermais				
28.04.09	Bodenbearbeitung		Gesamt		
06.05.09	Pflügen		Gesamt		
18.05.09	Aussaat	nach Plan			0,02 dt / ha
19.05.09	mineralische Düngung	AHL 28 % Liter	Gesamt	72 kg N / ha	200 kg;l / ha
20.05.09	mineralische Düngung	ESTA Kieserit gran.	Gesamt		100 kg;l / ha
20.05.09	mineralische Düngung	Diammoniumphosphat 1	Gesamt	27 kg N / ha	150 kg;l / ha
15.06.09	Pflanzenschutz spritzen	Clio (Topramezone)	Gesamt		0,15 kg;l / ha
15.06.09	Pflanzenschutz spritzen	Dash E.C.	Gesamt		1 kg;l /ha
15.06.09	Pflanzenschutz spritzen	Terbuthylazin 500 (Terbuthylazin)	Gesamt		1 kg;l /ha
15.06.09	Pflanzenschutz spritzen	Certrol B (Bromoxyniloctanoat, Petrol)	Gesamt		0,3 kg;l / ha
15.06.09	Pflanzenschutz spritzen	Spectrum (Dimethenamid-P)	Gesamt		1 kg;l /ha
05.10.09	Ernte Silomais				
27.10.09	Ernte Körnermais				
21.04.10	organische Düngung	Biogasabfall	Gesamt		20 t;cm ³ / ha
22.04.10	Bodenbearbeitung		Gesamt		
11.05.10	Pflügen		Gesamt		
12.05.10	mineralische Düngung	Diammoniumphosphat 1	Gesamt	36 kg N / ha	200 kg;l / ha
20.05.10	Aussaat	nach Plan			0,02 dt / ha
25.05.10	mineralische Düngung	AHL 28 % Liter	Gesamt	108 kg N / ha	300 kg;l / ha
17.06.10	Pflanzenschutz spritzen	Dual Gold (S-Metolachlor)	Gesamt		1,25 kg;l / ha
17.06.10	Pflanzenschutz spritzen	Calaris (Terbuthylazin, Mesotrione)	Gesamt		1,50 kg;l / ha
30.07.10	Beregnung		Reihe A/B/Mantelsaat		25-30 mm / qm
19.10.10	Ernte Silomais				
09.11.10	Ernte Körnermais				

Vor jeder Aussaat wurden verschiedene Bodenbehandlungen durchgeführt und die Feldfläche organisch und mineralisch gedüngt (Tabelle 5). Vor der jeweiligen Wachstumsperiode wurden Herbizidbehandlungen durchgeführt. Die Aussaat erfolgte 2008 am 20. Mai, 2009 am 18. Mai und 2010 am 20. Mai. Die Ernte als Silomais erfolgte jeweils am 13. Oktober 2008, am 05. Oktober 2009

und am 19. Oktober 2010. Bedingt durch die Struktur des Verbundes verblieben dabei jeweils sechs Reihen (20-26) auf dem Feld, um im weiteren Jahresverlauf (am 19.11.08, 27.10.09 und am 09.11.10) als Körnermais geerntet zu werden. Die Biomasse des Silomaises wurde am Feldrand siliert und anschließend in eine Biogasanlage verbracht, während von den als Körnermais geernteten Reihen nur die Kolben geerntet und die restliche Biomasse auf dem Feld untergepflügt wurde.

In direkter Nachbarschaft zu dem Versuchsfeld lag eine Wetterstation des Deutschen Wetterdienstes (DWD) (Abbildung 18, weiße Fläche DWD). Die für die Auswertung der Felddaten relevanten dort erhobenen Daten für den Zeitraum 01.05.2008-31.10.2010 wurden beim DWD abgefragt und flossen in die Auswertung der Felddaten ein.

4.1.2 Kooperationen innerhalb des Forschungsverbundes

Durch die Konzeption des BMBF-Forschungsverbundes wurden auf dem Versuchsfeld bodenkundliche Daten durch den Verbundpartner Institut für Angewandte Biotechnologie der Tropen (IBT) an der Georg-August-Universität Göttingen, Daten zur mikrobiellen Besiedelung des Bodens und der Maiswurzeln durch den Verbundpartner Johann Heinrich von Thünen-Institut (vTI), Institut für Agrarökologie, Braunschweig, Daten zum Pflanzenwachstum und zur Pollenmenge durch den Verbundpartner Universität Würzburg, Lehrstuhl für Tierökologie und Tropenbiologie sowie Daten zur Expression der verschiedenen Cry-Proteine in Pflanzen der verwendeten GV-Maislinie durch den Verbundpartner Julius Kühn-Institut (JKI), Institut für biologischen Pflanzenschutz, Darmstadt erhoben. Teile dieser Datensätze konnten im Rahmen des Verbundes genutzt werden, um sie mit den erhobenen Daten zu korrelieren und etwaige Unterschiede in den Auswirkungen der experimentellen Behandlungen auf die untersuchten Nicht-Zielorganismen zu erklären. Weiterhin wurden einige Laborversuche in vTI Braunschweig und JKI Darmstadt durchgeführt, da dort verschiedene Labormethoden etabliert wurden und genutzt werden konnten. Die in dieser Studie genutzten Cry-Proteine wurden durch die Firma Monsanto (Cry1A.105, Cry2Ab2) und den Projektpartner JKI Darmstadt (Cry3Bb1) bereitgestellt. Das verwendete Saatgut wurde ebenfalls durch die Firma Monsanto (DKC 4250, DKC 5143, DKC 5143-Bt) sowie durch die Firma Pioneer Hi-Bred (Benicia) zur Verfügung gestellt.

4.1.3 Probenahmemethodik Arthropoden

Zur Untersuchung der Auswirkungen des Anbaus der verwendeten „stacked“ Bt-Maissorte wurde die Arthropodengemeinschaft in der Krautschicht und der männlichen Blüte mit verschiedenen Methoden in den drei aufeinanderfolgenden Feldsaisons während der gesamten Wachstumsphase sowie während und nach der Blüte mit verschiedenen Techniken beprobt (Rauschen, 2008).

Tabelle 6: Übersicht über die Probenahmeterminale für Arthropoden über die gesamte Projektdauer 2008-2010 (beprobte Bereiche orange eingefärbt) (KW: Kalenderwoche)

Jahr	KW	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
2008	Klebe- tafeln	17.07.- 24.07.	24.07.- 30.07.	31.07.- 05.08.	05.08.- 13.08.		19.08.- 27.08.	27.08.- 03.09.			
	Kescher	18.07.				18.- 19.08.					
	Klopfen			31.07. BEN, DKC; 05.08. ISO, TEF, MON							
2009	Klebe- tafeln	16.07.- 23.07.	23.07.- 30.07.	30.07.- 06.08.	06.08.- 13.08.	13.08.- 20.08.	20.08.- 27.08.	27.08.- 03.09.	03.09.- 10.09.		
	Kescher	21.- 22.07.				18.08.				14.09.	
	Klopfen				07.08. BEN; 09.08. BEN, DKC; 18.08. BEN, DKC, ISO, MON, TEF						
2010	Klebe- tafeln	14.07.- 21.07.	22.07.- 29.07.		05.08.- 12.08.	12.08.- 19.08.	19.08.- 26.08.	26.08.- 02.09.	02.09.- 09.09.	09.09.-16.09.	
	Kescher		26.- 06.07.								21.09.
	Klopfen				05.08. BEN; 10.-11.08. BEN, DKC, ISO, MON, TEF						
	Gelbtafeln		23.07. Beginn 01.09. Abbau								

4.1.3.1 Klebetafeln

In jeder Parzelle wurde mit Einsetzen des Längenwachstums mittig in Reihe 18 das Gestell für eine Klebetafel aufgestellt und dort bis nach der Blüte belassen. Die beidseitig mit Insektenleim der Firma Temmen GmbH (Hattersheim, Art.-Nr. 201) bestrichenen Klarsichtfolien im Format DIN A 4 wurden in einer Höhe von einem Meter auf die Metallrahmen aufgezogen und eine Woche im Feld belassen. Nach einer Woche erfolgte jeweils ein Austausch. Die Folien wurden dazu einzeln mit Frischhaltefolie umwickelt, eindeutig beschriftet und bis zur Auswertung bei -20°C eingefroren. Zur Auswertung wurden die Folien vorsichtig von der Klarsichtfolie gelöst und die gefangenen Organismen mit Labornadeln in 70%-igen Ethanol überführt. Dort verblieben sie bis zur Artbestimmung.

Die Probenahme erfolgte im Jahr 2008 über sieben Wochen mit sechs Probenahmen, 2009 über acht Wochen mit acht Probenahmen sowie 2010 über neun Wochen mit acht Probenahmen (Tabelle 6).

4.1.3.2 Kescherproben

Vergleichend zu den Probenahmen mit den Klebetafeln wurde zu ausgewählten Zeitpunkten im Saisonverlauf eine Beprobung mit dem Kescher (Vertrieb durch bioform entomology & equipment dr. j. schmidl e.k., Nürnberg, Art.-Nr. A4a, Klappnetz V2A, Durchmesser 40 cm, Tiefe 76 cm, Maschenweite 1mm) durchgeführt. Die Termine der Probenahme wurden aufgrund der Erfahrungen im Vorgängerprojekt ausgewählt und sind in Tabelle 6 dargestellt. Pro Feldsaison wurde eine Beprobung an drei Terminen geplant, aufgrund der Wetterlage konnte jedoch sowohl in 2008 als auch in 2010 nur zwei Probenahmen durchgeführt werden. Um eine möglichst repräsentative Probe pro Parzelle zu erhalten, wurde jede Parzelle auf vier Transekten mit insgesamt 120 m Strecke beprobt. Um eventuelle Randeffekte auszuschließen, wurde die Beprobung 5 m vom Parzellenrand begonnen und ebenfalls 5 m vor dem Parzellenrand beendet.



Daraus ergab sich eine Strecke von 30 m pro Kescher-Transekt. Idealerweise wurden die Transekte zwischen die Reihen 5 und 6, 15 und 16, 25 und 26 sowie 35 und 36 gelegt. Im zweiten Versuchsjahr musste aufgrund der von Projektpartnern im Feld aufgebauten Flugkäfige für Bienen von diesem Schema abgewichen werden (Tabelle 7). Die Transekte wurden mit dem Kescher auf einem Meter Höhe zügig abgeschritten (Abbildung 20), der Kescher anschließend zugeklappt und die gefangenen Tiere in vorbereitete Rollrandgläschen in 70 %-Ethanol überführt. Die Tiere einer Parzelle bildeten dabei eine Probe und wurden später am Binokular soweit als möglich bestimmt.

Abbildung 20: Keschern im Feld (Quelle: Biosicherheit, 2011f (N. Arndt))

Tabelle 7: Kescherschema 2009 (MS: Mantelsaat)

Parzelle	Parzellenzugang über Feldweg x	Startpunkt in der Parzelle nach x Meter	Beginn nach Reihe x	Abstand bis zum nächsten Transekt [Reihen]
A1	A-B	4	5	7
A2	MS-A	4	14	7
A3	A-B	4	5	7
A4	MS-A	4	4	7
A5	A-B	4	5	7
A6	MS-A	4	14	7
A7	A-B	4	5	7
A8	MS-A	4	14	7
B8	A-B	4	5	7
B7	B-C	4	14	7
B6	A-B	4	5	7
B5	B-C	4	14	7
B4	A-B	5	5	7
B3	B-C	4	14	7
B2	A-B	5	5	7
B1	B-C	4	14	7
C1	B-C	5	14	7
C2	C-D	5	5	7
C3	B-C	5	14	7
C4	C-D	4	5	7
C5	B-C	5	14	7
C6	C-D	5	5	7
C7	B-C	5	14	7
C8	C-D	5	5	7
D8	C-D	5	5	7
D7	D-E	5	14	7
D6	C-D	4	5	7
D5	D-E	5	14	7
D4	C-D	4	5	7
D3	D-E	4	14	7
D2	C-D	4	5	7
D1	D-E	5	14	7
E1	D-E	4	14	7
E2	E-MS	5	5	7
E3	D-E	5	14	7
E4	E-MS	5	5	7
E5	D-E	5	14	7
E6	E-MS	5	5	7
E7	D-E	5	14	7
E8	E-MS	5	5	7

4.1.3.3 Klopfproben

Um die Gemeinschaft der blütenbesuchenden Arthropoden in die Untersuchung einschließen zu können, wurden die männlichen Blütenstände einer jeden Sorte zur Zeit der Vollblüte durch Abklopfen in einen Klopfschirm beprobt. Dabei wurde der richtige Zeitpunkt der Probenahme unter Zuhilfenahme der sog. BBCH-Skala (Meier, 2001) bestimmt. Die BBCH-Skala ermöglicht durch phänotypische Beschreibungen die genaue Identifizierung verschiedener Entwicklungsstadien einer Kulturpflanze und gewährleistet so eine konsistente Benennung und Behandlung der Stadien, etwa in der Bestimmung des richtigen Applikationszeitpunkts für Düngemittel. Die Vollblüte wird mit BBCH 65 bezeichnet. Der Kunststoff-Klopfschirm wurde an seinem unteren Ende so modifiziert, dass ein Rollrandgläschen eingeklemmt werden konnte und so alles abgeklopfte Material im Gläschen landete. In jeder Parzelle wurden insgesamt 25 zufällig ausgewählte Blüten jeweils 20 Sekunden ausgeklopft, aufgeteilt zu je fünf Blüten in ein Rollrandgläschen (fünf Gläschen pro Parzelle). Die Auswahl der Blüten erfolgte dabei abseits der Parzellenränder an zufällig ausgewählten Stellen innerhalb der Parzellen. Die erhaltenen Proben wurden zügig bei -20°C eingefroren und ins Labor verbracht. Dort wurden sie später aufgetaut und die enthaltenen Arthropoden unter dem Binokular aussortiert. Die weiteren Bestandteile der Klopfproben wie Pollen und Antheren wurden anschließend verworfen. Die aussortierten Organismen wurden in 70%-igen Ethanol überführt und bis zur Artbestimmung eingelagert. Die Termine der Probenahme für die drei Versuchsjahre sind in Tabelle 6 dargestellt. Bei der Auswertung der Daten der ersten Feldsaison wurden signifikante Unterschiede zwischen früh- und spätblühenden Sorten deutlich, die in den Folgejahren genauer untersucht werden sollten. Daher wurde ab 2009 das Probenahmeschema angepasst und nicht mehr nur zur Vollblüte einer jeden Sorte geklopft, sondern zusätzlich auch alle Sorten, die bis dahin bereits geblüht hatten. Durch diese Anpassung erhöhte sich in den Jahren 2009 und 2010 der Umfang der Proben erheblich, es konnte aber ein detaillierteres Bild der Populationsdynamik während der Blühphase gewonnen werden.

4.1.3.4 Lebendfänge für Laboruntersuchungen

Zum Aufbau einer Zucht von *T. caelestialium* wurden in allen drei Versuchsjahren Individuen kontinuierlich im Saisonverlauf in Parzellen mit konventionellem Mais und in der Mantelsaat gefangen. Um Tiere zu erhalten, die noch keinen Kontakt mit dem Bt-Mais hatten, wurden dabei Fangbereiche gewählt, die möglichst weit von MON-Parzellen entfernt lagen (Abbildung 19: z.B. Parzelle B8). Die Tiere wurden visuell bestimmt und dann einzeln mit Rollrandgläschen gefangen. Zum Transport wurden sie in belüfteten Zuchtdosen (vgl. Haltung im Labor) gesammelt und mit konventionellem Mais gefüttert. Da *T. caelestialium* erst ab dem Eintritt der Pflanzen ins Längenwachstum im Maisfeld zu finden ist, wurde ergänzend zu Beginn der Feldsaison eine Beprobung der Randstreifen und der angrenzenden Wiesen mit dem Kescher durchgeführt. Um den internen Gehalt an den verschiedenen Cry-Proteinen in *T. caelestialium* in situ bestimmen zu können, wurden im Sommer 2009 einzelne Exemplare im Feld in MON-Parzellen gefangen und direkt auf dem Feld in flüssigem Stickstoff (N₂) eingefroren.

4.1.3.5 Gelbtafeln

In der Feldsaison 2009 kam es zu einem vermehrten Auftreten von Marienkäfern. Um hinsichtlich des Verhältnisses der Dichten in den verschiedenen Maissorten statistisch auswertbare Daten zu erhalten, wurde für die folgende Feldsaison ein Probenahmedesign mit lockenden Gelbtafeln

entwickelt. Die handelsüblichen Gelbtafeln (Scotts Celaflor GmbH, Mainz; Naturen Gelbtafeln, 28 cm x 11 cm, beleimt, lockend) wurden mit Schnüren versehen und am 23.07.2010 mittig in den Parzelle zwischen zwei Pflanzen der siebten und achten Saatreihe auf etwa einem Meter Höhe aufgehängt. Dort verblieben sie für etwa sechs Wochen (Abnahme am 01.09.2010, Tabelle 6). Die Tafeln wurden in Klarsichtfolie eingeschlagen und bis zur Auswertung bei -20°C eingefroren. Im Labor wurden anschließend die gefangenen Marienkäfer gezählt und bis zur Art bestimmt.

4.1.3.6 Klebetafeln zur Untersuchung der Auswirkung von Feldbewässerung auf die Arthropodengemeinschaft

In den ersten beiden Versuchsjahren 2008 und 2009 wurden in der Gesamtheit große Unterschiede in den Dichten der Arthropoden festgestellt. Als potentieller Einflussfaktor wurde die Feldbewässerung im ersten Jahr ausgemacht (Tabelle 5). Um den Einfluss der Bewässerung auf verschiedene Organismengruppen untersuchen zu können, wurde im Jahr 2010 ein weiteres Maisfeld auf dem Gelände des FLI in die Untersuchungen mit einbezogen. Aufgrund seiner speziellen Lage in der Nachbarschaft zu einer nördlich angrenzenden Viehweide und seiner Form konnte dieses Feld (benannt als Mühlenkamp-Nord in Abbildung 18, orange umrandet) nur partiell bewässert werden, so dass ein potentieller Einfluss der Bewässerung auf das Auftreten und die Dichte verschiedener Arthropoden dort kleinräumig unter ansonsten gleichen Bedingungen (Tabelle 8) untersucht werden konnte.

Tabelle 8: Daten der landwirtschaftlichen Feldpraxis auf dem Vergleichsfeld Mühlenkamp-Nord 2010 (Quelle: FLI, persönliche Mitteilung)

Datum	Ereignis	Mittel (Wirkstoff)	Fläche	Konzentration	Menge
16.04.10	organische Düngung	Rindermist	gesamt	0,28 % N	20 t;cm ³ / ha
16.04.10	Bodenbearbeitung	Rindermist	gesamt	0,28 % N	30 t;cm ³ / ha
19.04.10	Bodenbearbeitung		gesamt		
21.04.10	Pflügen		gesamt		
27.04.10	mineralische Düngung	Diammoniumphosphat 1	gesamt	18 kg N / ha	100 kg;l / ha
27.04.10	Aussaat	SUM2368	gesamt		0,34 dt/ha
01.05.10	mineralische Düngung	AHL 28 % Liter	gesamt	108 kg N / ha	300 kg;l / ha
06.06.10	Pflanzenschutz spritzen	Calaris (Terbutylazin, Mesotrione)	gesamt		1,5 kg; l / ha
06.06.10	Pflanzenschutz spritzen	Dual Gold (S-Metolachlor)	gesamt		1,25 kg; l / ha
24.06.10	Beregnung		partiell		25-30 mm / qm
19.07.10	Beregnung		partiell		25-30 mm / qm
12.10.10	Ernte Silomais	Fortsetzung am 20.10. (0,75 ha)	8,4 ha		

Im bewässerten südlichen und unbewässerten nördlichen Teil der insgesamt 9,2 ha umfassenden Feldfläche wurde am 28.07.2010 für einen Zeitraum von fünf Wochen (mit insgesamt drei Probenahmen, gesamte Probenahmedauer von vier Wochen) Klebetafeln in der jeweils achten Reihe aufgestellt. Um eine auswertbare Probenanzahl zu erhalten, wurde mit fünf Wiederholungen im Abstand von je zehn Metern gearbeitet. Die Tafeln wurden ebenfalls mit Klarsichtfolie umschlagen und bis zur weiteren Bearbeitung bei -20 °C eingefroren. Zur Auswertung wurden die relevanten Organismen von den Klebetafeln in 70%-igen Ethanol überführt und unter dem Binokular weiter bestimmt.

4.1.3.7 Artbestimmung

Alle im Feld gesammelten Arthropoden wurden im Labor in 70-%igen Ethanol überführt und in 2 ml-Eppendorf-Reaktionsgefäßen bis zur Bestimmung gelagert. Unter dem Binokular wurden sie unter Verwendung der in Tabelle 9 zusammengestellten Bestimmungsliteratur möglichst bis zur Art, mindestens aber bis zur Gattung und soweit möglich auch auf ihr Geschlecht hin bestimmt. Die Gemeinschaft der Thripse (Thysanoptera) aus den Klopffproben konnte weitestgehend nur auf Familienniveau bestimmt werden.

Tabelle 9: Übersicht über die genutzte Bestimmungsliteratur

Organismengruppen	Verwendete Bestimmungsliteratur
Thysanoptera, Heteroptera, Aphidina, Plannipenia, Coleoptera	Schaefer, M.; Brohmer, P. [Begr.] (1994)
Heteroptera	Wheeler, A.G. (1985)
Heteroptera	Hiranuma, A. & Yasunaga, T. (1998)
Heteroptera	Sato, T. & Yasunaga, T. (1999)
Auchenorrhyncha	Biedermann, R. (2004)
Thysanoptera	Moritz, G. (1991)
Coleoptera	JKI (2010)
Coleoptera	Nötzold, V. (1997)
Coleoptera	Stippen.nl (2011)
Heteroptera	Remane, R. (1964)

4.1.4 Probenahmemethodik Lumbriciden

Zur Untersuchung der Auswirkungen des Anbaus des „stacked“ *Bt*-Mais MON 89034 x MON 88017 auf Regenwürmer wurde über alle drei Feldjahre kontinuierlich die Gemeinschaft der Regenwürmer auf dem Feld beprobt. Da im Gegensatz zum Projektteil „Arthropoden“ im Projektmodul „Regenwurm“ noch keine Erfahrungen mit der Probenahme und Bestimmung vorlagen, musste die Methodik hier zunächst evaluiert werden, bevor mit den Untersuchungen begonnen werden konnte. Aus Tabelle 10 können die einzelnen Probenahmeterminale entnommen werden.

Tabelle 10: Übersicht über die Probenahmeterminale Regenwurm über die gesamte Projektdauer 2008-2010

Jahr	Probenahmetermin	Lage in der Feldsaison	Benennung	Bemerkungen
2008	20.-21.05.	Unmittelbar vor der Aussaat	Frühjahr 2008	Handsortierung
	14.-15.10.	Unmittelbar nach der Ernte	Herbst 2008	Partiell Senfextraktion, komplett Handsortierung
2009	11.-12.05.	Eine Woche vor der Aussaat	Frühjahr 2009	Handsortierung
	05.-06.10.	Unmittelbar nach der Ernte	Herbst 2009	Handsortierung
2010	11.-12.04.	Etwa 6 Wochen vor der Aussaat	Frühjahr 2010	Handsortierung
	28.-29.10.	Etwa 10 Tage nach der Ernte	Herbst 2010	Handsortierung

Zu Beginn des Projektes wurde zunächst vor der ersten Aussaat am 20.-21.05.2008 eine Probenahme abseits des erst später angelegten Felddesigns (Abbildung 21) durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Probenahme sollten die Basis für die späteren Probenahmeterminale bilden und den Ausgangszustand des Feldes verdeutlichen. Die beprobten Areale wurden markiert und später nach dem Einmessen der Versuchsfläche den jeweiligen Parzellen zugeordnet. Weiterhin wurde in jedem Versuchsjahr vor der Aussaat und nach der Ernte eine Probenahme durchgeführt. Dabei wurden die Probenahmetechnik und der Zeitpunkt der Probenahme im Laufe des Projekts an die Erfahrungen angepasst.

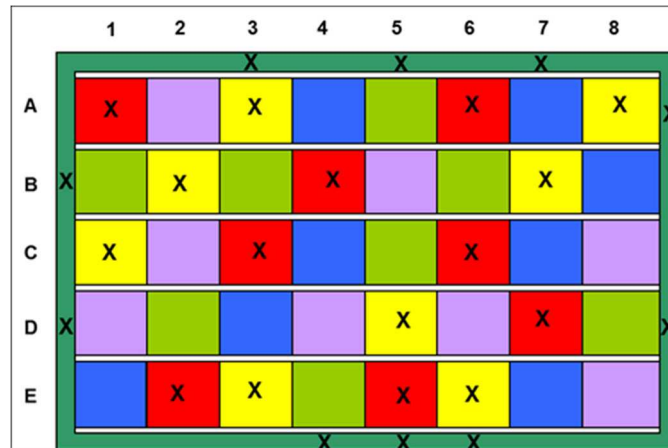


Abbildung 21: Probenahme Frühjahr 2008, (X: Probenahmeestelle vor dem ersten Einmessen des Versuchsfeldes relativ zum späteren Versuchsdesign)

4.1.4.1 Probenahmemethodik

Angelehnt an die DIN-Norm ISO 11268-3 von 1999, wurde eine Extraktion der Regenwürmer aus der Feldfläche mittels flüssiger Agenzien angestrebt. Da die in der DIN-Norm empfohlene Extraktion mit Formalin aufgrund der schädlichen Umwelteinflüsse vermieden werden sollte, wurde den Untersuchungen von Gunn (1992), Chan & Munro (2000), Lawrence & Bowers (2002) und Fründ & Jordan (2004) folgend eine Flüssigextraktion mit Senfmehl mit anschließender Handsortierung ausgewählt. Pro Parzelle sollten in jeder Probenahme zwei Standorte beprobt werden. Dazu wurden zwei Stechrahmen aus Edelstahl (45 cm x 45 cm x 10 cm) angefertigt, um die zu beprobende Fläche



zu umschließen. Dieses Maß entsprach nicht ganz den Vorgaben der Literatur (50 cm x 50 cm), war technischen Gründen geschuldet. Die Rahmen wurden in den Boden eingebracht und vollständig versenkt. Anschließend wurde der umschlossene Boden spatentief (20 cm = entspricht einem beprobten Volumen von 0,04 m³) mit einem Spaten ausgegraben und auf einer Folie ausgebreitet (Abbildung 22). Die Erde wurde nun von Hand nach Regenwürmern durchsucht. Gefundene Regenwürmer wurden in Sammelgefäßen in 70 %-igen Ethanol überführt.

Abbildung 22: Regenwurmprobenahme auf dem Versuchsfeld (Edelstahlrahmen im Boden, hier bisher nur 10 cm tief gegraben; Quelle: Biosicherheit, 2011g (S. Fuhrmann))

In das entstandene Loch wurden 10 l einer Senfmehllösung (nach Fründ & Jordan (2004): 6 g / l, Gewürze Schwabe GmbH, Hornbach, Art.-Nr. 4148) portionsweise eingefüllt und in der nächsten halben Stunde die auftauchenden Würmer abgesammelt und ebenfalls in 70-igen Ethanol überführt. Im Labor angekommen (nach max. 48 Stunden) wurden die Tiere zur Fixierung für eine Woche in eine 4 %-ige Formalinlösung eingelegt und anschließend wieder in 70 %-igem Ethanol aufbewahrt. In

weiteren Probenahmen wurde auf die Flüssigaustreibung verzichtet und nur eine Handsortierung vorgenommen.

4.1.4.2 Artbestimmung

Die auf der Feldfläche gefangenen Regenwürmer sollten soweit wie möglich, eingeschränkt durch ihren Zustand und ihr Entwicklungsstadium, unter dem Binokular bis zur Art bestimmt werden. Dazu wurden die in Tabelle 11 aufgeführten Werke genutzt.

Tabelle 11: Literatur zur Artbestimmung der gefangenen Regenwürmer

Organismengruppen	Verwendete Bestimmungsliteratur
Lumbricidae	Herr, S. und Bauchhenß, J. (1987)
	Graff, O. (1953)
	Graff, O. (1983)
	Christian, E. & Zicsi, A. (1999)

4.1.5 Statistische Methoden

Alle erhaltenen Datensätze wurden in MS Excel verarbeitet und im Statistikprogramm R analysiert. Dazu wurden verschiedene Methoden hinsichtlich der jeweiligen Fragestellung und in Abhängigkeit der Beschaffenheit der jeweiligen Daten ausgewählt.

4.1.5.1 Felddaten Arthropoden

Der auf dem Versuchsfeld erhobene Datensatz der Arthropodenzönose enthielt neben der Artzusammensetzung auch Daten zur Abundanz verschiedener Arten. Aufgrund der teilweise sehr geringen Abundanzen konnte nicht für alle bestimmten Taxa eine Analyse auf Artniveau durchgeführt werden. In anderen Fällen wurde auf Familienniveau gearbeitet, um statistisch auswertbare Datensätze zu erhalten. Wo möglich, wurde zwischen adulten Tieren und juvenilen Organismen unterschieden (*T. caelestialium*, *Orius spec.*). Es wurde mit Konfidenzintervallen gearbeitet, um statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungen ausmachen zu können. Dazu wurden die Mittelwerte eines Taxons in den acht Parzellen einer Probenahme gebildet und unter der Annahme einer Quasipoisson-Verteilung ins Verhältnis gesetzt. Aufgrund der Anzahl der Behandlungen und unter der Annahme eines vertretbaren Fehlers von fünf Prozent links- wie rechtsseitig pro Vergleich ergaben sich beim paarweisen Vergleich aller Behandlungen 99,5%-Konfidenzintervalle ($1 - 0,05 / \text{Anzahl der Vergleiche} = 1 - 0,05 / 10 = 0,995$), anhand derer die Ähnlichkeit der Verteilung zwischen verschiedenen Behandlungen interpretiert werden konnte. Dabei wurde ein Unterschied von der Hälfte bis hin zur Verdopplung der Abundanz eines Taxons als natürlicher Spielraum angenommen (Perry et al., 2009, Rauschen et al., 2010b). In den Probenahmen, in denen auf eine Beprobung der Insektizidvariante verzichtet wurde, ergab sich nach obiger Formel ein Konfidenzintervall von 99,1667 %. Die Verteilungen wurden als Boxplots in R grafisch dargestellt. Diese Kastendiagramme geben in der Box den Wertebereich an, in dem 50 % aller Daten liegen, wobei die Begrenzungen durch das untere und das obere Quantil (25 % und 75 %) gebildet wurden und die Höhe der Box den Interquartilabstand visualisiert. Der Querstrich innerhalb

der Box gibt die Lage des Medians an, so dass je 50 % der Daten ober- wie unterhalb liegen. Die Antennen visualisieren den Wertebereich, in den sich 95 % aller Daten sortieren. Ausreißer werden als Kreise ober- und unterhalb der Antennen dargestellt.

4.1.5.2 Felddaten Lumbriciden

Die auf dem Versuchsfeld jeweils im Frühjahr und Herbst erhobenen Daten wurden ebenfalls mit Konfidenzintervallen untersucht, um statistisch signifikante Unterschiede identifizieren zu können. Diese wurden jedoch für die Familie Lumbricidae durchgeführt und nicht auf Artniveau unterschieden. Ebenfalls wurde eine kumulative Auswertung aller Probenahmen pro Parzelle über die gesamte Versuchsdauer durchgeführt. Dazu wurde in R zunächst mittels Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung und mittels Bartlett-Test auf Varianzhomogenität geprüft und anschließend eine ANOVA durchgeführt. Wurde die Normalverteilung und die Varianzhomogenität nicht nachgewiesen, wurde zur Varianzanalyse ein Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Zusätzlich wurde die Verteilung auf dem Feld grafisch als 3D-Stabdiagramm in Sigma-Plot (Sigma-Plot 2002 for Windows, Version 8.0) und als Boxplots in R dargestellt.

4.2 Labormethoden

Ergänzend zu den Versuchen auf dem Versuchsfeld wurden mit beiden Organismengruppen auch Untersuchungen im Labor durchgeführt. Der interne Gehalt an den verschiedenen Cry-Proteinen aus dem angepflanzten bzw. verfütterten *Bt*-Mais wurde mittels ELISA sowohl in Regenwürmern als auch in *T. caelestialium* vom Feld und aus Versuchen im Labor bestimmt. *T. caelestialium* wurde im Gewächshaus als Zucht etabliert und für verschiedene Untersuchungen genutzt. Regenwürmer der Art *L. terrestris* wurden aus kanadischen Fangstationen bezogen und in einem Regenwurmdauerversuch über 200 Tage den verschiedenen Maissorten ausgesetzt und in Regenwurmfluchttests gegenüber den verschiedenen Cry-Proteinen exponiert.

4.2.1 *Trigonotylus caelestialium* als Modellorganismus im Labor

Individuen von *T. caelestialium* wurden lebend im Feld gefangen und in Zuchtdosen (Abbildung 23, Durchmesser 13,6 cm, Höhe 9,2 cm, Volumen 1500 ml, Deckel mit Gaze zum Luftaustausch (Durchmesser 10 cm)) mit Blättern konventioneller Maispflanzen als Nahrung zügig im klimatisierten Fahrzeug nach Aachen transportiert. Dort wurden sie entsprechend der jeweiligen Fragestellung in Kleingruppen in den Klimaschrank verbracht und in die Experimente eingesetzt.

4.2.1.1 Haltung und Zucht

Die Mehrzahl aller im Feld gefangenen Tiere wurde zum Aufbau einer Zucht gehalten, mit dem Ziel, Versuchsorganismen bekannten Alters und bekannter Herkunft zu bekommen. Eine Zuchtmethode auf Weizen war bekannt (Higuchi & Takahashi, 2000, englisches Protokoll per E-Mail von Shintani, Y., Laboratory of Entomology, Minami Kyushu University, Japan) und sollte für Mais angepasst werden.

In Vorversuchen konnte gezeigt werden, dass eine Haltung für Versuchszwecke und Zucht im Klimaschrank bei einer Luftfeuchte von 70 %, einem Tag-Nacht-Rhythmus von 16:8 Stunden und einer Temperatur von 25 °C erfolgen kann. Die in den Vorversuchen (Schultheis, 2008) verwandten Käfige erwiesen sich aufgrund ihrer Bauart mit Gaze auf nur zwei Seiten und zwei massiven Seitenwänden im Klimaschrank als zu dunkel, so dass im Folgenden auf Kleingruppenhaltung in Zuchtdosen umgestellt wurde. Dabei wurden maximal 20 Tiere in einer Dose gehalten und mit Blättern der ihr zugeteilten Maissorte gefüttert. Die dafür benötigten Maispflanzen wurden im Gewächshaus angezogen und in einem Alter von 3-8 Wochen verfüttert. Während der täglichen Fütterung wurden auch verstorbene Tiere entnommen, auf ihr Geschlecht hin bestimmt und dokumentiert. Zusätzlich wurden täglich 3-4 Weizenkeimlinge zugegeben, deren Blattscheiden zur Eiablage dienten. Auch der Weizen wurde im Gewächshaus angezogen und ab einem Alter von etwa sieben Tagen verfüttert. Um Fraß am Weizen vorzubeugen, wurden die grünen Blattabschnitte entfernt. Die Keimlinge wurden nach einem Tag wieder entnommen und auf Gelege kontrolliert. Die Keimlingsabschnitte mit den Gelegen wurden ausgeschnitten und in Petrischalen (Durchmesser 9 cm, mit Belüftungsnocken, Carl Roth, 2011a, Art.-Nr. N221.2) auf ein befeuchtetes, etwa 2,5 cm x 2,5 cm großes Papiertuch (aro Kosmetiktücher, Metro) überführt. In den Petrischalen wurden sie im Klimaschrank inkubiert und täglich in den Deckel der Petrischale befeuchtet. Nach fünf Tagen wurden erstmals als Futter für schlüpfende Nymphen Maisblattabschnitten (ca. 2 x 2 cm, Abbildung 24) zugegeben. Diese Maisstücke wurden in der Folge täglich gewechselt. Geschlüpfte Tiere und ihr Entwicklungsstand wurden dabei protokolliert. Adulte Tiere wurden in Zuchtdosen verbracht und dort verpaart.



Abbildung 23: Zuchtdosen



Abbildung 24: Maisblätter MON 89034 x MON 88017, links: nach einem Tag mit Fraßspuren, rechts: frisch

4.2.1.2 Fraßversuche zur Aufklärung des Schicksals der Cry-Proteine

Um das Schicksal der Cry-Proteine aufzuklären, wurden einzelne adulte *T. caelestialium* in Fleischsalatdosen (Durchmesser 9,3 cm, Höhe 4,6 cm, Volumen 250 ml) gehalten und mit *Bt*-Maisblättern gefüttert. Um Austrocknung vorzubeugen, wurde in den Deckel der Dosen ein befeuchtetes Stück Zellstofftuch (aro Haushaltstücher, Metro) eingelegt. Boden und Deckel der Dosen wurden vorab mit einer Nadel perforiert, um einen Gasaustausch zuzulassen. Um zu verhindern, dass die Tiere zwischen Deckel und Tuch flogen und dort verstarben, wurden die Dosen auf dem Deckel gelagert (Abbildung 25). In diese Dosen wurden die adulten Einzeltiere aus Zuchtansätzen, die auf der nah-isogenen Sorte DKC 5143 aufwuchsen, eingesetzt und dort erstmals mit dem *Bt*-Mais gefüttert. Nach dem vorgesehenen Fütterungsablauf (Tabelle 12) wurden sie entnommen und bis zur Bestimmung der verbliebenen Proteingehalte bei -50 °C eingefroren.

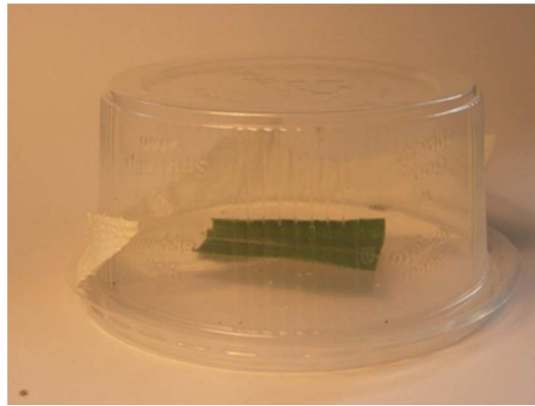


Abbildung 25: Versuchsaufbau Fraßversuch zur Aufklärung des Schicksals der Cry-Proteine

Tabelle 12: Übersicht über die Probenahmen im Fraßversuch (d = Tage, h = Stunden, MON: DKC 5143-*Bt* MON 89034 x MON 88017, ISO: DKC 5143)

Behandlung	Herkunft	Anzahl
3 d MON	Feld, anschl. ISO	4
4 d MON	Feld, anschl. ISO	7
> 4 d MON als Adulte	Gesamtentwicklung auf MON	12
24 h MON, 2 h ISO	Feld, anschl. ISO	4
24 h MON, 4 h ISO	Feld, anschl. ISO	4
24 h MON, 6 h ISO	Feld, anschl. ISO	4
24 h MON, 10 h ISO	Feld, anschl. ISO	6
24 h MON, 14 h ISO	Gesamtentwicklung auf MON	3
24 h MON, 18 h ISO	Gesamtentwicklung auf MON	3

4.2.1.3 Bestimmung der Fraßmenge

Tabelle 13: Übersicht der Einzelorganismen nach Sorte und Generation

Sorte	Gelegenummer	Legedatum	Datum der letzten Häutung zum Adulten	Beobachtungsdauer [Tage]
MON	114/1	20.07.10	20.08.10	8
MON	114/2	20.07.10	20.08.10	12
ISO	132/1	23.07.10	21.08.10	7
MON	146	24.07.10	22.08.10	4
DKC	171/2	28.07.10	22.08.10	6
ISO	156/1	26.07.10	21.08.10	10
ISO	156/2	26.07.10	21.08.10	5
ISO	142	24.07.10	23.08.10	10
DKC	171/1	28.07.10	22.08.10	5
DKC	131	23.07.10	23.08.10	10
DKC	171/3	28.07.10	22.08.10	4
DKC	171/4	28.07.10	22.08.10	5
DKC	155	26.07.10	23.08.10	3
MON	Zucht	-	-	9
ISO	188	01.08.10	24.08.10	9
MON	224	04.08.10	28.08.10	5
ISO	212	03.08.10	30.08.10	5
ISO	Zucht 1	-	-	1
ISO	279	10.08.10	05.09.10	1
ISO	Zucht 2	-	-	1
ISO	Zucht 3	-	-	1
ISO	264	08.08.10	05.09.10	1
ISO	240	06.08.10	05.09.10	1
ISO	249	07.08.10	05.09.10	1
BEN	344	23.08.10	23.09.10	8
BEN	358/2	30.08.10	26.09.10	2
BEN	358/1	30.08.10	27.09.10	2

Um zu überprüfen, ob die Fraßmenge in Abhängigkeit von der angebotenen Maissorte variiert, wurden adulte *T. caelestialium* der F₂-Generation aus den verschiedenen Zuchtansätzen (Tabelle 13) in Petrischalen überführt und dort mit etwa 2 x 2 cm großen Maisblattstücken der jeweiligen Sorte über mehrere Tage gefüttert. Die Futterstücke wurden täglich erneuert und mit einer Größenangabe fotografiert (Abbildung 28 a). Diese Bilder dienten als Grundlage in der anschließenden statistischen Auswertung.

4.2.1.4 Full life cycle test

Um neben dem Schicksal der Cry-Proteine auch potentielle chronische Effekte aufzudecken, wurde ein full life cycle test durchgeführt. Dazu wurden adulte *T. caelestialium* auf dem Feld gefangen und in sechs Gruppen à 20 Tieren (Generation P) in Zuchtdosen auf einer Mischung der Nicht-Bt-Sorten vermehrt und wie oben beschrieben gehalten. Es wurden die Geschlechter der verstorbenen Tiere, die gelegten Eier, die Dauer bis zum Schlupf, die Schlupfrate und die Entwicklung bis zum adulten Tier protokolliert. Adulte Tiere (Generation F₁ und folgende) wurden in Gruppen à 12 Tieren weitervermehrt und ihre Nachkommen wiederum protokolliert. Dabei wurde von der Generation F₁ ab dem Schlupf bis zur Generation F_x dieselbe Maissorte nach Ansatz verfüttert, innerhalb der Maissorten fand jedoch eine Vermischung der Ansätze statt (Tabelle 14).

Tabelle 14: Anzahl der verwendeten Ansätze im Full-Life-Cycle-Test in F₁ und F₂

	DKC 4250	DKC 5143	DKC 5143-Bt	Benicia
F ₁	2	4	8	3
F ₂	1	1	2	1

4.2.1.5 Bioassay mit *Ostrinia nubilalis*

Um die Bioaktivität der Cry-Proteine in den Wanzen zu testen, wurde ein Bioassay mit *O. nubilalis* nach Saeglitz et al. (2006) durchgeführt. Dazu wurden 128-Well-Platten (Bio-Ba-128, Color-Dec, Italien) verwandt. Jedes Well wurde mit der noch flüssigen Zünslerdiät (1 ml, Tabelle 15) befüllt. Dazu wurde das Futter nach Anleitung (Wyniger, 1974) hergestellt und während der Applikation mit der Multipette® plus (Eppendorf, 2011a) und den zugehörigen Combitips® (25 ml; Eppendorf, 2011b) im Wasserbad bei 60 °C flüssig gehalten.

Tabelle 15: Zutaten für die Zünslerdiät

Arbeitsschritt:	Zutat:	Menge für 2 Platten (256 Tests):
1	Agar-Agar, Kobe I, pulverisiert (Carl Roth, 2011b)	8 g
	Wasser	170 ml
2	Wasser	170 ml
	Polenta (Maisgrieß)	56 g
	Weizenkeime	14 g
	Bierhefe	15 g
	Ascorbinsäure	3 g
	Benzoesäure	1 g
	Sorbinsäure	0,4 g
	Vitaminmischung	1 g
	Fumidil	0,25 g

Nach dem Erhärten des Nährmediums wurden das zu testende Protein, die zu testende Proteinmischung oder die zu testenden Wanzenextrakte appliziert (Oberflächenapplikation, Tabelle

16). Nach etwa drei Stunden war die Flüssigkeit angetrocknet und es wurde jeweils eine Zünslerlarve (max. 24 h alt) zugesetzt, die Platte mit belüfteten Klebefolien (Bio-Cy-16, Color-Dec, Italien) verschlossen und für sieben Tage im Klimaschrank bei 25 °C (dauerhaft dunkel) inkubiert. Nach Ablauf der Versuchsdauer wurde die Mortalität der Larven bestimmt und in R eine Probitanalyse durchgeführt. In dieser wurden die LC₅₀-Werte für die verwendeten Cry-Proteine Cry1A.105 und Cry2Ab2 errechnet. Durch eine vorher durchgeführte Abschätzung des Gehalts von *T. caelestialium* an diesen Proteinen (Vorversuche mittels ELISA: Schultheis, 2008) konnte danach die aufzutragende Menge der Wanzenextrakte bestimmt werden, um eine mögliche Bioaktivität nachweisen zu können.

Tabelle 16: getestete Ansätze

Testsubstanz	Dosis	Anzahl getesteter Larven
Kontrolle: PBST-Puffer	-	32
Kontrolle: PBST à CAPS	-	51
Kontrolle: 50 mM CAPS		88
Cry1A.105	0,01 µg	16
	0,02 µg	16
	0,04 µg	16
	0,08 µg	16
	0,16 µg	16
	0,2 µg	32
	0,4 µg	32
	0,8 µg	32
	1,6 µg	32
	3,2 µg	32
Cry1A.105 nach Dialyse in Darmstadt	0,531 µg	24
Cry2Ab2	0,05 µg	16
	0,1 µg	16
	0,2 µg	16
	0,4 µg	16
	0,5 µg	32
	1 µg	16
	2 µg	16
	4 µg	16
	8 µg	16
Cry1A.105 + Cry2Ab2	0,1 µg + 0,25 µg	16
	0,2 µg + 0,5 µg	16
	0,4 µg + 1 µg	16
	0,8 µg + 2 µg	16
	1,6 µg + 4 µg	16
Cry2Ab2 nach Dialyse in Darmstadt	1,77 µg	24
<i>T. caelestialium</i> – Extrakt 1 in Aachen	0,0037 µg Cry1A.105 + 0,0043 µg Cry2Ab2	4
<i>T. caelestialium</i> – Extrakt 2 in Aachen		20
<i>T. caelestialium</i> – Extrakt 2 in Darmstadt		35

Die Wanzenextrakte wurden mit PBST-Puffer (Tabelle 17) hergestellt, um sie zur Bestimmung der analytisch feststellbaren Proteingehalte parallel auch im ELISA einsetzen zu können. Im *Ostrinia*-Test erwiesen sich die PBST-Extrakte allerdings als nicht einsetzbar, da die verwendeten Testorganismen bereits in der reinen Pufferkontrolle verstarben. Daher wurden die Extrakte zunächst durch Proteindialyse in CAPS-Puffer überführt. Dazu wurde ein Dialyseschlauch (Ausschluss 10.000 Da)

vorbereitet, indem er zunächst zweimal zwei Stunden in 1 l 100mM NaHCO₃-Puffer (mit 200 ml 10 mM EDTA auf pH 7,0 eingestellt) bei 60-70 °C inkubiert wurde und anschließend dreimal je eine Stunde in 1 l ddH₂O bei 60-70 °C gereinigt wurde. Anschließend wurden die Extrakte in den Dialyseschlauch eingefüllt und über Nacht bei 4 °C in 10mM CAPS-Puffer (3 - (Cyclohexylamino)-1-propansulfonsäure) dialysiert. Als Kontrolle wurde reiner PBST-Puffer ebenso wie reines Protein in PBST-Puffer ebenfalls dialysiert und anschließend in den Versuch eingesetzt. Die vorhandene Proteinmenge nach der Dialyse wurde durch den Verbundpartner in Darmstadt in einer SDS-Page überprüft.

Tabelle 17: Zusammensetzung des PBST-Puffers

Inhaltsstoff	chem. Bez.	g / l
Natriumchlorid	NaCl	8,0
Di-Natrium-Hydrogen-Phosphat-Dihydrat	Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O	1,15
Kaliumchlorid	KCl	0,2
Kalium-Di-Hydrogen-Phosphat	KH ₂ PO ₄	0,2
Tween-20		0,5

Die eingesetzten Larven von *O. nubilalis* entstammten einer Langzeit-Massenzucht im Labor und wurden dort bereits seit über 150 Generationen gehalten. Es handelte sich um Nachkommen der Zucht, die durch Saeglitz et al. (2006) in der 42. Generation verwandt wurde.

Die Auswertung der Bioassays fand nach sieben Tagen statt. Der Anteil der toten Larven wurde ebenso dokumentiert wie eine eventuelle Entwicklungsverzögerung der überlebenden Larven.

4.2.2 *Lumbricus terrestris* als Modellorganismus im Labor

4.2.2.1 Dauerversuch

Um die Auswirkungen des Anbaus von Bt-Mais auf Lumbriciden nicht nur im Feld zu untersuchen, sondern auch im Labor unter standardisierten Bedingungen zu testen, wurde ein Regenwurmdauerversuch über 200 Tage mit dem *L. terrestris* durchgeführt, in dem ein worst case-Szenario durchgeführt werden sollte, indem die Bt-Maissorte und ihre Vergleichssorten ohne große Unterbrechung zwischen Ernte und erneuter Aussaat in den Töpfen angebaut wurden. In einem weiteren Versuchsansatz wurden Regenwürmer über die gesamte Versuchszeit mit getrocknetem Pflanzenmaterial der Bt-Sorte und ihrer Vergleichssorten gefüttert. Weiterhin sollte durch die Kombination der beiden Fütterungsszenarien ein Bindeglied zwischen den Studien von Ahmad et al. (2006) und Zwahlen et al. (2003b) erstellt werden.

In einigen Versuchen wurde Boden vom Versuchsfeld verwendet. Dieser wurde bei - 20 °C eine Woche eingefroren, um enthaltene Regenwürmer abzutöten, eine weitere Sterilisierung erfolgte nicht. Trotz der erfolgten Behandlungen (Defaunierung, Siebung, Trocknung etc.) wird im Folgenden die Bezeichnung „Boden“ beibehalten, um eine Unterscheidung von teilweise verwendeter Einheitserde zu erleichtern.

4.2.2.1.1 Erster Ansatz

Zunächst wurde eine Versuchsdurchführung mit Einheitserde ED 73 (Meyer, 2008a) durchgeführt. Dazu wurden in 76 Pflanztöpfen (30 l, Meyer, 2008b) die Bewässerungslöcher im Boden durch Heißkleber mit Gaze (aus Mückennetzen) wasserdurchlässig verschlossen, um ein Entkommen der

Versuchstiere zu verhindern, und die mit Sand (Spielsand Red Sun Sand, 25kg, gesiebt, gewaschen) versetzte Erde eingefüllt (1,5 kg Sand auf 22,5 l Erde (entspricht 4,5 kg)). Entsprechend Tabelle 18 wurden zwei Szenarios durchgeführt. In 36 Töpfen wurden Regenwürmer alle 30 Tage mit pflanzlicher Biomasse, in diesem Fall luftgetrockneten Maisblättern, gefüttert. In weiteren 36 Töpfen wurden lebendige Maispflanzen eingepflanzt, um die Würmer einerseits den Wurzelexsudaten auszusetzen und sie andererseits gegenüber den Maiswurzeln zu exponieren. In beiden Ansätzen waren Probenahmen nach 90 Tagen, nach 240 Tagen und nach 600 Tagen mit jeweils drei Wiederholungen vorgesehen, so dass sich bei zwei Ansätzen mit je vier Sorten und je drei Probenahmen mit drei Wiederholungen eine Gesamtzahl von 72 Töpfen ergab. Zusätzlich wurde je ein Topf pro Maissorte ohne Würmer angesetzt, um das Wachstum der Pflanzen unter Einfluss der Würmer vergleichend zu kontrollieren, so dass insgesamt 76 Töpfe eingesetzt wurden.

In jeden Topf wurde zu Beginn der Untersuchung (entsprechend Tabelle 18) 13 g Biomasse oder eine zehn Tage alte Maispflanze überführt und 20 adulte *L. terrestris* zugegeben (Ausnahme: Kontrolltöpfe). Eine weitere Fütterung der Würmer in Töpfen mit den Maispflanzen erfolgte angelehnt an die Methode von Ahmad et al. (2006) nicht. Die Würmer wurden aus Kanada importiert, wo sie aus Boden extrahiert und in Sammelstationen gesammelt werden, und kommerziell erworben (Greibenstein Angelsport GmbH, 2010; Art.-Nr. 1060). Vor dem Einsetzen der Würmer in den Versuch wurden diese zur Darmentleerung 24 Stunden auf feuchtem Küchenpapier gehalten und anschließend einzeln gewogen. Weiterhin wurden alle Würmer auf ausgeprägte Pubertätstuberkel und das Clitellum überprüft, um zu gewährleisten, dass nur adulte Würmer eingesetzt wurden.

Tabelle 18: Übersicht über die Versuchsansätze im Regenwurmdauerversuch, erster Ansatz

Expositionsquelle	Maissorten	Probenahmen
Luftgetrocknete Maisblätter	DKC 5143 MON 89034 x MON 88017	Tag 90
(0,01625 g / Wurm & Tag)		Tag 236
= 0,4875 g / W. & Monat)	DKC 5143	Tag 90
Daten orientiert an Zwahlen et al. (2003b)		Tag 236
Blätter vom Versuchsfeld, Ernte 15.10.2008	Benicia	Tag 90
Lufttrocknung		Tag 240
16.10.-24./28./29.10.2008 (MON/BEN/ISO+DKC)	DKC 4250	Tag 90
Anschl. portionsweise tiefgefroren bei -50 °C,		Tag 240
Fütterung alle 30 Tage		
Lebende Maispflanzen	DKC 5143 MON 89034 x MON 88017	Tag 90
1 Pflanze pro Topf, Aussaat 10 Tage vor		Tag 240
Versuchsbeginn,	DKC 5143	Tag 90
Ernte der oberirdischen Pflanzenteile an Tag 104,		Tag 240
erneute Aussaat an Tag 125 in ED 73, vorsichtiges	Benicia	Tag 90
Einbringen in die Töpfe an Tag 135, Ernte der		Tag 240
oberirdischen Pflanzenteile an Tag 240	DKC 4250	Tag 90
		Tag 240

Das zugesetzte Pflanzenmaterial der vier Maissorten wurde parallel zur Ernte des Feldversuchs im ersten Versuchsjahr gewonnen, nach Aachen transportiert und im Gewächshaus über eine Woche (bis zur Gewichtskonstanz) luftgetrocknet (Abbildung 26a), in etwa 2 x 2 cm große Stücke geschnitten und anschließend in monatlichen Portionen für 20 Würmer bei -50 °C tiefgefroren. Vor Beginn der Trocknung wurde vom Bt-Mais eine Rückstellprobe ebenfalls bei -50 °C eingefroren, um später eine Relation zwischen dem Gehalt an Cry-Proteinen der verfütterten, getrockneten Maisblättern zu denen in einem frischen Blatt herstellen zu können.

Die eingesetzten Maispflanzen wurden im Gewächshaus vorgezogen und vorsichtig in die Mitte der Töpfe eingesetzt. Diese wurden vor dem Einsetzen der Würmer in eine Klimakammer verbracht und dort unter einem Lichtregime von 16:8 h L:D bei 21,5 °C / 18 °C belassen (Abbildung 26 b). Zur Kontrolle der Feuchtigkeit wurde in einigen Töpfen ein Tensiometer (Blumat-Digital, Weninger GmbH & Co. KG, Telfs, Tirol, Österreich) verwendet und die Feuchtigkeit täglich kontrolliert. Bei einem Tensiometerwert von mindestens 100-120 mbar wurde gegossen. Alle Wasserzugaben wurden protokolliert. In den ersten zehn Tagen wurden Würmer, die die Vorbereitung nicht überlebten und

tot auf der Oberfläche der Erde lagen, abgesammelt, protokolliert und ersetzt. Nach 30, 60 und 90 Tagen wurden die Biomasseansätze mit jeweils 13 g Maisblättern aus der Tiefkühltruhe gefüttert, um Schimmelbildung bei einer zu dichten Auflage vorzubeugen. Kurz vor Einsetzen der Pollenschüttung wurden in den Ansätzen mit Maispflanzen deren Blüten entfernt (technische Notwendigkeit in der Klimakammer). Nach 90 Tagen erfolgte die erste Probenahme. Die Pflanzen in den entsprechenden Töpfen wurden direkt oberhalb der Erde abgeschnitten, gewogen und repräsentative Proben zu einer späteren Bestimmung des Trockengewichtes bei -50 °C eingefroren. In den Töpfen mit getrocknetem Pflanzenmaterial wurden die übrigen Blattreste abgesammelt und nach 48 h Trocknung ebenfalls gewogen.



Abbildung 26: Regenwurmdauerversuch a) Lufttrocknen der Maisblätter, b) Anordnung in der Klimakammer (vorne: Ansätze mit Maispflanzen, hinten: Ansätze mit luftgetrocknetem Blattmaterial)

Die Erde wurde von Hand nach Regenwürmern durchsucht und die gefundenen Würmer 24 h auf angefeuchtem Küchenpapier gehalten, um eine Darmentleerung zu erreichen. Nach diesen 24 h wurden die Regenwürmer wieder gewogen und Würmer aus *Bt*-Ansätzen bei -50 °C tiefgefroren, um später den internen Gehalt an den verschiedenen Cry-Proteinen im ELISA messen zu können. 14 Tage nach der ersten Probenahme wurden die restlichen Pflanzen geerntet und ebenfalls knapp über der Erde abgeschnitten. Die Wurzelstöcke verblieben in den Versuchstöpfen. An Versuchstag 135 wurden wieder Maispflanzen (Aussaat an Tag 125) in die Töpfe eingebracht, dabei wurden die Setzlinge neben die noch vorhandenen Wurzelstöcke vorsichtig eingesetzt, bevor an Tag 236 eine weitere Probenahme von drei Töpfen pro Behandlung folgte. Aufgrund der Ergebnisse der ersten beiden Probenahmen wurde anschließend der Versuch abgebrochen und in einem zweiten, modifizierten Ansatz wiederholt.

4.2.2.1.2 Zweiter Ansatz

Im zweiten Durchlauf des Regenwurmdauerversuchs wurde keine standardisierte Versuchserde verwandt, sondern Boden vom Versuchsfeld. Dazu wurden am 20.04.2010 ca. 500 kg Boden vom Versuchsfeld (Parzelle A4, DKC 4250) nach Aachen überführt und durch Einfrieren bei -20 °C über eine Woche defauniert. Anschließend wurden wieder 30 l Boden (entsprechen 15 kg) in die Versuchstöpfe eingefüllt und Regenwürmer vorbereitet (Darmentleerung auf Küchenpapier, Wägung, Gruppierung á 20 Würmer). Die Töpfe wurden wiederum in der Phytokammer (Temperatur 20 °C / 18 °C, 16:8 L:D) aufgestellt. Um Staunässe zu verhindern, wurden im zweiten Versuchsdurchlauf unter jeden Topf zwei Backsteine gelegt. Am 06.05.2010 erfolgte das Einsetzen der Würmer in den Versuch. Im zweiten Versuchsdurchlauf wurde auf die Unterscheidung zwischen der Exposition durch abgestorbene Biomasse und durch lebendige Pflanzen verzichtet und ein kombinierter Ansatz durchgeführt. Daher wurden alle Würmer direkt nach dem Einsetzen mit je 39 g Blattmaterial pro Topf aus der Tiefkühltruhe gefüttert. Diese Dosis entspricht einer Dosis für drei Monate. Auf eine Fütterung jeden Monat wurde verzichtet, da die Befürchtung von Schimmelbildung bei zu großer Auflage sich im ersten Versuchsdurchlauf nicht bestätigt hatte. Am 10.05.2010 (Versuchstag 4) wurden die vorgezogenen Maispflanzen eingepflanzt (Aussaat am 26.04.2010). Wiederum erfolgte in den ersten Tagen (07.05.) eine Kontrolle auf tote Regenwürmer, die dann protokolliert und ausgetauscht wurden. Nach 102 Versuchstagen erfolgte am 16.08.2010 die erste Probenahme von je drei Töpfen. Wieder wurden die Pflanzen gewogen und Rückstellproben eingefroren. Die in der Handsortierung gefundenen Würmer wurden 24 h auf Papier gesetzt und anschließend gewogen. Die Organismen aus den Bt-Töpfen wurden zur späteren Proteinbestimmung bei -50 °C eingefroren. Parallel zur Probenahme erfolgte die Ernte der anderen Töpfe und eine weitere Fütterung mit getrocknetem Blattmaterial (39 g pro Topf). Im 23.09.2010 wurden wieder Pflanzen eingesetzt (Aussaat 09.09.2010) und die letzte Probenahme mit je drei Töpfen am 22.12.2010 (Versuchstag 200) durchgeführt.

4.2.2.2 Regenwurm-Fluchtttest

Um akute Effekte von Cry-Proteinen auf Regenwürmer zu untersuchen, wurde angelehnt an die Iso-Norm 17512-2 (ISO 17512-1:2008(E), ISO, 2008) ein Zwei-Kammer-Regenwurmfluchtttest mit *L. terrestris* durchgeführt. Ein Testsystem wird dabei zweigeteilt und je hälftig beispielsweise mit der kontaminierten Boden und einem Vergleichsboden gefüllt. Die Würmer werden mittig in den Versuch eingesetzt und nach der jeweiligen Versuchszeit in beiden Hälften ausgezählt. Als Flucht wird dabei eine Ungleichverteilung zwischen beiden Hälften zugunsten der Kontrolle gewertet.

Tabelle 19: Versuchsansätze im Regenwurmfluchtttest

Behandlung	Konzentration	Versuchsansätze
Cry1A.105	50 ng / g TG Boden	25.-28.06.10
		30.11.-03.12.10
		11.-14.02.11
Cry2Ab2	50 ng / g TG Boden	08.-11.10.10
		30.11.-03.12.10
		11.-14.02.11
Cry3Bb1	50 ng / g TG Boden	25.-28.06.10
		30.11.-03.12.10
		11.-14.02.11
Cry1+2+3	50+50+50 ng / g TG Boden	08.-11.10.10
		26.-29.11.10
MON 89034 x	Blattmaterial frisch 40 g / l TG Boden	26.-29.11.10
MON 88017	Blattmaterial getrocknet 13 g / l TG Boden	26.-29.11.10

Im vorliegenden Versuchsansatz wurde defaunierter Boden vom Versuchsfeld aus Parzelle A4 (keine *Bt*-Parzelle) verwendet. In diesen Untersuchungen wurden alle drei, in MON 89034 x MON 88017 exprimierten Cry-Proteine in ihrer isolierten Form jeweils einzeln und in Kombination getestet. Dazu wurden die, durch den Verbundpartner in Braunschweig nachgewiesenen Bodenkonzentrationen in *Bt*-Parzellen auf der Versuchsfläche von Cry1A.105 und Cry3Bb1 als Richtwert verwendet (Daten nach Dohrmann, A., vTI Braunschweig, persönliche Mitteilung) und 100-fach erhöht in den Versuch eingesetzt. Für Cry2Ab2 wurde eine mehr als 1000-fache Erhöhung eingesetzt. Zusätzlich wurden Testdurchläufe mit 40 g / l frischem (entspricht 13 g luftgetrocknetem Material) und 13 g / l luftgetrocknetem Blattmaterial durchgeführt (Tabelle 19).

Um potentielle Effekte der zur Lösung der Cry-Proteine verwendeten Puffersysteme von den Effekten der Cry-Proteine zu unterscheiden, wurden die Proteinbehandlungen in einem Zwei-Kammer-System jeweils nicht gegen unbehandelten, sondern gegen mit dem jeweiligen Puffer versetzten Boden getestet. Dazu wurden entsprechend Tabelle 20 Puffer hergestellt und in den entsprechenden Mengen zum jeweiligen Kontrollboden zugegeben. Zur Evaluierung des Systems wurde mit Borsäure als Referenzsubstanz in einer Konzentration von 1000 mg/kg Boden gearbeitet.

Tabelle 20: Puffer der verwendeten Cry-Proteine Cry1A.105, Cry2Ab2 und Cry3Bb1

Protein	Quelle	Konzentration	Pufferzusammensetzung
Cry1A.105	Monsanto	1 mg / ml	25 mM CAPS, pH ~ 10,3, 1nM Benzamidine-HCl, 0,1 mM EDTA, 0,2 mM DTT
Cry2Ab2	Monsanto	0,4 mg / ml	50 mM CAPS, pH 11, 2mM DTT
Cry3Bb1	JKI Darmstadt	0,65 mg / ml	50 mM Na ₂ CO ₃ / NAHCO ₃ , pH 10,1

Die Versuchstiere wurden kommerziell bezogen (Greibenstein Angelsport GmbH, 2010; Art.-Nr. 1060). Zur Darmentleerung wurden sie vor Versuchsbeginn 24 h auf feuchter Küchenrolle gehalten. Pro Versuchsansatz wurden zehn Regenwürmer eingesetzt. In Vorbereitung zum Regenwurmfuchttest wurden in 15 Pflanztöpfen (Maße 19 cm x 15 cm, 3 l, Soparco, Condé-sur-Huisne, Frankreich; Art.-Nr. 2445) die Bodenlöcher mit Folie verschlossen und eine Trennwand aus Kunststoff, die die Töpfe in zwei Hälften teilte, eingepasst. Die Hälften wurden eindeutig als Protein- oder Kontrollhälfte markiert. Der Boden wurde luftgetrocknet. Ein Teil des Bodens wurde im Trockenschrank bei 60 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und gesiebt. Da je Hälfte ein Liter Boden eingesetzt werden sollte, wurde das Verhältnis von Gewicht zu Volumen bestimmt (1 l = 1028,6 g TG). Um eine Konzentration von 50 ng / g TG Boden zu erreichen, wurden also 0,05143 mg / l Boden benötigt. Pro Durchgang mit jeweils Wiederholungen wurde insgesamt 0,25715 mg Protein benötigt. Diese Menge wurde der Stammlösung entnommen (257 µg Cry1A.105, 780 µg Cry2Ab2, 400 µl Cry3Bb1) und in je 50 ml Wasser gelöst. Pro Ansatz wurden 102,86 g (entspricht 100 ml) des getrockneten Bodens ausgewogen und in einem Becherglas mit 10 ml der Lösung getränkt. 900 ml des luftgetrockneten Bodens wurden in einem Messbecher abgemessen und mit den getränkten 100 ml in einem 5 l Messbecher sorgfältig von Hand gemischt. Dabei wurde das Becherglas mit Wasser gründlich nachgespült. Das fertige Protein-Erde-Gemisch wurde dann in die markierte Hälfte eines Pflanztopfs eingefüllt. In die andere Hälfte wurde ein Liter Boden eingefüllt, der nach dem oben beschriebenen Schema mit dem reinen Proteinpuffer (Tabelle 20) versetzt wurde. Dabei wurden alle verwendeten Geräte und Behältnisse doppelt bereitgestellt und nach Protein- bzw. Pufferansatz getrennt eingesetzt sowie zwischen den einzelnen Proteinbehandlungen gründlich gespült, um Verschleppungen zu verhindern. Waren beide Topfhälften mit Boden gefüllt, wurden die beiden Hälften in ihrer Feuchtigkeit angepasst, um Effekte aufgrund von Schwankungen zu verhindern. Dabei wurde die Feuchtigkeit so eingestellt, dass die Erde feucht war, aber bei leichtem Druck auf die Erde keine Flüssigkeit überstand. Anschließend wurde die Trennwand entfernt und die je zehn adulten Regenwürmer mittig in den Topf eingesetzt. Zuvor wurden die Töpfe in die Klimakammer verbracht, wo sie dann über die gesamte Testdauer (72 h, 20 °C / 18 °C, 16:8 h L:D) verblieben. Nach dem Einsetzen der Würmer wurden die Gefäße mit Alufolie verschlossen, um ein Entkommen der Würmer zu verhindern. Nach der Testdauer von 72 h wurde die Folie entfernt und die Trennwand

vorsichtig wieder eingeführt. Dabei wurde die Trennlinie zwischen den beiden Hälften mit einem Spatel zunächst vorsichtig vorgeschritten und anschließend die Trennwand eingesteckt. Der Boden der beiden Hälften wurde nach Würmern durchsucht und die Verteilung notiert. Durch die Trennwand oder den Spatel geteilte Würmer wurden beiden Seiten je als 0,5 Wurm zugezählt.

4.2.3 Bestimmung des Gehaltes an Cry-Proteinen

Zur Bestimmung des internen Gehalts der drei verschiedenen Cry-Proteine wurden mit *T. caelestialium* vom Feld und aus den Fraßversuchen ebenso wie mit Lumbriciden vom Versuchsfeld (gefangen am 20.04.2010) ELISA-Untersuchungen durchgeführt. Um die erhaltenen Daten in Relation zu den Gehalten in Pflanzen zu setzen, wurden Extrakte aus verschiedenen Pflanzenteilen des im Gewächshaus aufgezogenen Maises getestet. Auch wurden Zikaden der Art *Zyginidia scutellaris* (40 Tiere) und der Gattung *Empoasca* (7 Tiere) von der Feldfläche (Fang September 2009 in MON-Parzellen), jedoch aufgrund ihres geringen Gewichts nur in Sammelproben, untersucht.

Die erfolgten ELISA-Untersuchungen (enzyme-linked immunosorbent assay) nutzen ein immunologisches Nachweisverfahren, das auf einer enzymatischen Farbreaktion beruht. Mit seiner Hilfe können Proteine, Viren sowie niedermolekulare Verbindungen nachgewiesen werden. Ein spezifischer Antikörper bindet an das nachzuweisende Antigen. Ein Enzym bindet entweder an Antikörper oder Antigen und ermöglicht durch eine Farbreaktion eine qualitative oder quantitative Aussage.

Zur Bestimmung der Cry-Proteine aus MON 89034 x MON 88017 wurden zur qualitativen Analyse des Cry1A.105 der kommerziell erhältliche Cry1Ab-1Ac-Kit verwendet (agdia®, Bezug über Linaris GmbH, 2011a, Katalog-Nr. PSP06200-0096), zur quantitativen Analyse des Cry2Ab2 der kommerziell erhältliche Cry2A-Kit (agdia®, Bezug über Linaris GmbH, 2011b, Katalog-Nr. PSP05801-0096) und des Cry3Bb1 der kommerziell erhältliche Cry3Bb1-Kit (agdia®, Bezug über Linaris GmbH, 2011c, Katalog-Nr. PSP06100-0096). Darüber hinaus wurde eine quantitative Analyse des Cry1A.105 mit Materialien der Firma Monsanto beim Projektpartner in Braunschweig (vTI, Institut für Agrarökologie, Arbeitsgruppe Tebbe) ebenfalls nach dem vorgestellten Prinzip durchgeführt.

Alle verwendeten Kits funktionieren als sogenannter Sandwich-ELISA. Dabei liegt ein für das nachzuweisende Protein spezifischer coating-Antikörper auf einer 96-Well-Platte vor. Um mit den vorliegenden ELISA-Kits quantitativ arbeiten zu können, wurde mit purem Cry2Ab2- und Cry3Bb1-Protein in definierten Konzentrationen eine Verdünnungsreihe als Standard erstellt. Auch auf den Cry1Ab-Ac-Platten wurde zur Kontrolle der Reaktion jeweils eine Verdünnungsreihe von purem Cry1A.105-Protein mitgemessen. Diese wurde bei jedem Messdurchgang, also bei jeder Platte (= 96 Stichproben, Abbildung 27) mit aufgetragen, da Schwankungen zwischen einzelnen Platten zu hoch sind, als dass die Originalmesswerte verschiedener Platten direkt miteinander verglichen werden könnten (Nguyen et al., 2007). Die Verdünnungsreihen enthielten dabei die Konzentrationen 0,00 ng / ml, 0,10 ng / ml, 0,20 ng / ml, 0,40 ng / ml, 0,80 ng / ml, 1,25 ng / ml, 2,50 ng / ml sowie 5,00 ng / ml des reinen Toxins (für Cry2Ab2 verdoppelt). Diese Stufen wurden gewählt, da sie den gesamten empfindlichen Bereich des ELISA-Testkits mit einer optischen Dichte von maximal 1 einschließen.

Vor der Analyse wurden die zu untersuchenden Tiere auf ihr Geschlecht (Insekten) hin untersucht, gewogen, in flüssigem Stickstoff eingefroren und gemörsert. Anschließend wurden sie standardmäßig in 1 ml PBST-Puffer eluiert und durch Schütteln extrahiert. Je nach erwartetem Proteingehalt wurde eine Verdünnungsreihe erstellt (*T. caelestialium*: jeweils eine unverdünnte und eine 1:10 verdünnte Probe; Schultheis, 2008). Alle Verdünnungsstufen wurden bis nach der Auswertung im Kühlschrank aufbewahrt, um je nach Ergebnis weitere Verdünnungen durchführen zu können.

Lumbriciden vom Versuchsfeld wurden vor der Wägung standardmäßig 24 Stunden auf feuchtem Küchenpapier gehalten, um eine Entleerung des Darmtraktes zu gewährleisten. Anschließend wurden

sie gewogen und bei -50 °C bis zur weiteren Untersuchung einzeln eingefroren. Zur Extraktion wurden gemäß dem Standardprotokoll die Tiere in flüssigem Stickstoff eingefroren und mit einer Pistille gemörsert. Anschließend wurde Puffer (Menge in Abhängigkeit vom Gewicht der Würmer 1-5 ml) zugegeben und fünf Minuten in einem Zentrifugenröhrchen (15 ml, Labomedic GmbH, Bonn, Art.-Nr. 1110502) zur Extraktion geschüttelt. Nach einer Zentrifugation bei 10.000 U / min für zwei Minuten der Überstand zur Messung entnommen.

Nun wurden die Proben, ihre jeweiligen Verdünnungen sowie die Standards entsprechend des vorher festgelegten Pipettierschemas in je zwei Replikaten von je 100 µl auf die Platte gegeben, auf der bereits der Detection-Antikörper mit der Meerrettichperoxidase vorgelegt wurde. Anschließend wurde für 2 h bei Raumtemperatur in einer dichten Dose mit feuchtem Küchenpapier inkubiert. Während dieser Zeit bildete sich der Komplex aus coating-Antikörper, Antigen und detection-Antikörper, auf den der Name Sandwich-ELISA zurückgeht. Nach Ende der Inkubationszeit wurde gründlich mit PBST-Puffer gewaschen, um alles nicht gebundene Protein und Antikörper zu entfernen.

Nun wurde ein Substrat für das gebundene Enzym HRP, in den vorliegenden Kits 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB) zugegeben. Dabei handelt es sich um einen Farbstoffbildner (Chromogen), der bei Umsetzung durch das Enzym HRP einen blauen Farbstoff bildet. Nach einer Einwirkzeit von 20 Minuten im Dunkeln wurde je Well ein Tropfen „stop solution“ (3 M H₂SO₄) zugegeben und die nun gelbe Farbreaktion bei 450 nm im ELISA Plate Reader (MRX, Dynex Technologies GmbH, Berlin, Deutschland) gemessen.

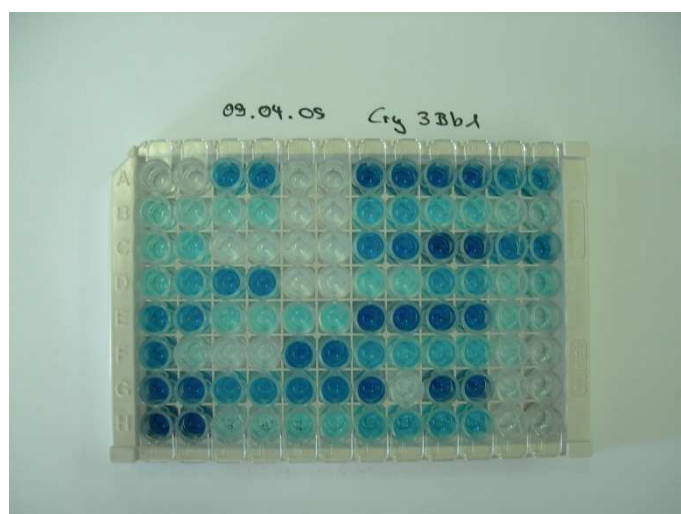


Abbildung 27: ELISA-Farbreaktion (vor Zugabe der „stop solution“, Platte zur Messung von Cry3Bb1 am 09.04.09)

Möglich wäre auch eine Messung bei 630 nm ohne „stop solution“. Beide Messtechniken sind nach Herstellerangaben gleichwertig. Lediglich im Fall von Cry2Ab konnte den Herstellerangaben nach nur bei 650 nm gemessen werden. Aufgrund der vorhandenen technischer Möglichkeiten wurde hier ersatzweise bei 630 nm gemessen. Nach der Messung im Plate-Reader konnten die Messwerte in MS Excel anhand der mitgemessenen Standardkurve eingeordnet und auf den Gehalt pro Tier oder Gramm umgerechnet werden. Um eine realistische Abschätzung treffen zu können, muss dabei die Empfindlichkeit des ELISA-Testkits berücksichtigt werden. Um eine quantitative Aussage machen zu können, darf eine optische Dichte von 1 nicht überschritten werden. Liegt die optische Dichte darüber, ist lediglich eine qualitative Aussage möglich. Bei Material unbekannter Konzentration muss daher eventuell nachverdünnt werden, um aussagekräftige Werte zu erreichen. Auch Proben mit geringen Konzentrationen können wenig aussagekräftige Messung bedingen, da immer ein Grundrauschen vorliegt und diese geringe Konzentrationen überdecken oder vorgaukeln kann. Daher ist das Mitmessen von Nullkontrollen und eventuell eine Extraktion der Testorganismen in weniger Puffer nötig, um die Konzentration zu erhöhen. Dies muss in der späteren Auswertung berücksichtigt werden.

4.2.4 Statistische Auswertung der Laborversuche

4.2.4.1 Modellorganismus *T. caelestialium*

4.2.4.1.1 Fraßversuche

Zunächst wurde die Proteinmenge der einzelnen Individuen, wie folgend in 4.2.4.1.2 „statistische Auswertung ELISA“ beschrieben, ausgewertet. Anschließend wurden die erhaltenen Mengen mit den verschiedenen Behandlungen in Beziehung gesetzt und grafisch als Balkendiagramm in MS Excel dargestellt.

4.2.4.1.2 Fraßmengenbestimmung

Die aufgenommenen Bilder wurden am PC in der Freeware ImageJ (ImageJ, 2010) skaliert und ausgeschnitten (Abbildung 28 b). Die Blattfläche wurde errechnet und die gut sichtbaren Fraßspuren markiert (Abbildung 28 c). Dazu wurde MS Paint genutzt, nachdem sich eine Umfärbung in ImageJ als zu subjektiv erwies. Der Flächenanteil der gesetzten Markierungen wurde wiederum in ImageJ bestimmt (Abbildung 28 d).

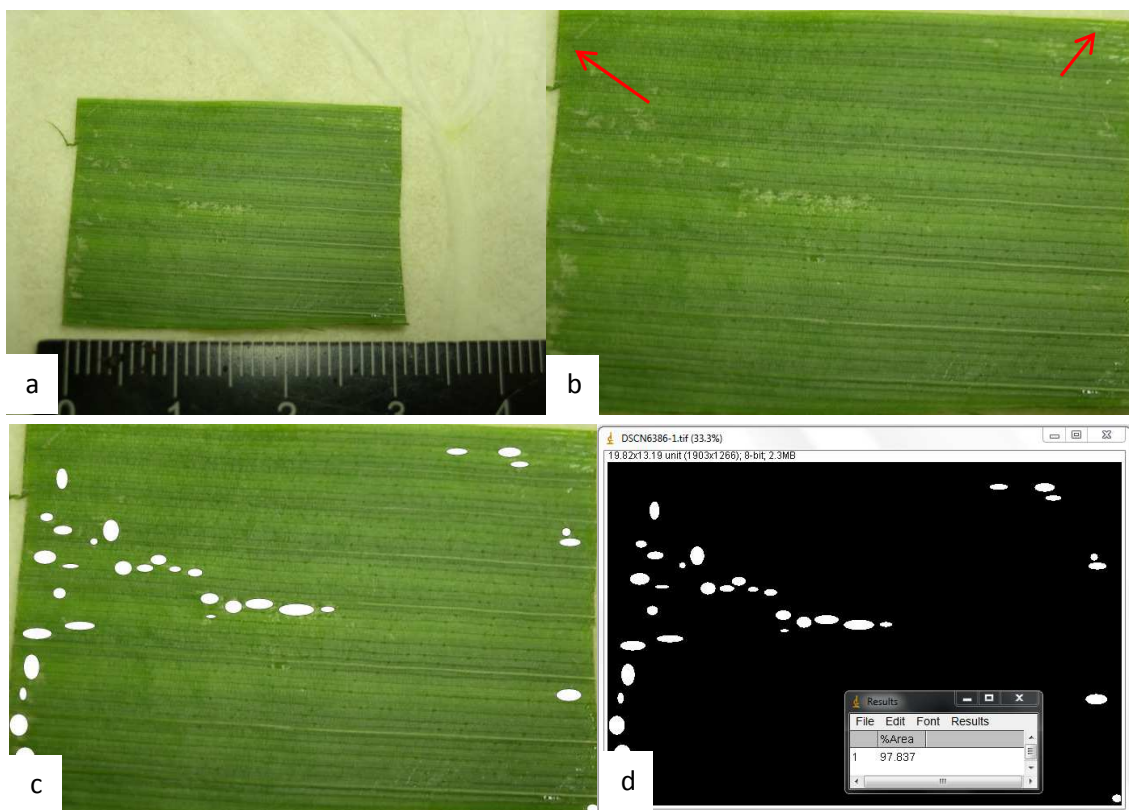


Abbildung 28: Fraßmengenbestimmung: a - Originalbild mit Skalierung, b - ausgeschnittenes Bild, c - markierte Fraßspuren, d - umgefärbte Flächen mit Bestimmung der schwarzen Fläche (hier 97,837 %)

Eventuelle Randflächen, die dadurch bedingt wurden, dass die ausgeschnittenen Blattstücke nicht exakt rechteckig waren, wurden dabei gesondert behandelt und von der Gesamtfläche abgezogen (Abbildung 28 b: Pfeil). Anschließend wurde die gefressene Fläche, die als prozentualer Anteil bestimmt wurde, mit Hilfe der korrigierten Gesamtfläche in mm^2 umgerechnet und in dem

Statistikprogramm R statistisch auf Unterschiede zwischen den Sorten hin ausgewertet. Um die Objektivität der Markierung der Fraßflächen zu erhöhen, wurde das gesamte Prozedere durch zwei Personen unabhängig voneinander durchgeführt und mit dem Mittelwert der erhaltenen Flächenanteile weitergearbeitet. Da die Daten sich nach einem Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung als teilweise nicht normalverteilt erwiesen, wurde ein Kruskal-Wallis-Test (Varianzanalyse) durchgeführt, um statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ausmachen zu können.

4.2.4.1.3 Full life cycle test

Die erhaltenen Daten wurden in R statistisch ausgewertet. Um die durchschnittliche Eianzahl je eingesetztem *T. caelestialium*-Weibchen und Tag in F_1 und F_2 bestimmen zu können, wurde neben der Gesamtzahl an Eiern die Anzahl der Weibchen je Ansatz und die Tag ermittelt. Da sich auch diese Daten als nicht normalverteilt erwiesen, wurde auch hier eine Varianzanalyse mit dem Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Die Zeit zwischen der Eiablage und dem Schlupf in F_2 wurde als Kaplan-Meier-Schätzer dargestellt und mit einem Log-Rank-Test auf statistisch signifikante Unterschiede getestet. Weiterhin wurde die Schlupfrate in F_2 bestimmt und mit einem Kruskal-Wallis-Test auf signifikante Unterschiede überprüft. Dabei wurde eine Analyse mit und ohne Eier in Diapause durchgeführt, während stark verschimmelte Gelege in jedem Fall aus der Analyse herausgenommen wurden, da dort frisch geschlüpfte Wanzen im Myzel verstarben und nicht gezählt werden konnten. Falls sich signifikante Effekte im Kruskal-Wallis-Test ergaben, wurden diese im paarweisen Vergleich mit einem Wilcoxon-Rangsummen-Test genauer analysiert. Die Entwicklungsdauer vom Schlupf bis zum Adulten in F_1 und F_2 wurde ebenfalls als Kaplan-Meier-Schätzer dargestellt und mit einem log-rank-Test auf Signifikanzen überprüft.

4.2.4.1.4 Bioassay mit *Ostrinia nubilalis*

Anhand des Anteils der im Test verstorbenen Zünslerlarven wurden im Statistikprogramm R zur Auswertung der Bioassays eine Probitanalyse durchgeführt. So konnte für Cry1A.105 und Cry2Ab2 ein LC_{50} berechnet werden. Die Ergebnisse der Wanzenextrakte wurden entsprechend eingeordnet.

4.2.4.2 Modellorganismus *L. terrestris*

4.2.4.2.1 Dauerversuche

In den Regenwurmdauerversuchen wurde zunächst die Wiederfangrate als Quotient der wiedergefundenen Würmer und der eingesetzten Würmer gebildet. Aufgrund der niedrigen Wiederfangquote erfolgte keine weitere statistische Auswertung.

4.2.4.2.2 Regenwurmfluchttest

Die erhaltenen Verteilungen zwischen den Behandlungen wurden entsprechend der ISO-Norm auf Validität überprüft (max. 10 % aller Würmer waren tot oder verschollen) und die validen Wiederholungen statistisch in R ausgewertet. Dazu wurden zunächst die Mittelwerte und Standardabweichungen je Ansatz bestimmt und grafisch dargestellt (MS Excel). Anschließend wurde mit den Mittelwerten der Fischer-Exakt-Test durchgeführt, um statistisch signifikante Unterschiede zur vorher formulierten Erwartung (Verteilung in Proteinbehandlung und Kontrolle je 50 %) festzustellen. Mit den absoluten Zahlen aller Wiederholungen eines Ansatzes wurde anschließend ebenfalls im Vergleich mit der Erwartung ein Chi-Quadrat-Test durchgeführt.

4.2.4.3 statistische Auswertung der Ergebnisse aus dem ELISA

Die bestimmten optischen Dichten als Maß für die Proteinmenge wurden in MS Excel anhand der Konzentrationsreihen in absolute Proteinmengen in Lösung und anschließend in die absolute Menge pro Tier umgerechnet. Eine Darstellung erfolgte als Balkendiagramm in MS Excel oder Sigma Plot.

5. Ergebnisse

Die im Feld und Labor erhobenen Daten wurden wie im Materialteil beschreiben grafisch dargestellt und statistisch ausgewertet. Sie sollen im Folgenden geordnet nach taxonomischen Gruppen, unabhängig von der Probenahmetechnik dargestellt werden.

5.1 Arthropoden

5.1.1 Thysanoptera

Die Gemeinschaft der Fransenflügler wurde in den männlichen Blütenständen beprobt. Dabei wurden vor allem Vertreter aus drei Familien identifiziert (vgl. Tabelle 21), die alle für Mais beschrieben sind.

Tabelle 21: Systematische Übersicht über die Thripszönose der männlichen Blütenstände (dominierende Taxa sind hervorgehoben)

Thysanoptera	Aeolothripidae		<i>Aeolothrips spec.</i> <i>Ripidothrips gratusus</i>
	Phlaeothripidae	Idolothripinae Phlaeothripinae	
	Thripidae	Thripinae	<i>Chirothrips spec.</i> <i>Limothrips spec.</i> <i>Frankliniella tenuicornis</i>

Da aus technischen Gründen nicht alle Organismen auf Artniveau bestimmt werden konnten, fand die Auswertung auf Familienniveau statt. Die Besiedelung der männlichen Blütenstände wurde durch die Beprobung von 25 Pflanzen pro Parzelle zur Vollblüte bestimmt.

Tabelle 22: Übersicht über die in den Klopffproben ermittelten Abundanzen der vorherrschenden Thripsfamilien in den männlichen Maisblüten (Mittelwerte (MW) mit Standardabweichungen (SD) gemittelt pro Parzelle, aufaddiert aus je 5 Proben à 5 Pflanzen, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)

Familie	Jahr	Probenahme	Maissorte bzw. -behandlung			
			Benicia	DKC 4250	DKC 5143	DKC 5143-Bt
Thripidae	2008	30.07.	27,88 ± 16,63	17,75 ± 9,45	X	X
		05.08.	X	X	4,25 ± 2,55	3,13 ± 2,70
	2009	07.08.	9,75 ± 2,49	X	X	X
		09.08.	18,13 ± 8,22	13,25 ± 4,53	X	X
		18.08.	37,13 ± 19,84	44,75 ± 26,43	27,88 ± 14,37	32,13 ± 15,18
		05.08.	25,75 ± 17,64	X	X	X
	2010	10.08.	19,25 ± 5,65	26,25 ± 11,84	15,60 ± 7,75	27,63 ± 12,73
						X
Phlaeothripidae	2008	30.07.	16,88 ± 9,76	8,13 ± 4,94	X	X
		05.08.	X	X	3,25 ± 3,49	2,13 ± 1,55
	2009	07.08.	1,50 ± 1,51	X	X	X
		09.08.	4,88 ± 2,75	2,75 ± 0,89	X	X
		18.08.	1,38 ± 1,41	18,50 ± 10,95	3,13 ± 2,70	2,00 ± 1,20
		05.08.	1,00 ± 1,60	X	X	X
	2010	10.08.	2,38 ± 2,56	2,13 ± 1,26	2,05 ± 0,64	2,25 ± 1,91
						X
Aeolothripidae	2008	30.07.	1,25 ± 1,39	1,88 ± 1,25	X	X
		05.08.	X	X	0,38 ± 0,74	0,00 ± 0,00
	2009	07.08.	10,38 ± 4,90	X	X	X
		09.08.	3,88 ± 0,83	4,88 ± 3,98	X	X
		18.08.	0,75 ± 1,04	1,38 ± 2,39	0,88 ± 0,83	1,38 ± 2,00
		05.08.	7,00 ± 4,54	X	X	X
	2010	10.08.	2,63 ± 2,33	5,00 ± 2,51	2,89 ± 1,20	4,38 ± 3,50
						X

Die Mittelwerte pro Parzelle sind mit den jeweiligen Standardabweichungen für die Familien der Thripidae, der Phlaeothripidae und der Aeolothripidae in Tabelle 22 dargestellt. Dabei wurden resultierend aus der Verteilung für 2008 mit hohen mittlere Abundanzen in der frühblühenden Sorten Benicia und DKC 4250 und den weit geringeren mittleren Abundanzen für die später blühenden Sorten in den weiteren Versuchsjahren nicht nur zur jeweiligen Vollblüte beprobt, sondern die Beprobung an den späteren Probenahmezeitpunkten jeweils wiederholt.

Die herausragenden Sammelzeitpunkte mit Sortenunterschieden sind anschließend grafisch dargestellt. In Abbildung 28 zeigt sich für die Familie der Thripidae für die Probenahme 2008 der bereits angesprochene statistisch signifikante Unterschied zwischen den früh- und spätblühenden Sorten. Die Signifikanz kann dabei aus der grafischen Darstellung des Konfidenzintervalls abgelesen werden, da in den Vergleichen der Sorten Benicia und DKC 4250 mit allen anderen Behandlungen die 1 als gleiche Verteilung im Verhältnis der mittleren Abundanzen nicht im Intervall enthalten ist.

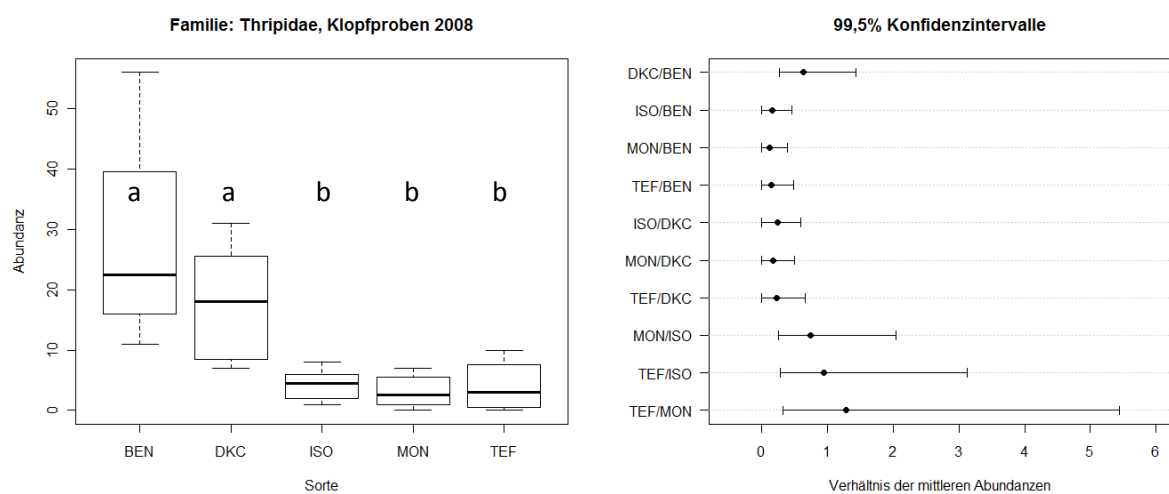


Abbildung 29: Darstellung der Familie der Thripidae 2008 (links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen in den männlichen Blütenständen, Beprobung von jeweils 25 Pflanzen; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden)

Um ein klareres Bild der Populationsbewegung zu bekommen, wurden in 2009 und 2010 weitere Probenahmen der frühblühenden Sorten jeweils zu den Probenahmezeitpunkten der Spätblüher durchgeführt. Die Entwicklung der wichtigsten Familien über die Blühperiode ist in Abbildung 30 für 2009 und Abbildung 31 für 2010 aufgetragen. Dabei zeigt sich 2009 für die dominante Familie der Thripidae zwar eine Zunahme über die Blüte, letztlich aber bei der Beprobung zur Vollblüte der Spätblüher aber ein ähnliches Niveau wie in der anderen Sorten.

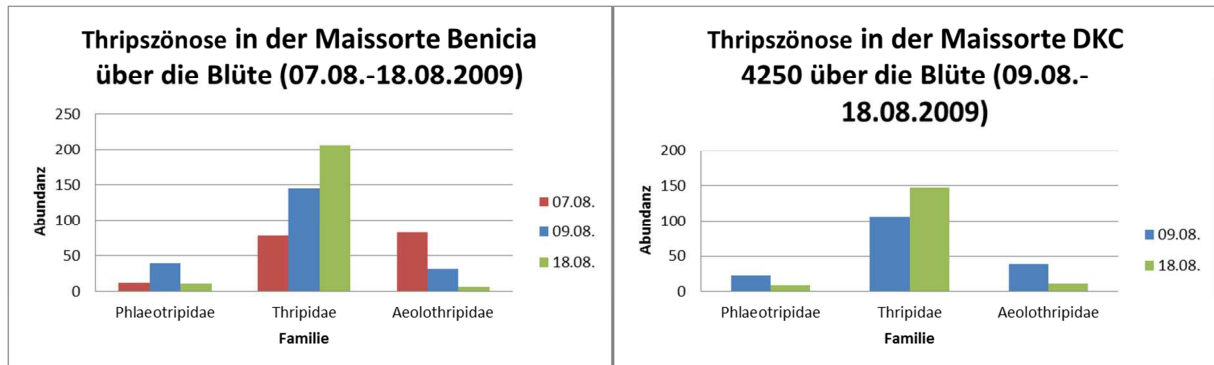


Abbildung 30: Darstellung der Zusammensetzung der Thripszönose über die Blüte 2009 in absoluten Fangzahlen auf Familienniveau (Beprobung aller acht Parzellen mit je 25 männlichen Blütenständen; links: in der Sorte Benicia mit drei Probenahmezeitpunkten; rechts: in der Sorte DKC 4250 mit zwei Probenahmezeitpunkten)

Für die Familie der Aeolothripidae zeigt sich konstant über beide Jahre ein absteigender Trend während der Blüte, ebenso für die Thripidae in 2010.

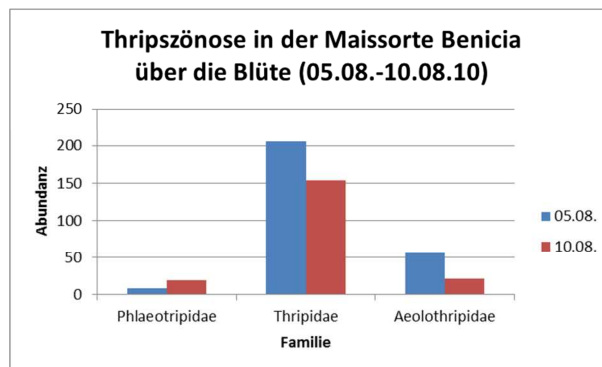


Abbildung 31: Darstellung der Zusammensetzung der Thripszönose über die Blüte 2010 in der Sorte Benicia mit zwei Probenahmezeitpunkten in absoluten Fangzahlen auf Familienniveau (Beprobung aller acht Parzellen mit je 25 männlichen Blütenständen)

Für keine Familie können bei der Auftragung der parallel erhobenen Abundanzen statistisch signifikante Unterschiede festgestellt werden. Beispielhaft ist in Abbildung 32 die Unterfamilie der Thripinae für die Jahre 2009 und 2010 dargestellt. Hier wurde das 99,5 %-Konfidenzintervall bzw. das 99,167 %-Konfidenzintervall bestimmt. Ein statistisch signifikanter Unterschied kann nicht identifiziert werden. In 2010 wurde auf eine Beprobung der Insektizidvariante verzichtet, da in den Vorjahren kein Insektizideffekt gezeigt werden konnte und aufgrund des wechselhaften Wetters eine rasche Probenahme angeraten war, um vergleichbare Bedingungen bei der Beprobung des gesamten Feldes zu schaffen.

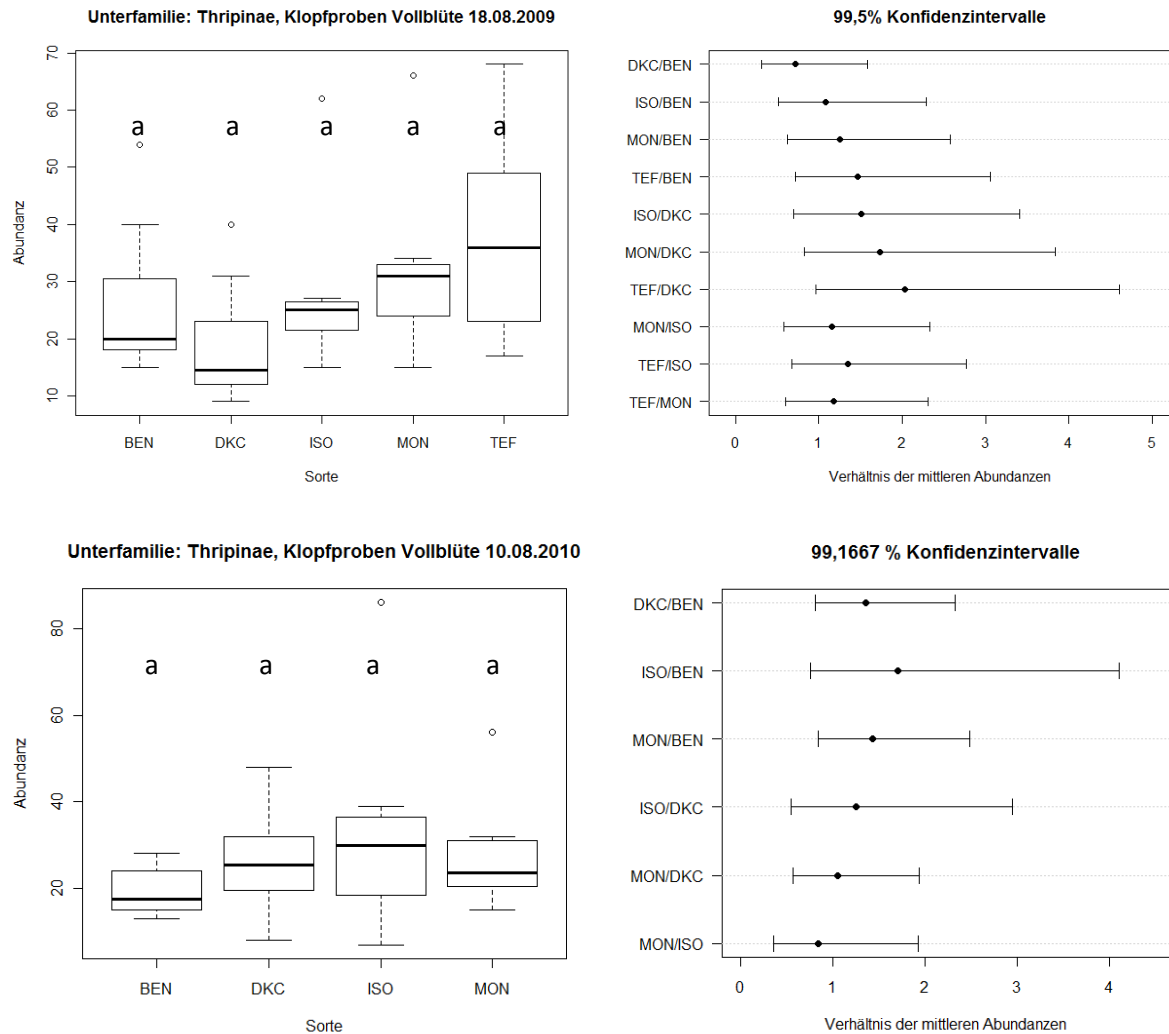


Abbildung 32: Darstellung der Unterfamilie der Thripinae 2009 (oben) und 2010 (unten) (links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen in den männlichen Blütenständen, Beprobung von jeweils 25 Pflanzen; rechts: zugehörige 99,5 % bzw. 99,167 % - Konfidenzintervalle, Beprobung der Insektizidbehandlung entfiel 2010, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden)

5.1.2 Coleoptera

In den drei Versuchsjahren 2008 bis 2010 wurden auch Käfer der Krautschicht und der männlichen Blütenstände untersucht. Dabei traten vor allem Marienkäfer auf, die wichtigsten Arten waren der eingewanderte Asiatische Marienkäfer (*Harmonia axyridis*) und der einheimische Schachbrettmarienkäfer (*Propylea quattuordecimpunctata*). Auch der Siebenpunktmarienkäfer (*Coccinella septempunctata*) kam vor, ebenso in Einzelfängen der Zweipunktmarienkäfer (*Adalia bipunctata*). Aus der Familie der Blattkäfer kamen vereinzelt das blaue Getreidehähnchen (*Oulema lichenis*) und häufiger das rothalsige Getreidehähnchen (*Oulema melanopa*) vor. Diese sowie weitere in Einzelfängen vorkommende Arten der Marienkäfer sind als systematische Übersicht in Tabelle 23 dargestellt.

Tabelle 23: Systematische Übersicht über die erhobene Käferzönose (dominierende Taxa sind hervorgehoben)

Coleoptera	Coccinellidae	<i>Adalia bipunctata</i>
		<i>Adalia decempunctata</i>
		<i>Coccinella septempunctata</i>
		<i>Harmonia axyridis</i>
		<i>Propylea quattuordecimpunctata</i>
		<i>Halyzia sedecimguttata</i>
		<i>Tytthaspis sedecimpunctata</i>
	Chrysomelidae	<i>Calvia decemguttata</i>
		u.a. <i>Oulema melanopa</i>
		<i>Oulema lichenis</i>

In der Familie der Blattkäfer wurden lediglich die Getreidehähnchen bis zur Art bestimmt. Sie kamen sowohl in den Kescherproben als auch auf den Klebtafeln vor. Ihre Abundanzen lagen jedoch deutlich unter statistisch auswertbaren Zahlen, ihr Vorkommen war dabei gleichmäßig verteilt. Auf eine Darstellung des Datensatzes wird an dieser Stelle verzichtet. Die Marienkäfer konnten mit allen verwendeten Methoden in ihrer Abundanz beprobt werden. Leider lagen die auf Artniveau bestimmten Häufigkeiten sehr niedrig, so dass eine statistische Auswertung nur zu wenigen Zeitpunkten und für einige Arten möglich war. Werden die Marienkäfer als Familie betrachtet, konnte ebenfalls nicht zu allen Zeitpunkten eine statistische Analyse durchgeführt werden. Wenn eine Analyse durchgeführt werden konnte, zeigte sich teilweise ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Sorte Benicia und allen oder einigen Vergleichssorten, wie stellvertretend in Abbildung 33 für die Klebtafel 30.07.-06.08.2009 dargestellt. Es zeigen sich in der Sorte Benicia sehr wenige bis keine Organismen, was sich in Konfidenzintervallen niederschlägt, die im Falle aller Vergleiche die 1, also die mögliche Identität der verglichenen Sorten, deutlich ausschließen. Weitere statistisch signifikante Unterschiede sind in Tabelle 24 dargestellt. Insgesamt sind die Fangzahlen jedoch in allen Varietäten sehr niedrig, obwohl im Jahr 2009 visuell im Feld sehr große Abundanzen festgestellt werden konnten. Um größere Fallzahlen zu erhalten, wurden im Jahr 2010 handelsübliche Gelbtafeln für vier Wochen im Feld platziert. Diese Daten werden hier jedoch nicht dargestellt, da sie im Fangerfolg noch weit unterhalb der anderen Methoden lagen.

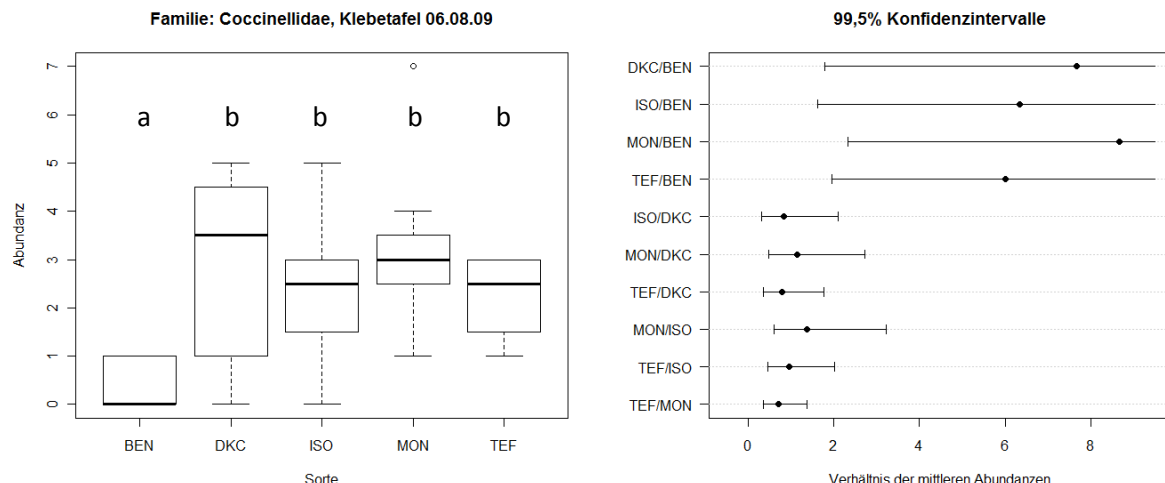


Abbildung 33: Grafische Darstellung der Familie der Coccinellidae 2009 (links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen auf Klebtafeln, Beprobung in der Woche vom 31.07.-06.08.2009; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden)

Tabelle 24: Übersicht über statistisch signifikante nachweisbare Unterschiede für die Familie der Marienkäfer (Nachweis über Konfidenzintervalle, die geringere Abundanz zeigt sich in der jeweils erstgenannten Maissorte: BEN – Benicia, DKC – DKC 4250, ISO – DKC 5143, MON – DKC 5143-Bt, TEF – Insektizidbehandlung)

Jahr	Methode	Termin	Sorten
2008	Kescher	17.07.	DKC / TEF
2009	Klebetafel	23.07.-23.07. 30.07.-06.08.	BEN / MON BEN / MON, ISO, DKC, TEF
2010	Kescher	25.07.	BEN, ISO / TEF
	Klebetafel	14.07.-21.07. 22.07.-29.07.	BEN / MON, ISO, DKC, TEF BEN / DKC

Um eine Betrachtung der Marienkäfer auf Artniveau zu ermöglichen, werden in den nachfolgenden Tabellen die absoluten Fangzahlen der Arten *Adalia bipunctata* (Tabelle 25), *Coccinella septempunctata* (Tabelle 26), *Harmonia axyridis* (Tabelle 27) und *Propylea quatuordecimpunctata* (Tabelle 28) präsentiert.

Tabelle 25: Übersicht über die ermittelten Abundanzen des Zweipunktmarientkäfers *Adalia bipunctata* über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD gemittelt aus je acht Parzellen pro Sorte, Klopfproben aufaddiert aus je 5 Proben à 5 Pflanzen je Parzelle, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)

Art	Jahr	Methode	Datum	Maissorte bzw. -behandlung				
				Benicia	DKC 4250	DKC 5143	DKC 5143-Bt	Insektizid
<i>Adalia bipunctata</i>	2008	Klopfen	30.07.	0,13 ± 0,35	0 ± 0	X	X	X
			05.08.	X	X	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
		Kescher	17.07.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35
			18.08.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			xx.09.	X	X	X	X	X
			07.08.	0 ± 0	X	X	X	X
	2009	Klopfen	09.08.	0 ± 0	0 ± 0	X	X	X
			18.08.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0
			21.07.	0,13 ± 0,35	0,38 ± 0,74	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,46	0 ± 0
		Kescher	18.08.	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			14.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			10.09.					
	2010	Klopfen	05.08.	0 ± 0	X	X	X	X
			10.08.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
		Kescher	25.07.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			xx.08.	X	X	X	X	X
			21.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Dabei zeigt sich, dass der Zweipunktmarientkäfer nur in sehr niedrigen Abundanzen vereinzelt auftritt und nur zu Anfang der Probenahmesaison überhaupt nachgewiesen werden kann (Tabelle 25). Ein Mittelwert von 0,13 Tieren mit einer Standardabweichung von 0,35 Tieren entspricht dabei einem einzelnen Fang in allen acht Parzellen einer Sorte. Auf den Klebetafeln konnte in drei Jahren in keinem Fall *Adalia bipunctata* gefangen werden. Eine statistische Auswertung war aufgrund der geringen Fangzahlen für keinen Zeitpunkt möglich. Der Siebenpunktmarientkäfer (Tabelle 26) konnte in keinem Fall durch Klopfproben in den männlichen Blütenständen nachgewiesen werden. 2008 trat er in Einzelfängen, doch gleichmäßig verteilt in allen Sorten bis Anfang August auf und konnte mit dem Kescher und auf den Klebetafeln in geringen Abundanzen gezeigt werden. 2009 konnten die Siebenpunktmarientkäfer bis in den Spätsommer hinein auf der Feldfläche gefunden werden. Vor allem zu Beginn der Beprobungsperiode im Juli konnten stark erhöhte Abundanzen bis zu durchschnittlich vier Tieren pro Parzelle gefunden werden, die dann jedoch wieder rasch absanken. Auch im dritten Versuchsjahr traten die Siebenpunktmarientkäfer kontinuierlich über auf die gesamte Feldfläche auf. In diesem Jahr konnten sie bis spät in den September hinein gefunden werden.

Statistische Untersuchungen hinsichtlich eines Unterschiedes in der Verteilung zwischen den Sorten konnten aufgrund der geringen Fangzahlen nur für die Termine der ersten Probenahme mit dem Kescher und der ersten Klebetafeln 2009 durchgeführt werden. Hier ergaben sich durch die erstellten Konfidenzintervalle keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Der invasive asiatische Marienkäfer wurde ebenfalls auf der Versuchsfläche stetig gefunden. Er wurde mit allen eingesetzten Methoden in allen drei Jahren bis in den August hinein in mittleren Abundanzen gefunden (Tabelle 27). Hier konnte lediglich für den Klebtafeltermin 06.08.-13.08.2009 eine statistische Analyse durchgeführt werden, bei der sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Abundanzen in Benicia und der gentechnisch veränderten Variante zeigte, wobei die Fangzahlen in Benicia signifikant niedriger lagen. Alle anderen Behandlungen gruppierten sich zwischen diesen beiden.

Tabelle 26: Übersicht über die ermittelten Abundanzen des Siebenpunktmarientkäfers *Coccinella septempunctata* über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD gemittelt aus je acht Parzellen pro Sorte, Klopfproben aufaddiert aus je 5 Proben à 5 Pflanzen je Parzelle, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebtafelproben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)

Art	Jahr	Methode	Datum	Maissorte bzw. -behandlung					
				Benicia	DKC 4250	DKC 5143	DKC 5143- <i>Bt</i>	Insektizid	
<i>Coccinella septempunctata</i>	2008	Kescher	17.07.	0,75 ± 1,75	0,38 ± 0,52	0,38 ± 0,52	0,25 ± 0,46	1 ± 0,76	
			18.08.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,25 ± 0,46		
			xx.09.	X	X	X	X		
		Klebe- tafel	24.07. 7 d	0 ± 0	0,38 ± 0,52	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35	
			30.07. 6 d	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	
			05.08. 5 d	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35	
			13.08. 8 d	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
			27.08. 8 d	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
			03.09. 5 d	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
		Kescher	21.07.	3,75 ± 1,39	2,00 ± 1,41	1,88 ± 1,89	1,63 ± 1,68	2,13 ± 1,46	
			18.08.	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,13 ± 0,35	
			14.09.	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	
	2009		Klebe- tafel	23.07.	0,63 ± 0,740	0,88 ± 1,72	0,75 ± 0,71	1,25 ± 1,04	1,50 ± 0,93
				30.07.	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,46	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,38 ± 0,52
				06.08.	0 ± 0	0,38 ± 0,74	0,25 ± 0,46	0,38 ± 0,52	0,13 ± 0,35
		13.08.		0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,46	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0 ± 0	
		20.08.		0 ± 0	0 ± 0	0,25 ± 0,46	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	
		27.08.		0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
		03.09.		0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
		10.09.		0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
	2010	Kescher	25.07.	0,25 ± 0,46	0,75 ± 0,71	0,13 ± 0,35	0,38 ± 0,74	0,38 ± 0,52	
			xx.08.	X	X	X	X	X	
			21.09.	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,46	0 ± 0	0 ± 0	
		Klebe- tafel	21.07.	0,63 ± 0,92	0,38 ± 0,74	0,38 ± 0,52	0,75 ± 1,00	0,76 ± 0,93	
			29.07.	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,71	
			05.08.	X	X	X	X	X	
			12.08.	0,25 ± 0,71	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	
			19.08.	0 ± 0	0,25 ± 0,71	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,46	
			26.08.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0	
			02.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0	
			09.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	
			16.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	

Betrachtet man die Larven des *Harmonia axyridis* als einziger sicher bestimmten Art, zeigen sich lediglich zu ersten Keschertermin 2009 interessante Abundanzen mit einem signifikanten Unterschied zwischen Benicia und DKC 4250 bzw. der Insektizidbehandlung. Im Gegensatz zu den adulten Tieren, die in Benicia stets geringer vertreten sind, ist hier das Vorkommen in dieser Sorte erhöht (statistisch signifikanter Unterschied zwischen BEN / DKC 4250, Abbildung 34).

Tabelle 27: Übersicht über die ermittelten Abundanzen des asiatischen Marienkäfers *Harmonia axyridis* über die 2008-2010 (MW mit SD aus je acht Parzellen pro Sorte, Klopffproben aufaddiert aus je 5 Proben à 5 Pflanzen je Parzelle, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebetafelproben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)

Art	Jahr	Methode	Datum	Maissorte bzw. -behandlung				
				Benicia	DKC 4250	DKC 5143	DKC 5143-Bt	Insektizid
<i>Harmonia axyridis</i>	2008	Klopfen	30.07.	2,13 ± 1,89	0,75 ± 0,89	X	X	X
			05.08.	X	X	0,63 ± 0,92	0,25 ± 0,46	0,13 ± 0,35
		Kescher	17.07.	0,50 ± 0,76	0,38 ± 0,52	0,75 ± 0,46	0,38 ± 0,52	0,88 ± 0,64
			18.08.	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	0,50 ± 0,53	0,13 ± 0,35
			xx.09.	X	X	X	X	X
		Klebe- tafel	24.07. 7 d	0 ± 0	0,25 ± 0,46	0,25 ± 0,46	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35
			30.07. 6 d	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,71	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0,5 ± 0,76
			05.08. 5 d	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35
			13.08. 8 d	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0
			27.08. 8 d	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			03.09. 5 d	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	2009	Klopfen	07.08.	1,75 ± 0,89	X	X	X	X
			09.08.	1,13 ± 0,99	3,50 ± 2,27	X	X	X
			18.08.	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,46	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35
		Kescher	21.07.	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,46	0,25 ± 0,46	0,50 ± 0,76	0,25 ± 0,46
			18.08.	0,50 ± 0,53	0,38 ± 0,52	0,25 ± 0,71	0,38 ± 0,74	0,25 ± 0,46
			14.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0
		Klebe- tafel	23.07.	0,38 ± 0,74	0,13 ± 0,35	0,50 ± 0,76	0,75 ± 1,39	0,38 ± 0,52
			30.07.	0 ± 0	0,63 ± 0,74	0,50 ± 0,76	0,63 ± 0,74	0,25 ± 0,71
			06.08.	0,25 ± 0,46	0,88 ± 0,99	0,63 ± 0,74	1,50 ± 1,93	0,63 ± 0,74
			13.08.	0,25 ± 0,71	1,63 ± 1,19	0,75 ± 1,16	2,00 ± 1,51	0,63 ± 0,74
			20.08.	0 ± 0	0,63 ± 0,74	0,25 ± 0,46	0,75 ± 0,89	0,50 ± 0,93
			27.08.	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,25 ± 0,46
			03.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			10.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	2010	Klopfen	05.08.	0 ± 0	X	X	X	X
			10.08.	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0 ± 0	X
		Kescher	25.07.	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,38 ± 0,52	0,75 ± 0,89
			xx.08.	X	X	X	X	X
			21.09.	0,13 ± 0,35	0,38 ± 0,74	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,38 ± 0,74
			21.07.	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,38 ± 0,74	0,13 ± 0,25	0,46 ± 0,52
		Klebe- tafel	29.07.	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0,38 ± 0,74	0 ± 0
			05.08.	X	X	X	X	X
			12.08.	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,13 ± 0,35
			19.08.	0,38 ± 0,74	0,38 ± 0,74	0,25 ± 0,46	0,38 ± 0,74	0,13 ± 0,35
			ab 26.08.	keine Fänge				

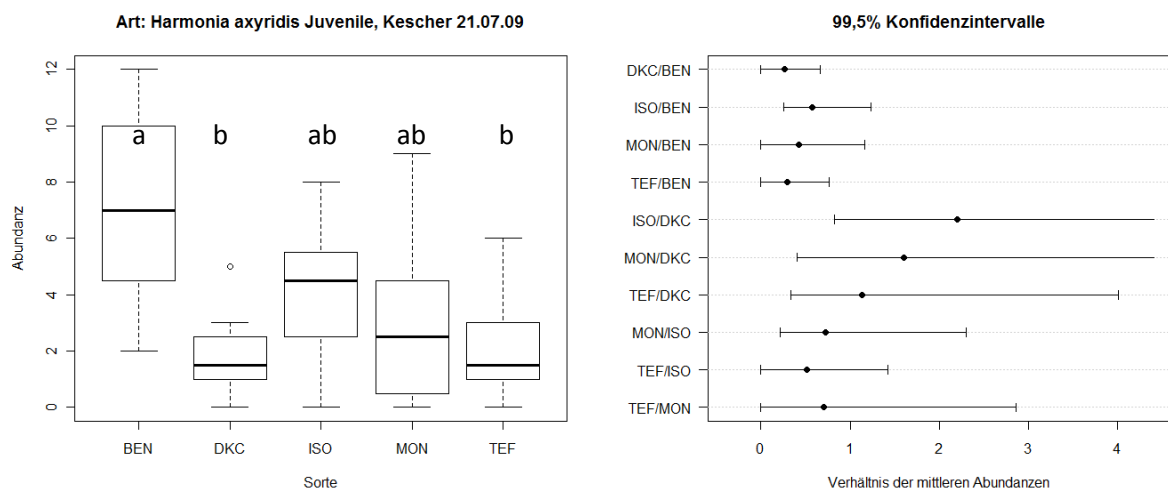


Abbildung 34: Darstellung der Larven von *Harmonia axyridis* 2009 (links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Kescher, Beprobung am 21.07.2009; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden)

Als häufigste Art zeigte sich auf dem Versuchsfeld der Schachbrettmarienkäfer *Propylea quattuordecimpunctata*, der mit allen eingesetzten Methoden in der Krautschicht und den Blütenständen nachgewiesen werden konnte. Er trat in 2008 bis Anfang August und 2009 sowie 2010 bis in den September hinein häufig auf.

In 2009 konnte für die dritte Klebetafelprobenahme ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Sorte Benicia und allen anderen Behandlungen ausgemacht werden. Auch in 2010 zeigte sich zu Anfang der Saison in der Krautschicht eine geringere Besiedelung in Benicia als in den anderen Sorten, weiterhin zeigte sich in DKC 4250 leicht erhöhte Abundanzen. Diese Unterschiede können für die erste und zweite Probenahme als statistisch signifikant bezeichnet werden (14.07.-21.07.2010 BEN / ISO, MON, TEF / DKC (Abbildung 35); 22.07.-29.07. BEN / DKC).

Tabelle 28: Übersicht über die ermittelten Abundanzen des Schachbrettmarienkäfers *Propylea quattuordecimpunctata* über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD aus je acht Parzellen pro Sorte, Klopfproben aufaddiert aus je 5 Proben à 5 Pflanzen je Parzelle, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebetafelproben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)

Art	Jahr	Methode	Datum	Maissorte bzw. -behandlung				
				Benicia	DKC 4250	DKC 5143	DKC 5143-Bt	Insektizid
<i>Propylea quattuordecimpunctata</i>	2008	Klopfen	30.07.	0,25 ± 0,46	0,25 ± 0,46	X	X	X
			05.08.	X	X	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0 ± 0
		Kescher	17.07.	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,38 ± 0,74
			18.08.	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			xx.09.	X	X	X	X	X
		Klebe- tafel	24.07. 7 d	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			30.07. 6 d	0,38 ± 0,74	0,38 ± 0,74	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0,75 ± 0,89
			05.08. 5 d	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,71	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,5 ± 0,76
			13.08. 8 d	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0
			27.08. 8 d	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			03.09. 5 d	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	2009	Klopfen	07.08.	0,13 ± 0,35	X	X	X	X
			09.08.	0 ± 0	0,25 ± 0,46	X	X	X
			18.08.	0 ± 0	0,38 ± 1,06	0 ± 0	0,25 ± 0,71	0,13 ± 0,35
		Kescher	21.07.	0,38 ± 0,52	0,63 ± 1,06	1,13 ± 0,83	0,63 ± 0,74	0,50 ± 0,93
			18.08.	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,13 ± 0,35
			14.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
		Klebe- tafel	23.07.	0,75 ± 0,88	1,38 ± 1,30	1,13 ± 0,99	0,38 ± 0,74	0,63 ± 0,74
			30.07.	0,88 ± 0,99	1,50 ± 1,31	1,63 ± 1,41	1,63 ± 1,19	1,38 ± 1,06
			06.08.	0,13 ± 0,35	1,63 ± 1,30	1,50 ± 1,19	1,38 ± 0,92	1,38 ± 1,06
			13.08.	0,13 ± 0,35	0,50 ± 0,53	0 ± 0	0,38 ± 0,52	0,25 ± 0,46
			20.08.	0,25 ± 0,46	0,75 ± 0,71	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,71
			27.08.	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0
			03.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35
			10.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	2010	Klopfen	05.08.	0,13 ± 0,35	X	X	X	X
			10.08.	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,38 ± 0,52	0,13 ± 0,35	X
		Kescher	25.07.	0,88 ± 0,99	2,63 ± 1,51	1,63 ± 2,33	1,75 ± 1,04	3,00 ± 1,41
			xx.08.	X	X	X	X	X
			21.09.	0,50 ± 0,76	0,75 ± 1,39	0,50 ± 0,76	1,13 ± 1,86	1,00 ± 1,69
		Klebe- tafel	21.07.	1,13 ± 0,99	6,88 ± 2,53	4,00 ± 1,51	3,75 ± 1,83	5,00 ± 2,73
			29.07.	0,88 ± 0,83	3,00 ± 1,93	1,88 ± 1,55	1,75 ± 1,39	1,63 ± 1,60
			05.08.	X	X	X	X	X
			12.08.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,25 ± 0,46	0,13 ± 0,35
			19.08.	1,13 ± 0,99	1,00 ± 0,53	1,38 ± 1,51	1,75 ± 1,83	1,75 ± 1,67
			26.08.	0,63 ± 0,52	0,25 ± 0,46	0,38 ± 0,52	0,38 ± 0,74	0 ± 0
			02.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			09.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			16.09.	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0

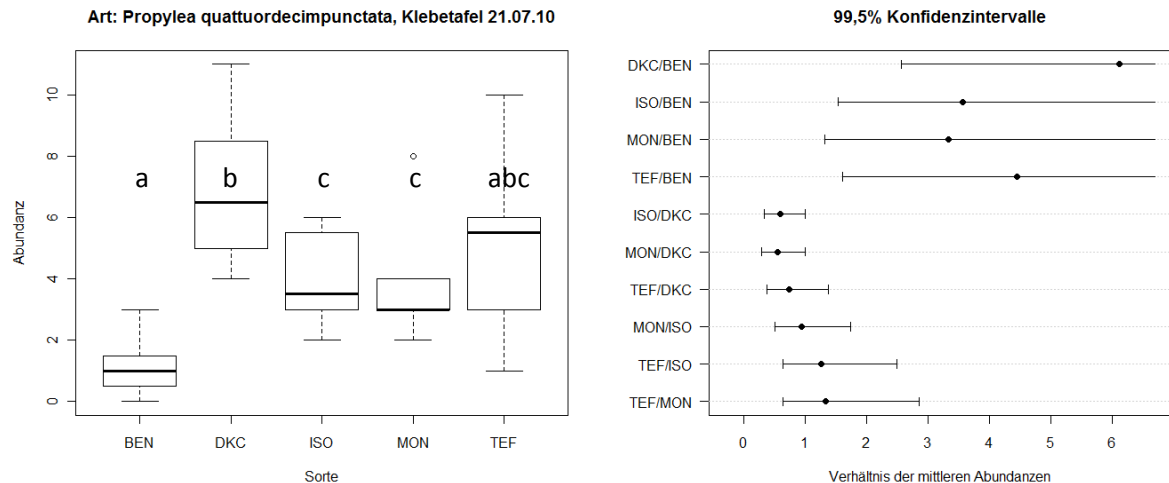


Abbildung 35: Darstellung des Vorkommens des Schachbrettmarienkäfers 2010 (links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen auf Klebtafeln, Beprobung in der Woche vom 14.-21.07.2010 ; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b, c) statistisch nicht signifikant verschieden)

Die hauptsächliche Beute der Coccinellidae, Blattläuse, wurden in der vorliegenden Studie nicht quantitativ erfasst, sondern ihr Vorkommen nur beobachtet. Im Jahr 2009 wurden dabei wesentlich höhere Abundanzen beobachtet als in den Versuchsjahren 2008 und 2010, jedoch nicht quantifiziert.

5.1.3 Auchenorrhyncha

Die Ordnung der Zikaden konnte auf dem Versuchsfeld in hohen Abundanzen gefunden werden. In den Proben aus Kescher und von Klebtafeln konnten Arten aus der Unterordnung der Rundkopfizikaden gezeigt werden wie auch Arten aus der Unterordnung der Spitzkopfizikaden. Die bestimmten Arten aus den Familie der Cicadellidae und der Familie der Delphacidae sind im systematischen Überblick in Tabelle 29 dargestellt. Als dominierende Art zeigte sich dabei *Zyginidia scutellaris*.

Tabelle 29: Systematische Übersicht über die erhobene Zikadenzönose (dominierende Taxa sind hervorgehoben)

Homoptera	Auchenorrhyncha	Cicadomorpha	Cicadellidae	Balclutha punctata
				Empoasca pteridis
				Eupteryx spec.
				Hardya tenuis
				Macrosteles laevis
				Psammotettix alienus
		Fulgoromorpha	Delphacidae	Zyginidia scutellaris
				Javesella pellucida
				Laodelphax striatella

Wird die Ordnung der Zikaden in ihrer Gesamtheit betrachtet, können Sorteneffekte beobachtet werden. Vor allem zwischen der Sorte Benicia und der nah-isogenen Variante, der GV-Variante und der Insektizidbehandlung können zu verschiedenen Probenahmezeitpunkten statistisch signifikante Unterschiede ausgemacht werden (Tabelle 30). Diese Unterschiede sind für die Probenahmen mit dem Kescher im Frühsommer 2008, Hochsommer 2008 und Spätsommer 2009 ebenfalls als Boxplot grafisch dargestellt (Abbildung 36f.). Die jeweiligen Konfidenzintervalle sind ebenfalls angegeben.

Tabelle 30: Übersicht über statistisch signifikante nachweisbare Unterschiede für die Ordnung der Zikaden (Nachweis über Konfidenzintervalle, die geringere Abundanz zeigt sich in der jeweils erstgenannten Maissorte: BEN – Benicia, DKC – DKC 4250, ISO – DKC 5143, MON – DKC 5143-Bt, TEF – Insektizidbehandlung)

Jahr	Methode	Termin	Sorten
2008	Kescher	17.07.	BEN / ISO, MON, TEF
	Klebetafel	30.07.	DKC / ISO, TEF
	Kescher	21.07.	DKC, TEF / BEN
2009	Klebetafel	23.07.-30.07.	BEN / DKC, ISO, TEF
		06.08.-13.08.	BEN / ISO, TEF
		13.08.-20.08.	BEN / ISO, MON, TEF
		20.08.-27.08.	BEN / ISO, MON, TEF
		27.08.-03.09.	BEN, DKC / ISO
2010	Kescher	25.07.	ISO / DKC
		21.09.	BEN / DKC, ISO, MON

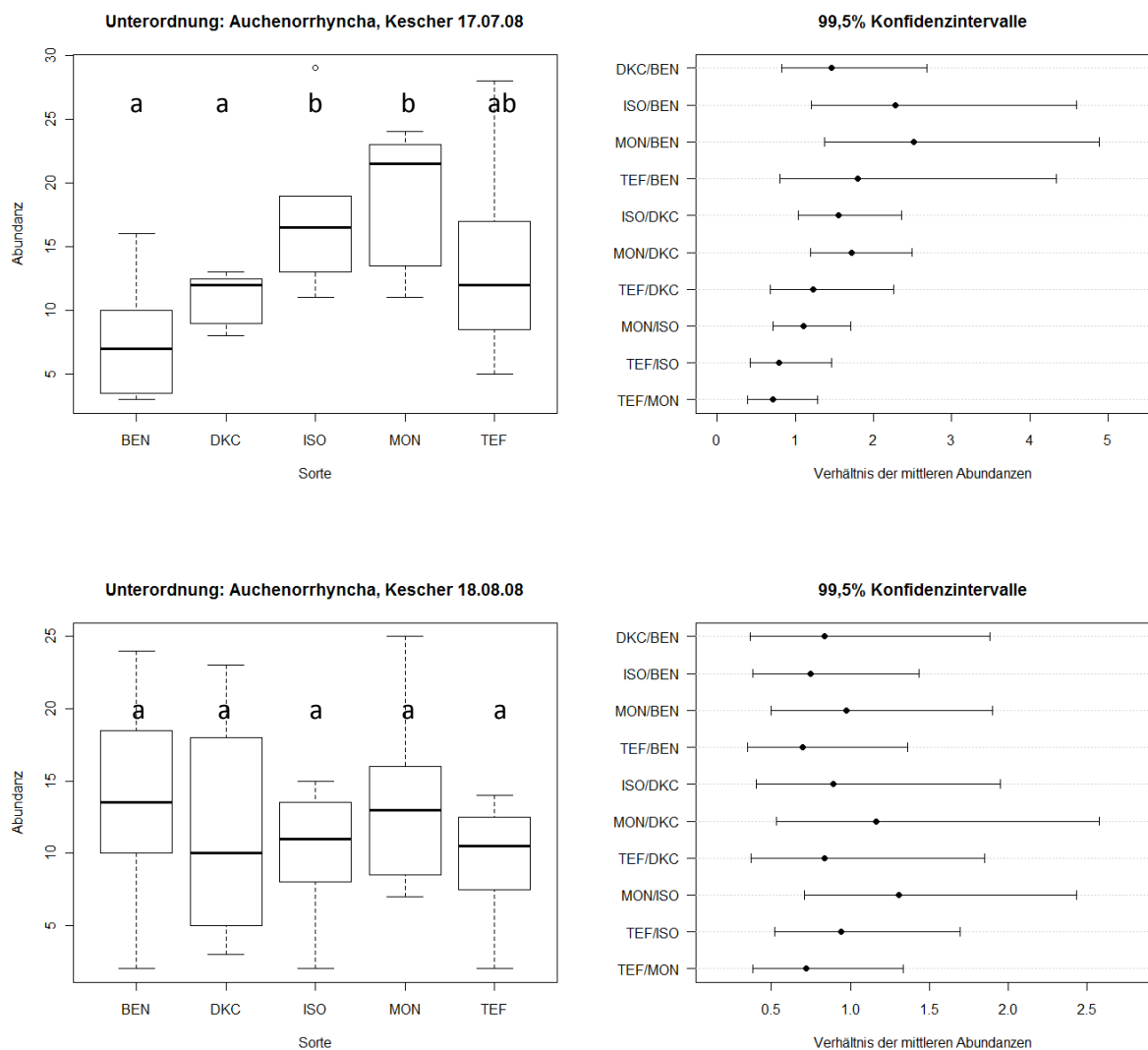


Abbildung 36: Darstellung der Zikadenzönose (adult) 2008, oben Fröhsommer (17.07.2008), unten Hochsommer (18.08.2008) (links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Kescher, pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden)

Bei der Bewertung der Boxplotdarstellungen ist die unterschiedliche Skalierung der Ordinaten in Abb. 36 und 37 zu beachten. Der Hochpunkt des Auftretens der Zikaden liegt im Spätsommer, dort werden Mediane von 50-80 Zikaden pro Parzelle erreicht, während im Fröhsommer ein maximaler Median von 20 Zikaden pro Parzelle auftritt und im Hochsommer im Mittel ein Median von 12 Zikaden pro Parzelle ermittelt wurde.

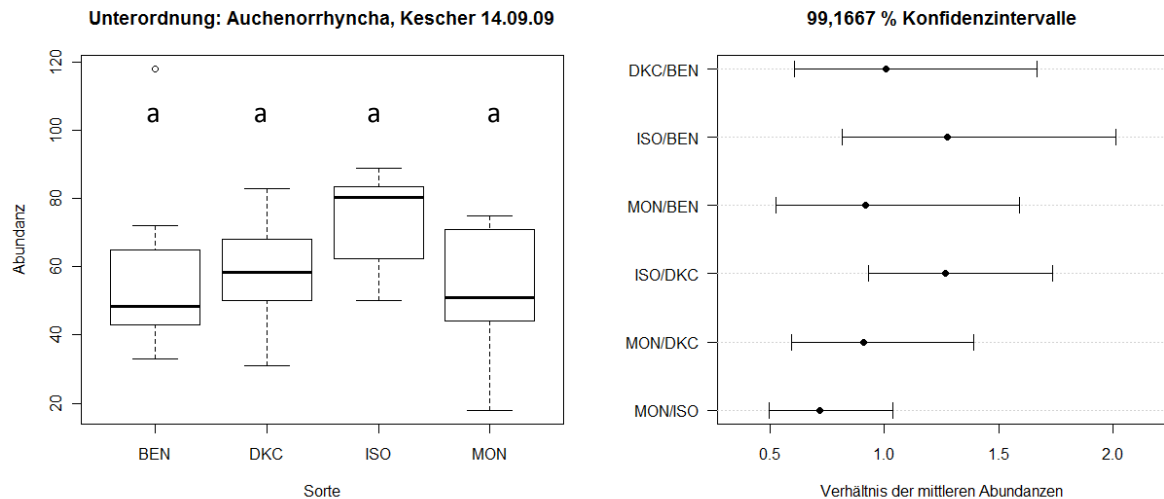


Abbildung 37: Darstellung der Zikadenzönose (adult) im Spätsommer 2009 (links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanz im Kescher, Beprobung am 14.09.2009, pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,167-Konfidenzintervalle, Beprobung der DKC 5143 mit Insektizidbehandlung entfiel, Abundanz mit gleichen Buchstaben (a) statistisch nicht signifikant verschieden)

Da die Zikaden durchweg bis zur Art bestimmt werden konnten, kann im Folgenden die Ordnung der Zikaden auf Artniveau betrachtet werden. Als dominierende Art wurde dabei in allen Versuchsjahren *Zyginidia scutellaris* identifiziert. Die ermittelten Abundanz werden in Tabelle 31, statistisch signifikante Unterschiede in Tabelle 32 dargestellt. Während im Jahr 2008 in den ermittelten mittleren Abundanz keine signifikanten Unterschiede identifiziert werden konnten, zeigten sich in 2009 wesentlich erhöhte Fangzahlen. Die höchsten Dichten wurden im Spätsommer gefunden.

Ergebnisse

Tabelle 31: Übersicht über die ermittelten Abundanzen der dominierenden Zikade *Zyginidia scutellaris* über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD gemittelt aus je acht Parzellen pro Sorte, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebtafelproben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)

Art	Jahr	Methode	Datum	Maissorte bzw. -behandlung				
				Benicia	DKC 4250	DKC 5143	DKC 5143-Bt	Insektizid
<i>Zyginidia scutellaris</i>	2008	Kescher	17.07.	2,88 ± 1,96	1,88 ± 2,42	2,13 ± 1,36	1,88 ± 1,89	1,50 ± 1,20
			18.08.	11,88 ± 6,15	9,25 ± 7,21	7,13 ± 3,72	10,13 ± 6,45	7,00 ± 4,34
			xx.09.	X	X	X	X	X
		Klebtafel	24.07. 7 d	2,13 ± 0,83	1,63 ± 1,41	1,13 ± 1,13	1,50 ± 1,69	2,38 ± 1,60
			30.07. 6 d	1,38 ± 2,07	0,88 ± 0,99	0,88 ± 1,13	0,75 ± 1,16	0,38 ± 0,74
			05.08. 5 d	0,75 ± 1,04	0,63 ± 0,52	0,38 ± 0,52	2,00 ± 2,27	0,63 ± 1,19
			13.08. 8 d	1,25 ± 3,15	1,13 ± 0,99	0,75 ± 0,46	1,13 ± 1,36	0,75 ± 0,71
			27.08. 8 d	1,38 ± 1,85	1,25 ± 1,28	1,00 ± 0,76	0,75 ± 0,71	1,25 ± 1,28
			03.09. 5 d	1,25 ± 1,49	1,50 ± 1,60	2,25 ± 0,89	1,50 ± 1,20	1,13 ± 1,64
		Kescher	21.07.	3,00 ± 2,73	0,63 ± 0,52	0,50 ± 0,76	0,50 ± 0,76	0 ± 0
			18.08.	11,50 ± 9,86	7,50 ± 4,34	6,38 ± 6,91	5,25 ± 2,87	4,38 ± 3,11
			14.09.	56,88 ± 27,09	54,25 ± 13,77	68,25 ± 15,78	45,75 ± 18,47	X
	2009	Klebtafel	23.07.	8,50 ± 6,82	14,25 ± 9,63	4,25 ± 1,83	3,38 ± 4,44	4,25 ± 2,12
			30.07.	3,75 ± 2,76	6,75 ± 5,18	3,00 ± 2,39	2,75 ± 2,82	5,50 ± 3,51
			06.08.	6,13 ± 4,52	10,75 ± 7,36	5,13 ± 2,03	4,50 ± 2,56	8,00 ± 4,50
		Klebtafel	13.08.	1,13 ± 1,13	2,13 ± 3,27	1,88 ± 1,64	1,88 ± 2,64	2,13 ± 1,46
			20.08.	2,00 ± 1,41	1,00 ± 0,93	2,13 ± 1,81	1,25 ± 0,71	2,50 ± 0,93
			27.08.	2,50 ± 1,77	3,25 ± 1,98	2,63 ± 1,85	2,00 ± 1,51	3,00 ± 2,14
			03.09.	4,38 ± 2,72	2,75 ± 2,71	2,25 ± 2,60	1,63 ± 1,41	1,13 ± 0,64
		Kescher	10.09.	19,88 ± 11,75	14,75 ± 7,17	16,13 ± 9,54	11,50 ± 5,29	25,50 ± 17,17
			25.07.	2,00 ± 3,42	2,25 ± 2,38	1,13 ± 1,55	1,38 ± 2,07	1,50 ± 1,51
			xx.08.	X	X	X	X	X
	2010	Kescher	21.09.	9,63 ± 9,56	7,00 ± 6,59	6,38 ± 9,96	4,25 ± 4,17	3,63 ± 3,54
			21.07.	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0
			29.07.	0,38 ± 1,06	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,25 ± 0,71	0 ± 0
		Klebtafel	05.08.	X	X	X	X	X
			12.08.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			19.08.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			26.08.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			02.09.	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			09.09.	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0 ± 0
			16.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Tabelle 32: Übersicht über statistisch signifikante nachweisbare Unterschiede für die Art *Zyginidia scutellaris* (Nachweis über Konfidenzintervalle, die geringere Abundanz zeigt sich in der jeweils erstgenannten Maissorte: BEN – Benicia, DKC – DKC 4250, ISO – DKC 5143, MON – DKC 5143-Bt, TEF – Insektizidbehandlung)

Jahr	Methode	Termin	Sorten
2009	Kescher	21.07.	TEF / ISO, MON, DKC / BEN
		14.09.	MON / ISO (♂)
	Klebtafel	16.07.-23.07.	DKC / ISO, MON, TEF
		13.08.-20.08.	MON / TEF
2010	Kescher	20.08.-27.08.	TEF / BEN
		21.09.	BEN / DKC, ISO, MON

Zusätzlich zur Untersuchung auf Artniveau konnten die Zikaden auch auf die Verteilung zwischen den Geschlechtern hin untersucht werden. In einigen Fällen konnten auftretende, statistische nicht signifikante Trends bei der Betrachtung der Geschlechterverteilung aufgelöst werden. Ein solcher Fall ist in Abbildung 38 dargestellt. Hier können statistisch signifikante Unterschiede im Spätsommer 2009 für die im Kescher gefangenen Männchen zwischen der nah-isogenen Sorte (Median: 30 Tiere)

und der GV-Sorte (Median: ca. 15 Tiere) ausgemacht werden. Die konventionellen Sorten gruppieren sich dazwischen ein, ebenfalls mit der Tendenz zu den niedrigeren Werten. Dieser Trend kann auch in der Verteilung der Weibchen beobachtet werden, ist hier jedoch nicht signifikant (Abbildung 38 unten). Im Vergleich dazu sind in Abbildung 39 die entsprechenden Fangzahlen mit der Klebtafel aufgetragen. Hier zeigt sich eine ähnliche Verteilung der Gesamtpopulation ohne signifikante Unterschiede.

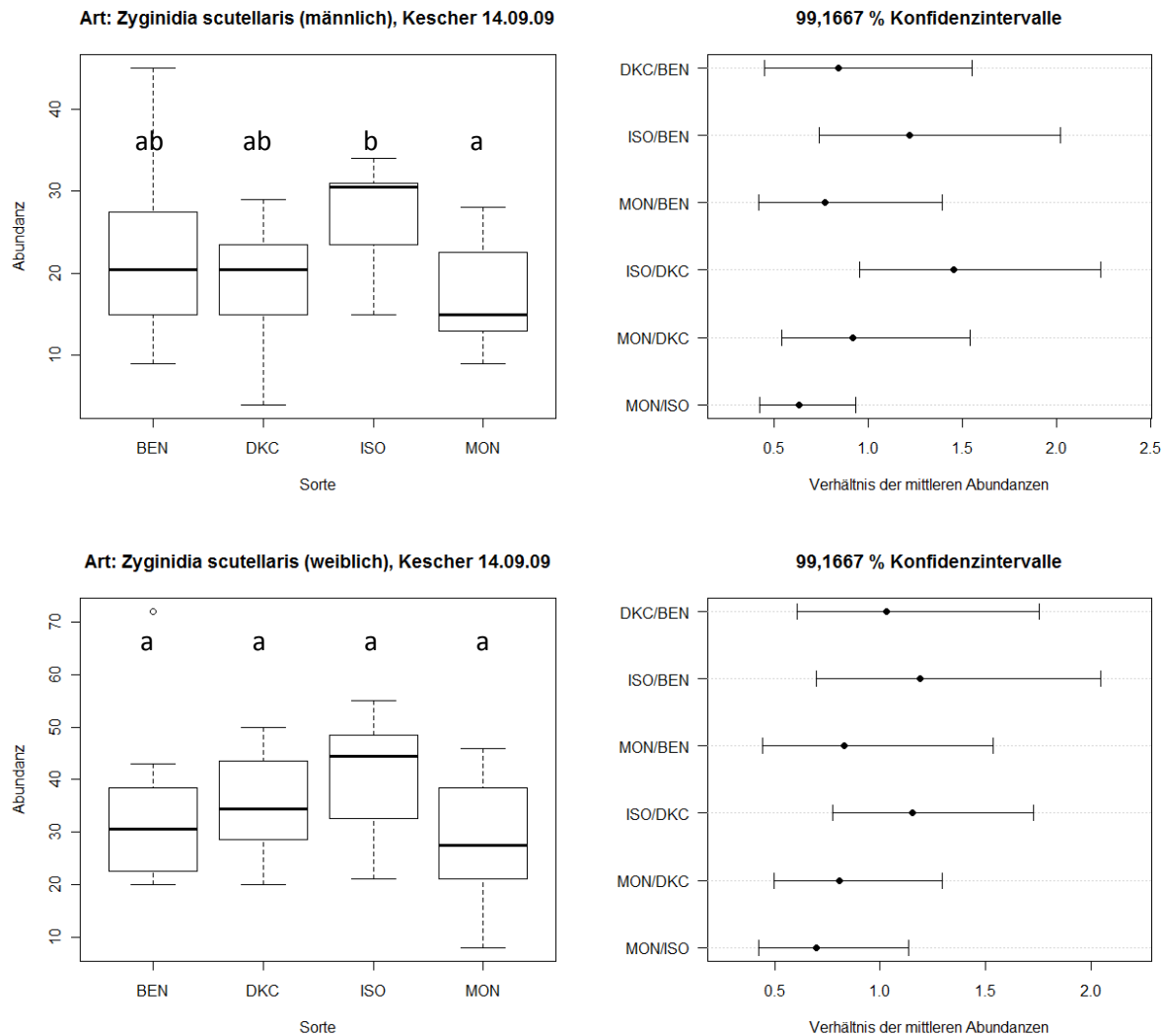


Abbildung 38: Darstellung der Verteilung von *Zyginidia scutellaris* Spätsommer 2009 (oben: adulte männliche Tiere, unten: adulte weibliche Tiere, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Kescher, Beprobung am 14.09.2009, pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,167 % - Konfidenzintervalle, Beprobung der Sorte DKC 5143 mit Insektizidbehandlung entfiel, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden)

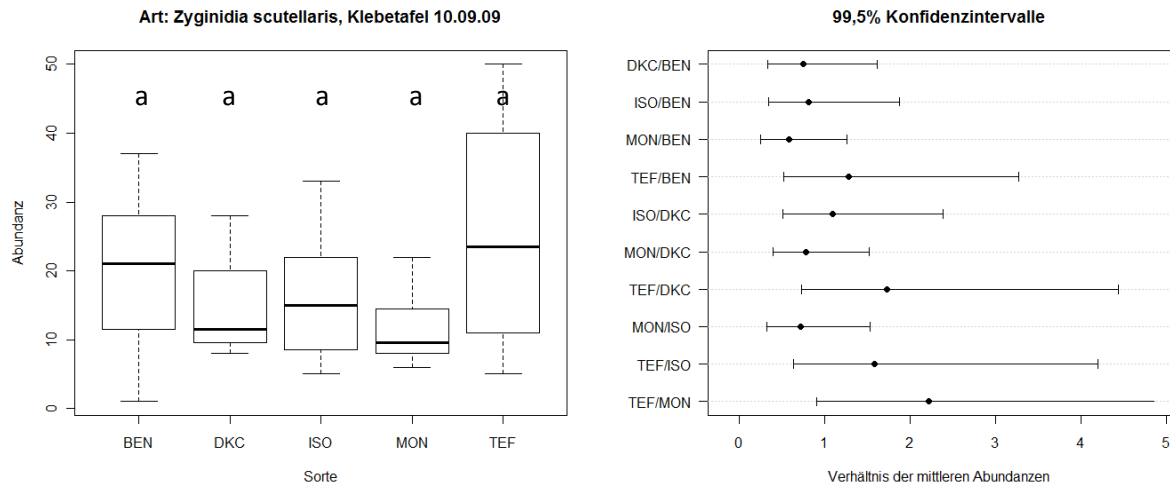


Abbildung 39: Darstellung der Verteilung von *Zyginidia scutellaris* Spätsommer 2009 (adulte Tiere beider Geschlechter, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen auf der Klebetafel, Beprobung in der Woche vom 03.09. - 10.09.2009, pro Parzelle eine Klebetafel; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a) statistisch nicht signifikant verschieden)

Als weitere wichtige Art wurde die fulgoromorphe Zikade *Javesella pellucida* identifiziert (Tabelle 33).

Tabelle 33: Übersicht über die ermittelten Abundanzen der Zikade *Javesella pellucida* über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD aus je acht Parzellen pro Sorte, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebetafelproben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)

Art	Jahr	Methode	Datum	Maissorte bzw. -behandlung				
				Benicia	DKC 4250	DKC 5143	DKC 5143-Bt	Insektizid
<i>Javesella pellucida</i>	2008	Kescher	17.07.	12,25 ± 5,92	12,00 ± 6,52	10,63 ± 7,78	9,25 ± 4,23	11,88 ± 8,13
			18.08.	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,46
			xx.09.	X	X	X	X	X
		Klebetafel	24.07. 7 d	3,25 ± 2,49	2,75 ± 2,60	2,75 ± 1,83	4,25 ± 2,76	3,25 ± 1,75
			30.07. 6 d	0,88 ± 0,83	1,38 ± 2,00	2,38 ± 1,77	1,88 ± 2,59	1,50 ± 1,49
			05.08. 5 d	0,75 ± 1,04	1,13 ± 1,36	1,50 ± 1,20	2,75 ± 2,96	2,25 ± 1,28
			13.08. 8 d	0 ± 0	0,25 ± 0,46	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0 ± 0
			27.08. 8 d	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			03.09. 5 d	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	2009	Kescher	21.07.	1,75 ± 1,98	0,88 ± 0,99	1,38 ± 1,41	0,75 ± 1,39	0,88 ± 1,13
			18.08.	0 ± 0	0 ± 0	0,25 ± 0,46	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35
			14.09.	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	X
		Klebetafel	23.07.	1,50 ± 1,51	2,25 ± 1,16	1,38 ± 1,06	1,75 ± 1,49	1,75 ± 0,71
			30.07.	0,25 ± 0,46	1,00 ± 1,41	1,00 ± 1,07	0,63 ± 1,41	1,38 ± 1,06
			06.08.	0,38 ± 0,52	1,38 ± 1,51	0,88 ± 0,83	0,38 ± 0,74	0,50 ± 0,76
			13.08.	0,25 ± 0,46	0,63 ± 0,52	0,50 ± 0,53	0,38 ± 0,52	0,63 ± 0,74
			20.08.	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	0,25 ± 0,46	0 ± 0
			27.08.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35
			03.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0
	2010	Kescher	10.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			25.07.	1,50 ± 1,41	1,88 ± 1,73	0,63 ± 0,74	0,63 ± 0,52	0,88 ± 1,13
			xx.08.	X	X	X	X	X
		Klebetafel	21.09.	1,38 ± 3,50	1,00 ± 2,45	0,63 ± 1,77	0,13 ± 0,35	0,63 ± 1,41
			21.07.	0,50 ± 0,76	0,13 ± 0,35	0,50 ± 0,53	0,50 ± 0,53	0,50 ± 0,53
			29.07.	0 ± 0	0 ± 0	0,25 ± 0,71	0 ± 0	0,13 ± 0,35
			05.08.	X	X	X	X	X
			12.08.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			19.08.	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0
			26.08.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			02.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			09.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			16.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Im Gegensatz zu *Z. scutellaris*, die ihre höchsten Abundanzen im Spätsommer aufweist, zeigt diese Zikade ihre Höchstwerte im Frühsommer, zu Beginn der Feldsaison, und verschwindet dann weitestgehend. Dieses Verteilungsmuster wurde lediglich im dritten Versuchsjahr verändert, als die Zikade über die Gesamtsaison im Kescher gefunden wurde, immer jedoch in sehr geringen Abundanzen.

Auch für *J. pellucida* konnten statistisch signifikante Sorteneffekte zu bestimmten Zeitpunkten, jedoch nur im Jahr 2008, nachgewiesen werden. Eine Übersicht gibt Tabelle 34. Insbesondere die Verteilung zur Kescherprobenahme im Frühsommer 2008 zeigte ein breitgefächertes Bild (Abbildung 40).

Tabelle 34: Übersicht über statistisch signifikante nachweisbare Unterschiede für die Art *Javesella pellucida* (Nachweis über Konfidenzintervalle, die geringere Abundanz zeigt sich in der jeweils erstgenannten Maissorte: BEN – Benicia, DKC – DKC 4250, ISO – DKC 5143, MON – DKC 5143-Bt, TEF – Insektizidbehandlung)

Jahr	Methode	Termin	Sorten
2008	Kescher	17.07.	BEN / DKC, ISO, MON (♂) DKC / MON (♂)
	Klebetafel	05.08.	BEN, DKC / ISO, MON (alle) TEF / DKC (♀)

Hier bildeten wiederum die konventionellen Sorten eine Gruppe, in denen in diesem Fall jedoch statistisch signifikant weniger Organismen vorkamen als in der nah-isogenen bzw. der GV-Sorte. Zu beachten ist hier, ebenso wie in den vorherigen Abbildungen die breite Streuung der mit Bodeninsektizid behandelten Parzellen.

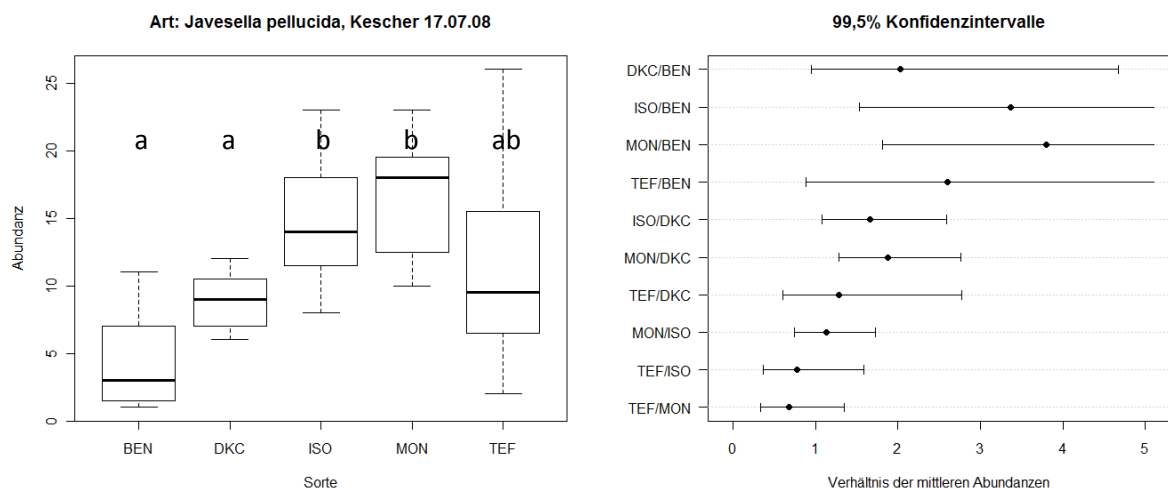


Abbildung 40: Darstellung der Verteilung von *Javesella pellucida* Hochsommer 2008 (adulte Tiere beider Geschlechter, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Kescher, Beprobung am 17.07.2008, pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden)

Als dritte dominierende Zikadenart wurde *Macrosteles laevis*, wie *Z. scutellaris* eine Cicadomorphe, identifiziert. Die ermittelten mittleren Abundanzen werden in Tabelle 35 angegeben. Diese Zikade trat entsprechend der Gesamtpopulation der Gruppe der Zikaden in ihren höchsten Abundanzen in Jahr 2009 auf. Die niedrigsten Werte wurden auch hier im Jahr 2010 beobachtet. Im Gegensatz zu den vorgenannten Arten konnten kontinuierlich über die gesamte Feldsaison *M. laevis* auf dem Versuchsfeld beobachtet werden, mit einem leichten Anstieg im Hochsommer Mitte bis Ende August. Auch für *M. laevis* konnten im Jahr 2009 aufgrund der hohen Besiedelung statistisch signifikante Sortenunterschiede ausgemacht werden, die in Tabelle 36 im Überblick gezeigt werden.

Ergebnisse

Tabelle 35: Übersicht über die ermittelten Abundanzen der Zikade *Macrosteles laevis* über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD aus je acht Parzellen pro Sorte, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebetafelproben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)

Art	Jahr	Methode	Datum	Maissorte bzw. -behandlung				
				Benicia	DKC 4250	DKC 5143	DKC 5143-Bt	Insektizid
<i>Macrosteles laevis</i>	2008	Kescher	17.07.	0 ± 0	0 ± 0	0,25 ± 0,46	0 ± 0	0 ± 0
			18.08.	1,25 ± 0,89	1,50 ± 0,76	2,50 ± 1,20	2,63 ± 1,85	2,38 ± 1,51
			xx.09.	X	X	X	X	X
		Klebetafel	24.07. 7 d	0,25 ± 0,46	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0 ± 0
			30.07. 6 d	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			05.08. 5 d	0,50 ± 0,76	0,38 ± 0,52	0,50 ± 0,76	0,38 ± 0,74	0,63 ± 0,52
			13.08. 8 d	0,13 ± 0,35	0,50 ± 0,76	0,50 ± 0,76	0,13 ± 0,35	0,75 ± 0,71
			27.08. 8 d	1,13 ± 0,83	0,75 ± 1,16	0,88 ± 0,64	1,38 ± 0,92	1,63 ± 0,92
			03.09. 5 d	0 ± 0	0,75 ± 0,71	0,63 ± 0,74	0,50 ± 0,76	0,38 ± 0,74
		Kescher	21.07.	0,25 ± 0,71	0,13 ± 0,35	0,50 ± 0,53	0,38 ± 0,74	0,13 ± 0,35
			18.08.	1,63 ± 0,74	3,88 ± 2,95	5,25 ± 5,50	4,25 ± 5,26	3,75 ± 4,20
			14.09.	0,75 ± 0,71	2,50 ± 2,00	3,75 ± 1,49	4,75 ± 4,06	X
			23.07.	0,63 ± 0,74	2,88 ± 3,48	6,50 ± 1,77	4,13 ± 2,36	4,63 ± 2,26
			30.07.	0,38 ± 1,06	1,25 ± 1,28	4,13 ± 1,73	5,25 ± 4,20	4,00 ± 2,00
			06.08.	0,63 ± 1,06	0,50 ± 0,76	3,75 ± 2,87	3,88 ± 2,59	3,13 ± 1,89
			13.08.	1,13 ± 0,83	1,13 ± 0,83	3,13 ± 1,73	2,88 ± 1,89	3,00 ± 2,07
			20.08.	1,50 ± 1,20	3,50 ± 2,39	10,13 ± 3,48	12,63 ± 3,50	9,25 ± 6,30
			27.08.	2,00 ± 1,51	4,88 ± 3,48	10,75 ± 5,44	6,13 ± 3,36	9,00 ± 5,78
			03.09.	1,88 ± 1,36	5,88 ± 3,44	11,00 ± 2,67	8,63 ± 2,88	8,50 ± 5,21
			10.09.	2,75 ± 2,05	5,63 ± 5,07	5,93 ± 2,00	4,88 ± 3,14	6,13 ± 3,31
	2010	Kescher	25.07.	0,50 ± 0,53	0,88 ± 1,13	0,50 ± 0,53	0,88 ± 0,83	1,38 ± 0,74
			xx.08.	X	X	X	X	X
			21.09.	0,88 ± 1,46	0,25 ± 0,46	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
		Klebetafel	21.07.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			29.07.	0,25 ± 0,46	0 ± 0	0,25 ± 0,71	0,38 ± 0,74	0 ± 0
			05.08.	X	X	X	X	X
			12.08.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			19.08.	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,13 ± 0,35
			26.08.	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35
			02.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			09.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35
			16.09.	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0 ± 0

Tabelle 36: Übersicht über statistisch signifikante nachweisbare Unterschiede für die Ordnung der Zikaden (Nachweis über Konfidenzintervalle, die geringere Abundanz zeigt sich in der jeweils erstgenannten Maissorte: BEN – Benicia, DKC – DKC 4250, ISO – DKC 5143, MON – DKC 5143-Bt, TEF – Insektizidbehandlung)

Jahr	Methode	Termin	Sorten
2009	Kescher	14.09.	BEN / ISO, MON
		16.07.-23.07.	BEN / ISO, MON, TEF
		23.07.-30.07.	BEN / ISO, MON, TEF
		30.07.-06.08.	DKC / ISO, TEF
		06.08.-13.08.	DKC, BEN / ISO
		13.08.-20.08.	DKC, BEN / ISO, MON, TEF (♂)
	Klebetafel	20.08.-27.08.	BEN / ISO, MON, TEF (alle)
			DKC / ISO, MON (alle)
			BEN / DKC, ISO, MON, TEF (♂)
			DKC / ISO (♂)
			BEN / ISO, MON, TEF (alle)
		27.08.-03.09.	BEN / DKC, ISO, MON, TEF
			DKC / ISO

Kontinuierlich zeigt sich hier wieder der Einfluss der Sorte Benicia mit signifikant geringeren Fangzahlen. Partiiell konnten auch signifikante Unterschiede der zweiten konventionellen Sorte ausgemacht werden, die dann auch stetig die geringere Besiedelung aufweist.

Zikaden aus *Bt*-Parzellen des Feldversuchs wurden auch bezüglich ihres Cry-Proteingehaltes analysiert. Dazu wurde im ELISA in einer Sammelprobe der cicadomorphen *Z. scutellaris* 100,61 ng/g Cry3Bb1 nachgewiesen. Für *Empoasca spec.*, ebenfalls cicadomorph, konnte kein interner Gehalt an Cry-Protein nachgewiesen werden, möglicherweise aufgrund der geringen Probenmenge.

5.1.4 Heteroptera

5.1.4.1 Felddaten

Die Gemeinschaft der Wanzen wurde auf dem Versuchsfeld ebenfalls erfasst. Dabei wurden Organismen der Familie der Blumenwanzen, der Weichwanzen und der Sichelwanzen bestimmt (Tabelle 37).

Tabelle 37: Systematische Übersicht über die erhobene Wanzenzönose (dominierende Taxa sind hervorgehoben)

Heteroptera	Anthocoridae	<i>Orius spec.</i>
	Miridae	<i>Lygus spec.</i>
		<i>Stenodema laevigatum</i>
		<i>Stenodema calcarata</i>
		<i>Trigonotylus caelestialium</i>
	Nabidae	<i>Nabis spec.</i>

Als häufigste Vertreterin der Wanzenzönose wurde die Reisblattwanze *Trigonotylus caelestialium* identifiziert. Sie wurde als Modellorganismus ausgewählt und im Labor experimentell untersucht.

Die auf dem Feld ermittelten Abundanzen der wichtigsten Vertreter der herbivoren Wanzen sowie der räuberischen Wanzen werden in den folgenden Tabellen aufgeführt. Tabelle 38 zeigt die ausgewerteten mittleren Abundanzen von adulten *T. caelestialium*, während Tabelle 39 die mittleren Abundanzen der Juvenilen enthält. Adulte Organismen konnten beständig über die Saisons gefangen werden, mit einem Höhepunkt jeweils Mitte bis Ende Juli. Die meisten Tiere wurden in 2009 gefangen. Auch die Juvenilen konnten im Jahr 2009 vermehrt gefangen werden. Ihr Höhepunkt lag Mitte August, etwa 3-5 Wochen nach dem Hauptauftreten der adulten Tiere. Juvenile Reisblattwanzen konnten in allen fünf Nymphenstadien gefangen werden. Ein Effekt der Sorte konnte im Feld vereinzelt nachgewiesen werden. Einen Überblick über statistisch signifikante Unterschiede geben die Tabellen 40 und 41.

Tabelle 38: Übersicht über die ermittelten Abundanzen der Reisblattwanze *Trigonotylus caelestialium* über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD gemittelt aus je acht Parzellen pro Sorte, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebetafelproben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)

Art	Jahr	Methode	Datum	Maissorte bzw. –behandlung				
				Benicia	DKC 4250	DKC 5143	DKC 5143-Bt	Insektizid
<i>Trigonotylus caelestialium</i>	2008	Kescher	17.07.	0,88 ± 0,99	1,63 ± 2,07	2,00 ± 2,20	1,00 ± 0,93	1,88 ± 1,55
			18.08.	1,00 ± 0,76	0,25 ± 0,46	0,75 ± 0,89	1,00 ± 0,53	0,38 ± 0,52
			xx.09.	X	X	X	X	X
		Klebetafel	24.07. 7 d	0,38 ± 0,74	0,88 ± 1,36	0,25 ± 0,46	0,50 ± 0,76	0,38 ± 0,74
			30.07. 6 d	0,88 ± 1,36	0,75 ± 1,16	0,88 ± 0,64	0,25 ± 0,46	0,75 ± 0,89
			05.08. 5 d	0,88 ± 1,13	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0,38 ± 0,74	0,75 ± 0,89
			13.08. 8 d	0,25 ± 0,71	0,25 ± 0,71	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,46	0 ± 0
			27.08. 8 d	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0 ± 0
			03.09. 5 d	0,38 ± 1,06	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	2009	Kescher	21.07.	1,88 ± 1,96	6,50 ± 1,31	10,50 ± 6,00	7,75 ± 5,18	8,13 ± 3,44
			18.08.	2,38 ± 2,45	0,88 ± 0,64	1,75 ± 1,39	2,25 ± 2,19	1,63 ± 1,19
			14.09.	0,88 ± 1,13	1,50 ± 1,41	1,88 ± 1,64	0,75 ± 1,16	X
		Klebetafel	23.07.	2,25 ± 1,75	5,38 ± 2,88	7,38 ± 3,62	6,75 ± 2,76	7,50 ± 1,51
			30.07.	1,13 ± 1,25	3,63 ± 2,33	4,88 ± 3,31	4,00 ± 2,00	2,88 ± 1,89
			06.08.	0 ± 0	1,25 ± 0,89	1,25 ± 1,58	1,88 ± 1,81	1,63 ± 1,19
			13.08.	0,75 ± 0,89	1,38 ± 1,85	0,50 ± 0,76	1,25 ± 1,39	0,25 ± 0,46
			20.08.	0,50 ± 1,07	1,38 ± 2,00	0,88 ± 0,64	2,00 ± 2,07	0,25 ± 0,46
			27.08.	0,38 ± 0,52	0,38 ± 0,52	1,00 ± 1,20	0,75 ± 0,71	1,50 ± 1,41
			03.09.	0,38 ± 0,52	0,38 ± 0,52	0,25 ± 0,46	1,25 ± 0,89	0,25 ± 0,46
	2010	Kescher	10.09.	0,63 ± 1,19	0,75 ± 0,71	0,38 ± 0,74	0,38 ± 0,74	0,38 ± 0,74
			25.07.	4,63 ± 3,16	4,50 ± 2,45	6,63 ± 2,50	8,00 ± 2,98	8,38 ± 4,66
			xx.08.	X	X	X	X	X
		Klebetafel	21.09.	2,00 ± 1,60	0,25 ± 0,46	1,38 ± 0,74	0,38 ± 0,74	X
			21.07.	0,38 ± 0,74	1,63 ± 1,41	0,88 ± 1,13	2,38 ± 1,77	2,63 ± 2,13
			29.07.	1,50 ± 1,77	2,50 ± 1,41	2,50 ± 0,93	1,63 ± 0,74	3,00 ± 2,39
			05.08.	X	X	X	X	X
			12.08.	0,25 ± 0,46	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,13 ± 0,35
			19.08.	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	0,63 ± 0,74	0,63 ± 0,74
			26.08.	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,46
			02.09.	0,25 ± 0,46	0,25 ± 0,46	0 ± 0	0,38 ± 0,52	0,13 ± 0,35
			09.09.	0,75 ± 0,71	0 ± 0	0,75 ± 0,89	0,63 ± 0,52	0,25 ± 0,46
			16.09.	1,25 ± 1,39	0,50 ± 0,76	0,38 ± 0,52	0,75 ± 0,89	1,25 ± 1,67

Tabelle 39: Übersicht über die ermittelten Abundanzen der Reisblattwanze *Trigonotylus caelestialium* (juvenile Tiere) über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD gemittelt aus je acht Parzellen pro Sorte, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebetafelproben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)

Art	Methode	Datum	Maissorte bzw. –behandlung				
			Benicia	DKC 4250	DKC 5143	DKC 5143-Bt	Insektizid
<i>T. caelestialium</i> (Nymphe)	08 Kescher	17.07.	0,88 ± 0,83	0,25 ± 0,46	0,38 ± 0,52	0,38 ± 0,52	0,13 ± 0,35
		18.08.	10,88 ± 2,64	2,00 ± 0,93	4,50 ± 2,27	5,00 ± 1,69	7,38 ± 4,66
		xx.09.	X	X	X	X	X
	09 Kescher	21.07.	0,50 ± 0,76	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35
		18.08.	24,13 ± 10,91	10,13 ± 7,32	18,25 ± 6,56	13,00 ± 5,40	15,00 ± 6,44
		14.09.	0,50 ± 0,53	0,50 ± 0,76	1,50 ± 1,31	1,38 ± 1,51	X
	10 Kescher	25.07.	1,00 ± 0,76	0,38 ± 0,74	0,38 ± 0,52	0,13 ± 0,35	0,38 ± 0,74
		xx.08.	X	X	X	X	X
		21.09.	8,38 ± 4,31	1,63 ± 0,74	4,88 ± 4,19	5,00 ± 3,12	X

Tabelle 40: Übersicht über statistisch signifikante nachweisbare Unterschiede für die Art *Trigonotylus caelestialium* (Nachweis über Konfidenzintervalle, die geringere Abundanz zeigt sich in der jeweils erstgenannten Maissorte: BEN – Benicia, DKC – DKC 4250, ISO – DKC 5143, MON – DKC 5143-Bt, TEF - Insektizidbehandlung)

Jahr	Methode	Termin	Sorten
2009	Kescher	21.07.	BEN / DKC, ISO, MON, TEF (♂ & alle)
	Klebetafel	23.07.	BEN / ISO, MON, TEF
	Klebetafel	30.07.	BEN / ISO, MON, DKC
2010	Kescher	15.09.	DKC, ISO / BEN, MON
	Klebetafel	29.07.	MON / ISO

Tabelle 41: Übersicht über statistisch signifikante nachweisbare Unterschiede für die Art *Trigonotylus caelestialium* (juvenil) (Nachweis über Konfidenzintervalle, die geringere Abundanz zeigt sich in der jeweils erstgenannten Maissorte: BEN – Benicia, DKC – DKC 4250, ISO – DKC 5143, MON – DKC 5143-Bt, TEF - Insektizidbehandlung)

Jahr	Methode	Termin	Sorten
2008	Kescher	18.08.	DKC / ISO, MON / BEN
2010	Kescher	15.09.	DKC / ISO, BEN, MON

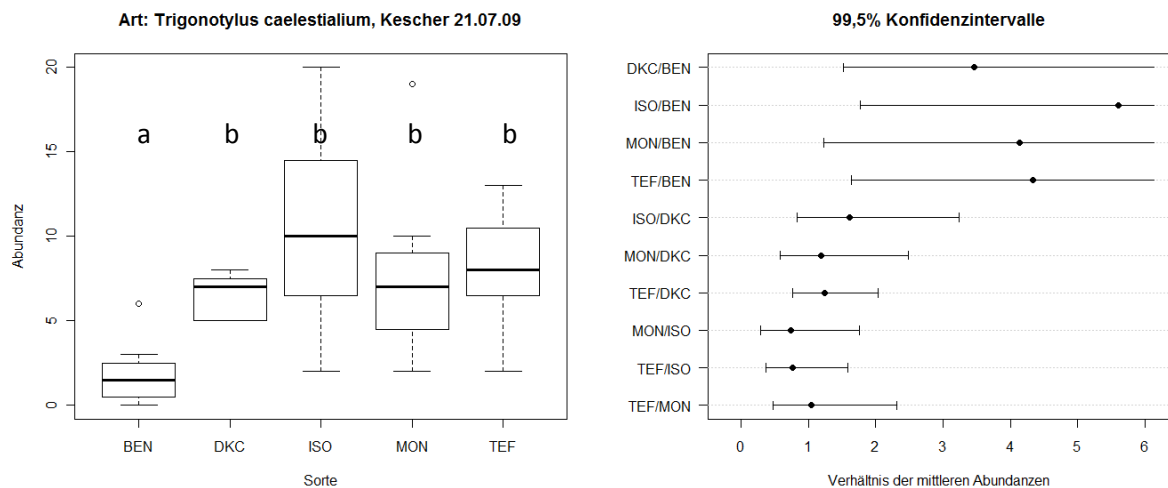


Abbildung 41: Darstellung der Verteilung von *Trigonotylus caelestialium* Frühsommer 2009 (adulte Tiere beider Geschlechter, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Kescher, Beprobung am 21.07.2009, pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden)

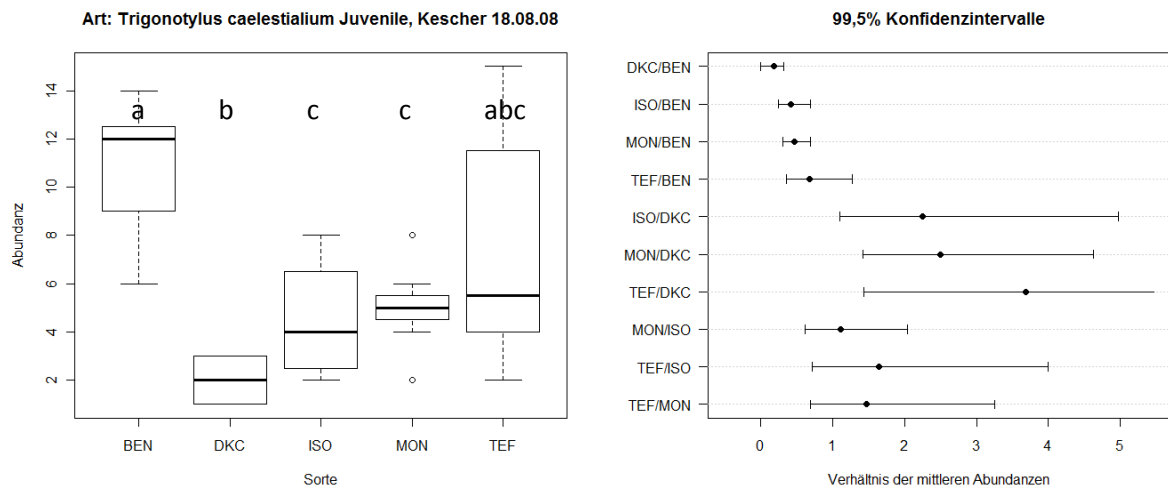


Abbildung 42: Darstellung der Verteilung von *Trigonotylus caelestialium* Hochsommer 2008 (juvenile Tiere, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Kescher, Beprobung am 18.08.2008, pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b, c) statistisch nicht signifikant verschieden)

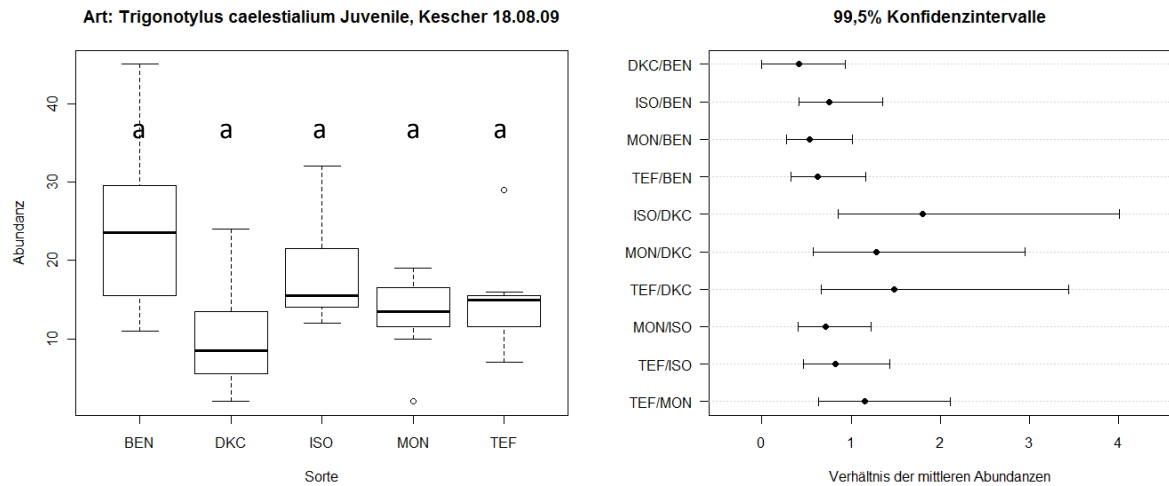


Abbildung 43: Darstellung der Verteilung von *Trigonotylus caelestialium* Hochsommer 2009 (juvenile Tiere, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Kescher, Beprobung am 18.08.2009, pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a) statistisch nicht signifikant verschieden)

Auffällig erweisen sich die ermittelten Abundanzen dieser Wanze in Parzellen der Sorte Benicia. Während die adulten Tiere in dieser Sorte häufig geringere Abundanzen (Abbildung 41) zeigen als in den anderen Sorten, verhält es sich mit den Nymphen gegenläufig (2008: Abbildung 42, 2009: Abbildung 43). Sie treten über die Jahre verglichen mit allen anderen angebauten Sorten im Feldversuch konstant in erhöhten Dichten in Benicia auf.

Neben der herbivoren Reisblattwanze trat die omnivore Blumenwanze *Orius spec.* in statistisch auswertbaren Dichten auf dem Versuchsfeld auf. Sie konnte sowohl in der Krautschicht als auch in den männlichen Blütenständen der Maispflanzen gefunden werden. Ihre mittleren Abundanzen in den acht Parzellen je Sorte wurden in Tabelle 42 zusammengetragen.

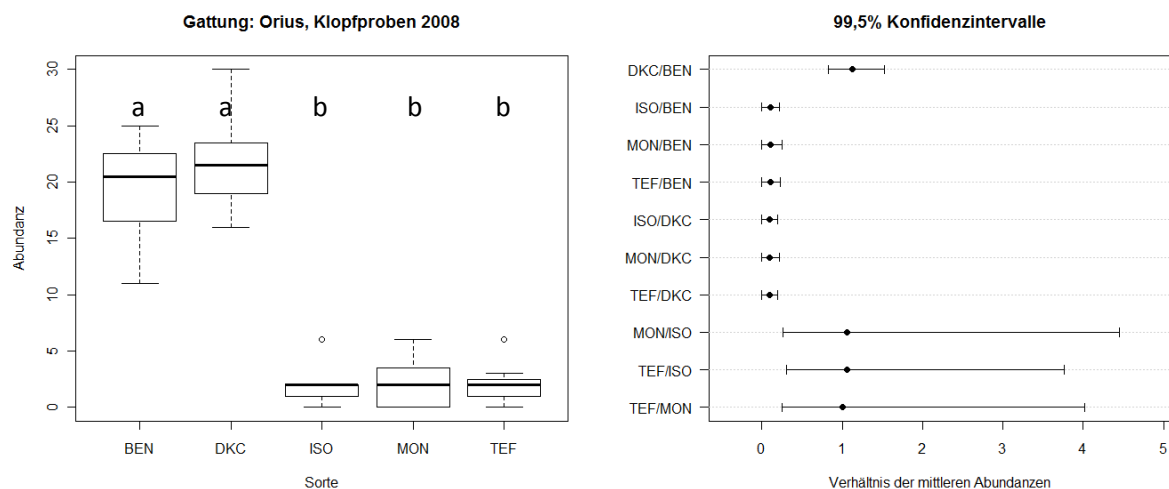


Abbildung 44: Darstellung der Verteilung von *Orius spec.* Vollblüte 2008 (adulte Tiere beider Geschlechter, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen in den männlichen Blütenständen zur jeweiligen Vollblüte, Beprobung am 30.07. (1-2) bzw. 05.08.2008 (3-5), pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden)

Tabelle 42: Übersicht über die ermittelten Abundanzen der Blumenwanze *Orius spec.* über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD gemittelt aus je acht Parzellen pro Sorte, Klopffproben aufaddiert aus je 5 Proben à 5 Pflanzen je Parzelle, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebtafelproben eine Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)

Art	Jahr	Methode	Datum	Maissorte bzw. -behandlung				
				Benicia	DKC 4250	DKC 5143	DKC 5143-Bt	Insektizid
<i>Orius spec.</i>	2008	Kescher	17.07.	0,63 ± 0,92	1,00 ± 1,07	0,88 ± 0,83	0,75 ± 0,89	0,50 ± 1,07
			18.08.	0,13 ± 0,35	1,50 ± 1,41	2,00 ± 1,69	0,88 ± 1,13	1,50 ± 1,31
			xx.09.	X	X	X	X	X
		Klebetafel	24.07. 7 d	0,38 ± 0,74	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,71	0,13 ± 0,35	0 ± 0
			30.07. 6 d	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35
			05.08. 5 d	1,75 ± 1,75	0,63 ± 0,74	0,75 ± 0,89	0,50 ± 0,53	0,25 ± 0,46
			13.08. 8 d	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			27.08. 8 d	0,13 ± 0,35	0,50 ± 0,76	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,46	0,13 ± 0,35
			03.09. 5 d	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
		Klopfen	30.07.	19,38 ± 4,57	21,75 ± 4,30	X	X	X
			05.08.	X	X	2,00 ± 1,77	2,13 ± 2,23	2,13 ± 1,81
	2009	Kescher	21.07.	0,25 ± 0,46	0,25 ± 0,71	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,46	0,13 ± 0,35
			18.08.	0,63 ± 1,06	0,50 ± 1,07	1,88 ± 1,25	0,63 ± 0,74	1,13 ± 1,25
			14.09.	0,38 ± 0,52	0,63 ± 1,19	1,13 ± 1,36	1,00 ± 1,07	X
		Klebetafel	23.07.	0,38 ± 0,74	0,13 ± 0,35	0,38 ± 0,52	0,63 ± 0,74	0,25 ± 0,46
			30.07.	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,46	0,75 ± 1,75	0 ± 0
			06.08.	0 ± 0	0,25 ± 0,46	0 ± 0	0,25 ± 0,46	0 ± 0
			13.08.	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,25 ± 0,71
			20.08.	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0
			ab 27.08.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
		Klopfen	07.08.	6,00 ± 3,02	X	X	X	X
			09.08.	3,25 ± 1,04	3,25 ± 1,39	X	X	X
			18.08.	1,13 ± 0,99	0,88 ± 1,13	2,00 ± 1,20	2,63 ± 3,07	2,00 ± 0,93
	2010	Kescher	25.07.	0,50 ± 0,76	0,63 ± 0,92	0,50 ± 0,76	0,38 ± 0,74	0,50 ± 1,07
			xx.08.	X	X	X	X	X
			21.09.	1,38 ± 1,06	2,75 ± 1,28	1,38 ± 0,92	1,50 ± 1,69	X
		Klebetafel	21.07.	0,38 ± 0,74	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,63 ± 1,06
			29.07.	0,38 ± 1,06	0,38 ± 0,74	0 ± 0	0,25 ± 0,46	0,25 ± 0,46
			05.08.	X	X	X	X	X
			12.08.	0 ± 0	0,25 ± 0,46	0 ± 0	0,25 ± 0,46	0 ± 0
			19.08.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0
			26.08.	0 ± 0	0 ± 0	0,25 ± 0,46	0 ± 0	0,13 ± 0,35
			02.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			09.09.	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			16.09.	0,38 ± 0,74	0,25 ± 0,46	0,50 ± 1,07	0 ± 0	0,25 ± 0,71
		Klopfen	05.08.	3,13 ± 2,42	X	X	X	X
			10.08.	2,00 ± 1,51	1,63 ± 1,06	3,50 ± 1,41	3,13 ± 2,36	X

Die größten Vorkommen konnten hier in den frühblühenden Blütenständen identifiziert werden, insbesondere im ersten Versuchsjahr. Die Klopffproben 2008 sind in Abbildung 44 dargestellt. Der statistisch signifikante und augenscheinliche Unterschied zwischen den erstblühenden Sorten Benicia (Median 20,5) und DKC 4250 (Median 21) und den spätblühenden Sorten DKC 5143, DKC 5143-Bt und der Insektizidbehandlung (Median jeweils ca. 2) konnte in den Folgejahren mit geringeren Zahlen reproduziert und durch die erhöhte Probenahmehäufigkeit als zeitlicher Aspekt aufgelöst werden.

5.1.4.2 *T. caelestialium* als Modellorganismus

Um das Schicksal der Cry-Proteine aus einem „stacked“ Bt-Mais in einem herbivoren Arthropoden als erster Stufe des Nahrungsnetzes aufzuklären, wurden verschiedene Untersuchungen im Labor durchgeführt. Dazu konnte im ersten Schritt eine Zuchtmethodik angepasst werden. Sie ist im Teil

„Methoden“ beschrieben. Einzeltiere wurden vom Feld in den Klimaschrank überführt und dort als Grundlage einer Zucht genutzt.

5.1.4.2.1 Fraßversuche zum Schicksal der Cry-Proteine

Zunächst wurden adulte Einzeltiere in *Bt*-Parzellen auf dem Versuchsfeld gefangen und vor Ort in flüssigem Stickstoff eingefroren. Die anschließend gemessenen Gehalte (Abbildung 45) sind vergleichbar mit denen der in Zucht auf DKC 5143-*Bt* gehaltenen Tiere, im Mittel (MW) konnte ein Gehalt von $7,91 \mu\text{g} / \text{g}$ mit einer Standardabweichung (SD) von $4,27 \mu\text{g} / \text{g}$ bestimmt werden.

Weitere adulte Einzeltiere wurden in konventionellen Parzellen gefangen und für drei bzw. vier Tage auf DKC 5143-*Bt* im Klimaschrank gehalten. Ihre internen Gehalte unterschieden sich nicht signifikant von den Adulten der F_1 -Generation, die ausschließlich auf DKC 5143-*Bt* aufwuchsen ($3 - 5 \mu\text{g} / \text{g}$ FG, Abbildung 45). Diese internen Gehalte entsprechen etwa einem Viertel der nachgewiesenen Proteinmenge in im Gewächshaus herangezogenen Blattmaterial (MW $17,41 \mu\text{g} / \text{g}$ FG, SD $4,62 \mu\text{g} / \text{g}$ FG).

Um aufzuzeigen, ob es in den Wanzen zu einem Abbau der Cry-Proteine kommt, wurden Wanzen nach 24 Stunden auf *Bt*-Mais auf die nah-isogene Sorte überführt und dort für zwei bis 18 Stunden belassen. Es zeigte sich, dass bereits nach sechs Stunden die Proteine komplett abgebaut oder ausgeschieden waren (Abbildung 45).

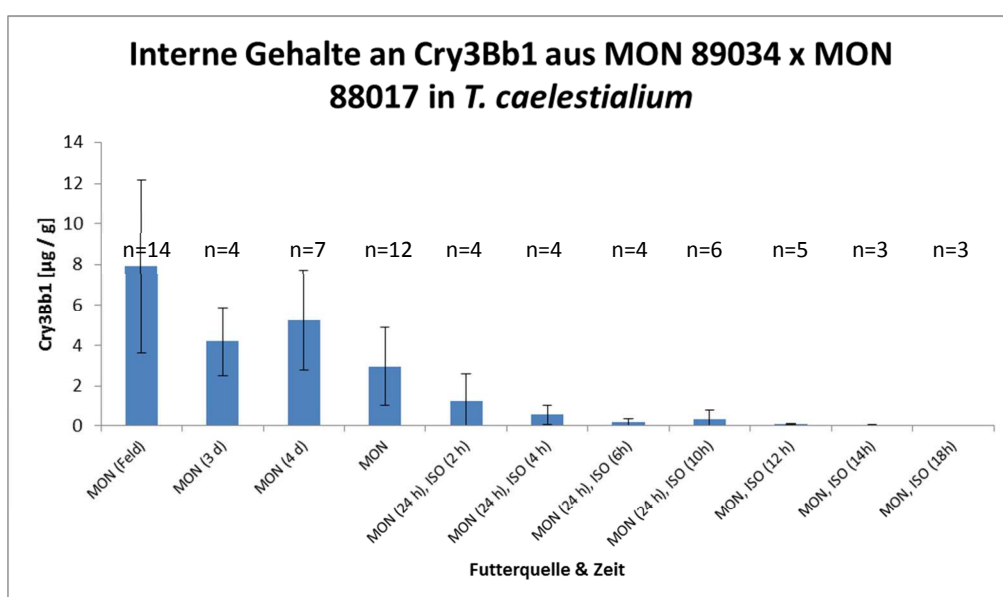


Abbildung 45: Interne Gehalte an Cry3Bb1 aus DKC 5143-*Bt* MON 89034 X MON 88017 (gemessen im ELISA, Behandlungen: MON (Feld) – Tiere aus MON-Parzellen Versuchsfeld; MON (3 d) – Tiere aus konv. Zucht, 3 Tage MON; MON (4 d) – Tiere aus konv. Zucht, 4 Tage MON; MON – Tiere aus MON-Zucht; MON (24 h), ISO (2-10 h) – Tiere aus konv. Zucht, dann 24 h MON, anschl. 2-10 h ISO; MON, ISO (12-18 h) – Tiere aus MON-Zucht, dann 12-18 h ISO)

5.1.4.2.2 Fraßmengenbestimmung

Um einen Einfluss der verfütterten Sorte auf die Nahrungsaufnahme der Wanzen zu evaluieren, wurden Blattstücke an adulte Wanzen der F_1 -Generation verfüttert und die gefressene Fläche jeweils

nach 24 Stunden dokumentiert und ausgewertet (Abbildung 46). Ein statistisch signifikanter Unterschied konnte nicht identifiziert werden.

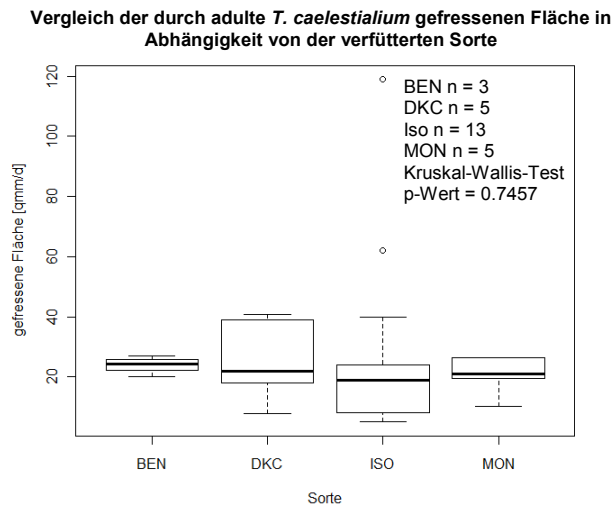


Abbildung 46: Vergleich der in 24 Stunden durch adulte *T. caelestialium* gefressenen Fläche in Abhängigkeit von der verfütterten Sorte (Auswertung mit Image J, statistische Auswertung mit Kruskal-Wallis-Test)

5.1.4.2.3 Full-Life-Cycle-Test

Im Full-Life-Cycle-Test wurden Wanzen der F_1 - und der F_2 -Generation durch ihren gesamten Lebenszyklus hinweg beobachtet und ihre Entwicklung täglich dokumentiert. Zunächst wurde die Eianzahl pro Weibchen untersucht, um einen Einfluss der GV-Maissorte auf die Reproduktion zu untersuchen.

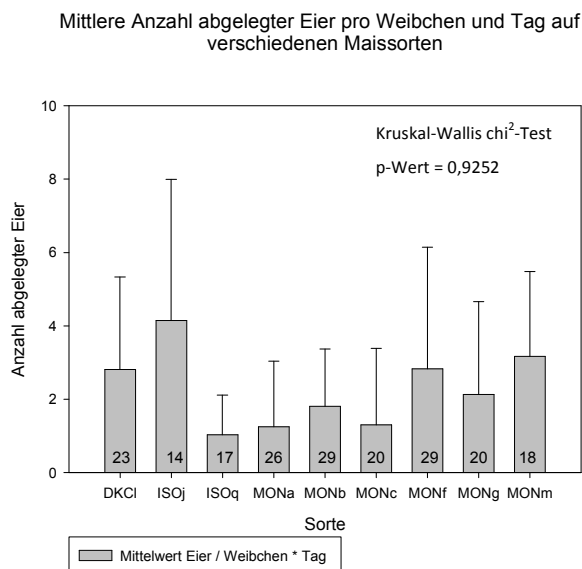


Abbildung 47: Untersuchung der Reproduktion der F_1 -Generation in Zucht gehaltener *T. caelestialium* in Abhängigkeit von der verfütterten Maissorte - Vergleich der mittleren Anzahl abgelegter Eier pro Weibchen und Tag (statistische Analyse mit einem Kruskal-Wallis-Test; Ziffern geben die Beprobungsdauer in Tagen an; Gesamtzahl der Eier im Versuch: 491 (MON), 76 (ISO), 50 (DKC); Indices geben die Versuchsgruppe (je 12 Tiere) an)

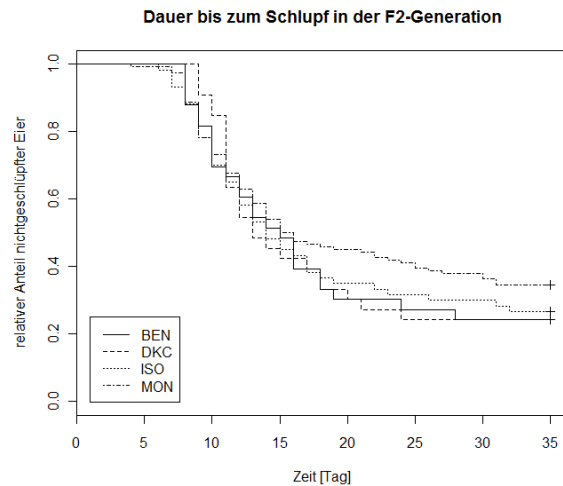


Abbildung 48: Untersuchung der Reproduktion der F₂-Generation in Zucht gehaltener *T. caelestialium* in Abhängigkeit von der verfütterten Maissorte - Vergleich des Zeitraumes zwischen Eiablage und Schlupf (statistische Analyse mit einem Likelihood-Quotienten-Test, $p=0,5737$; Gesamtzahl der Eier im Versuch: MON 120, ISO 60, DKC 33, BEN 33)

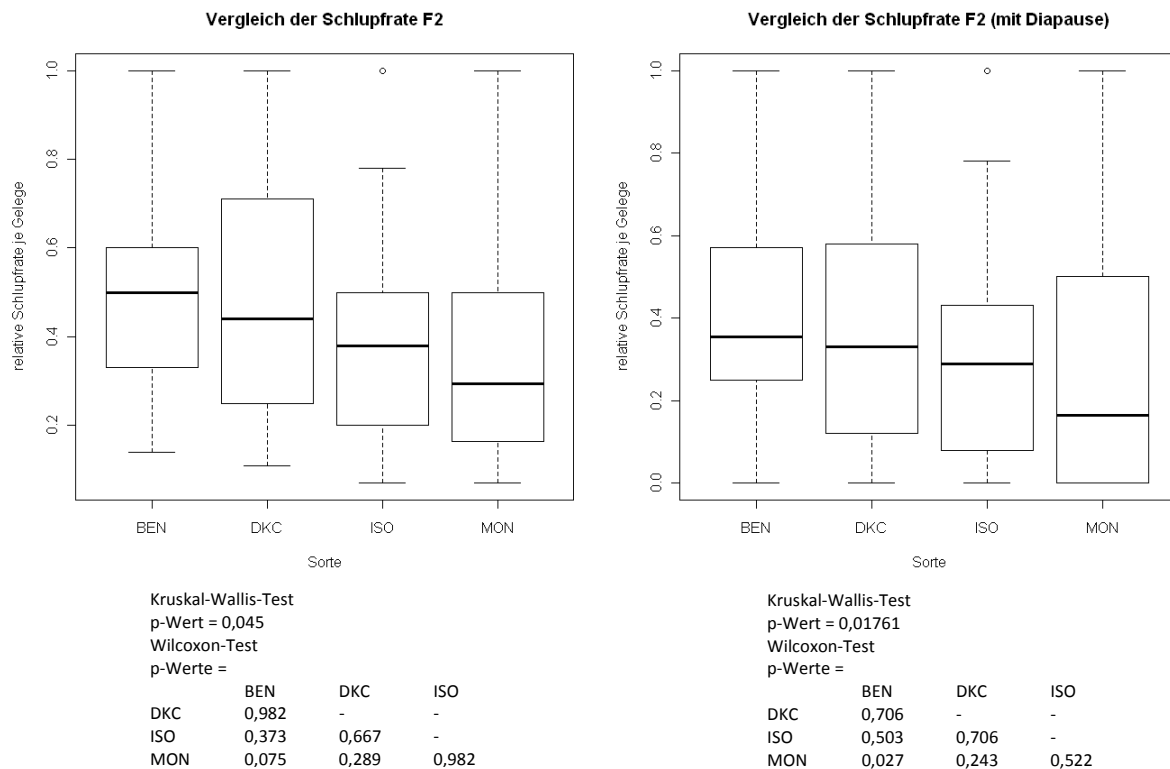


Abbildung 49: Untersuchung der Reproduktion der F₂-Generation in Zucht gehaltener *T. caelestialium* in Abhängigkeit von der verfütterten Maissorte - Vergleich der Schlupfrate (statistische Analyse mit einem Kruskal-Wallis-Test mit anschließendem Wilcoxon-Test; links: Schlupfrate als Quotient geschlüpfter und ungeschlüpfter Eier ohne Gelege in Diapause (0 % geschlüpft), rechts: Schlupfrate als Quotient aus geschlüpften und ungeschlüpften Eiern inkl. Eiern aus Gelegen mit 0 % Schlupf (Gelege in Diapause))

Da eine paarweise Haltung unabhängig vom Futterangebot durch die rasche Sterblichkeit der Männchen erschwert wird, wurden Gruppen von je 12 frisch gehäuteten Adulten jeweils auf einer Sorte verpaart und täglich die Eiablage sowie die Anzahl der lebenden Weibchen dokumentiert. Die Ergebnisse wurden mit einem Kruskal-Wallis-Test analysiert und in Abbildung 47 zusammengefasst. Ein statistisch signifikanter Effekt konnte nicht beobachtet werden. Weiterhin wurde die Dauer von

der Eiablage bis zum Schlupf in der F_2 -Generation in Abhängigkeit der Nahrung der P- und F_1 -Generation untersucht und in einem Kaplan-Meier-Graphen dargestellt (Abbildung 48). Ein statistisch signifikanter Unterschied konnte nicht gezeigt werden. Die Schlupfrate wurde einerseits kalkuliert als der Quotient aus den geschlüpften und den ungeschlüpften Eiern aller Gelege (Abbildung 49 rechts). In einer weiteren Berechnung wurden nur die Gelege, in denen überhaupt mindestens ein Schlupfereignis vorkam (Abbildung 49 links), einbezogen, um diejenigen Gelege, die aufgrund von Diapause nicht schlüpften, aus der Betrachtung auszuschließen. In beiden Betrachtungsweisen konnte im Kruskal-Wallis-Test ein statistisch signifikanter Unterschied identifiziert werden. Um diesen weiter einzugrenzen, wurden ein paarweiser Wilcoxon-Test angeschlossen. Er zeigt in der Betrachtung ohne Diapause keine Signifikanz, im Fall der Betrachtung mit den in Diapause befindlichen Eiern zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Sorte Benicia und der GV-Maissorte.

Als letztes Faktor wurde die Zeitspanne zwischen Schlupf und der letzten Häutung zum adulten Tier, als die Zeit der Nymphenentwicklung, und die Sterblichkeit während dieses Zeitraumes verglichen. Die dort gewonnenen Daten wurden in einer Kaplan-Meier-Darstellung aufgetragen und mit einem Chi-Quadrat-Test verglichen (Abbildung 50). Auf der zweiten Achse sind dabei die Anteile an der Gesamtuntersuchungsgruppe aufgetragen, die zu einem bestimmten Zeitpunkt noch juvenil waren. Jedes Kreuz repräsentiert eine adulte werdende Nymphe, während jede Stufe eine oder mehrere verstorbene Nymphen anzeigt.

Statistisch signifikante Unterschiede lassen sich in der F_1 -Generation zwischen zwei Gruppen Mais ausmachen. Die konventionellen Sorten Benicia und DKC 4250 gruppieren sich signifikant verschieden von den Sorten DKC 5143 und DKC 5143-Bt. Dieser Unterschied ist in der F_2 -Generation nicht auszumachen, hier liegt die Sterblichkeit jedoch insgesamt etwas höher. Unterschiede in der Entwicklungszeit zum Adulten werden in Abbildung 51 dargestellt. In der 1. Nachkommengeneration zeigt sich im Likelihood-Quotienten-Test ein p-Wert von 3.211×10^{-5} . Diese Unterschiede finden sich zwischen den verschiedenen Sorten in Chi-Quadrat-Tests wieder. Insgesamt erfolgt die Entwicklung im GV-Mais am schnellsten, während sie in der Sorte DKC 4250 am längsten dauert.

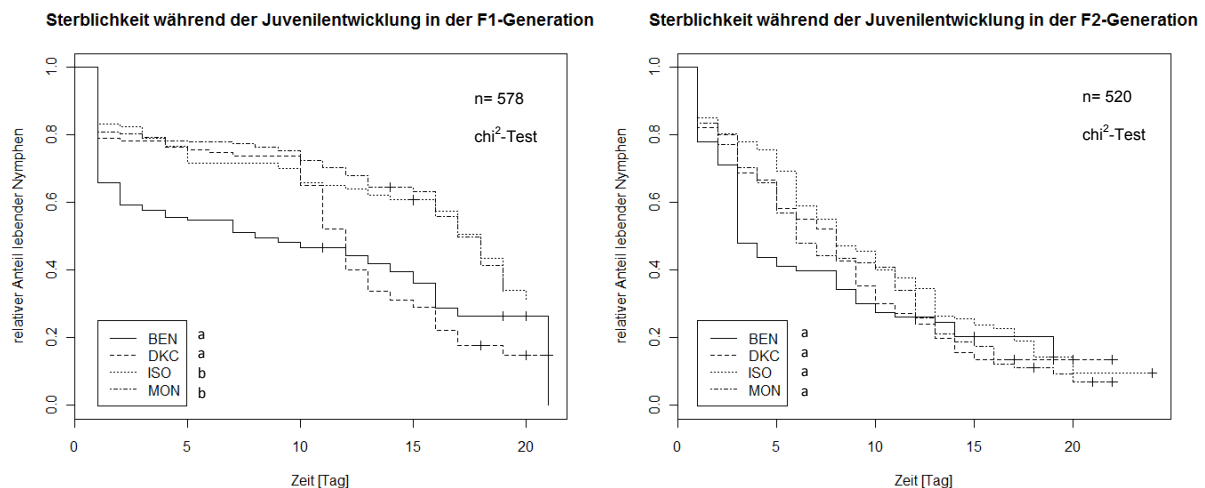


Abbildung 50: Untersuchung der Reproduktion der F_1 - und F_2 -Generation in Zucht gehaltener *T. caelestialium* in Abhängigkeit von der verfütterten Maissorte - Vergleich der Sterblichkeit während der Nymphenentwicklung (statistische Analyse mit einem Likelihood-Quotienten-Test, Sorten mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden)

Dauer der Juvenilentwicklung vom Schlupf bis zum Adulten in der F₁-Generation

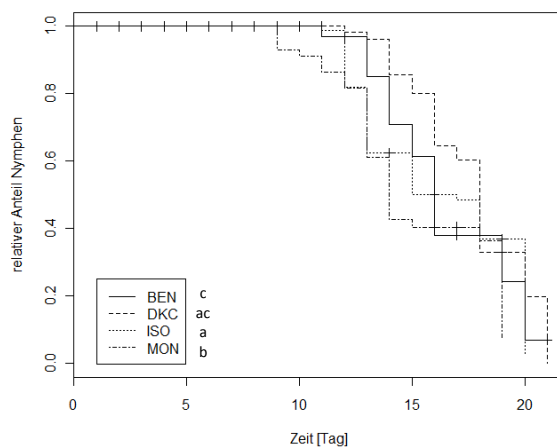


Abbildung 51: Untersuchung der Reproduktion der F₁-Generation in Zucht gehaltener *T. caelestialium* in Abhängigkeit von der verfütterten Maissorte - Vergleich der Nymphenentwicklungsdauer (statistische Analyse mit einem Likelihood-Quotienten-Test, Sorten mit gleichen Buchstaben (a, b, c) statistisch nicht signifikant verschieden)

5.1.4.2.4 Biotest mit *Ostrinia nubilalis*

Um die Bioaktivität der Cry-Proteine in *T. caelestialium* nachzuweisen, wurde ein Biotest mit dem Zielorganismus *Ostrinia nubilalis*, dem Maiszünsler, durchgeführt. Vorab wurden Versuche mit den reinen Proteinen Cry1A.105 und Cry2Ab2 durchgeführt, um eine Abschätzung der Sensibilität der verwendeten *O. nubilalis*-Larven durchzuführen und die nötige Aufkonzentrierung der Extrakte planen zu können. Dabei wurden mit den Proteinen die in Tabelle 43 aufgeführten LC₅₀-Werte ermittelt. Insgesamt wurden 812 Larven getestet (Tabelle 44).

Tabelle 43: Im Biotest ermittelte LC₅₀-Werte

Protein	Konzentration auf der Oberfläche	Konzentration in Lösung
Cry1A.105	9,74 ng / cm ² Diät	172,55 ng / ml
Cry2Ab2	263,23 ng / cm ² Diät	4659,20 ng / ml

Tabelle 44: Im Biotest getestete *Ostrinia nubilalis*-Larven

Proteine	Gesamtzahl der getesteten Larven
Cry1A.105	240
Cry2Ab2	160
Cry1A.105 + Cry2Ab2	80
<i>T. caelestialium</i>	59
Kontrollen	219

Extrakte aus positiv auf die verschiedenen Cry-Proteine getesteter Einzeltieren wurden zu zwei Sammelproben vereinigt, um mit größeren Volumina arbeiten zu können. Diese beiden Sammelproben konnten im ELISA positiv auf die beiden lepidopterenspezifischen Cry-Proteine getestet werden. Im *Ostrinia*-Test konnte trotz Aufkonzentration um den Faktor 4 kein letaler Effekt auf die Testorganismen beobachtet werden. In einer Wiederholung im JKI Darmstadt wurde mit dem Konzentrat der zweiten Sammelprobe eine Mortalität von 17 % der eingesetzten Zünslerlarven beobachtet. Die Konzentration dieses Konzentrats wurde im ELISA für Cry3Bb1 auf 17,71 ng /ml bestimmt, für Cry 1A.105 auf 8,22 ng / ml und für Cry2Ab2 auf 13,5 ng /ml bestimmt.

5.1.5 Andere Arthropoden

Neben den oben vorgestellten Arthropoden konnten noch verschiedene andere Insekten aus verschiedenen Familien auf dem Versuchsfeld nachgewiesen werden. Auf eine Artbestimmung z.B. der verschiedenen Fliegen wurde verzichtet. Einige Organismen wie *O. nubilalis* (Maiszünsler) traten nur als einmalige Einzelfänge auf und wurden daher auch nicht aufgeführt.

Neben den Wanzen, Zikaden, Käfern und Thripsen wurden jedoch repräsentative Abundanzen der in Tabelle 45 aufgeführten Familie der Hemerobiidae (Taghafte) sowie der grünen Florfliege *Chrysoperla carnea* und der Familie der Syrphidae (Schwebfliegen, nur 2009 und 2010 gezählt) ermittelt, die im Folgenden kurz dargestellt werden.

Tabelle 45: Systematische Übersicht über weitere erhobene Arthropodengemeinschaften (dominierende Taxa sind hervorgehoben)

Neuroptera	Hemerobiidae	z.B. <i>Micromus spec.</i>
	Chrysopidae	<i>Chrysoperla carnea</i>
Diptera	Syrphidae	

Die Abundanz der Taghaften wurde mit dem Kescher und auf Klebtafeln ermittelt. Tendenziell wurden in Benicia stets weniger Tiere gefangen als in den anderen Sorten (Tabelle 46). Die Übersicht der ermittelten statistisch signifikanten Unterschiede findet sich in Tabelle 47. Im dritten Versuchsjahr wurden nur einzelne Tiere gefangen.

Tabelle 46: Übersicht über die ermittelten Abundanzen der Taghaften (Hemerobiidae) über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD gemittelt aus je acht Parzellen pro Sorte, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebtafelproben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)

Art	Jahr	Methode	Datum	Maissorte bzw. –behandlung						
				Benicia	DKC 4250	DKC 5143	DKC 5143- <i>Bt</i>	Insektizid		
Hemerobiidae	2008	Kescher	17.07.	2,50 ± 1,85	2,38 ± 1,92	2,63 ± 3,46	7,13 ± 3,94	1,50 ± 1,41		
			18.08.	1,75 ± 1,04	1,63 ± 1,51	2,63 ± 2,39	3,00 ± 1,93	4,38 ± 2,00		
			xx.09.	X	X	X	X	X		
		Klebetafel	24.07. 7 d	2,25 ± 1,49	3,75 ± 2,87	2,50 ± 1,51	3,63 ± 3,07	2,25 ± 1,75		
			30.07. 6 d	0,75 ± 1,16	0,88 ± 0,83	1,75 ± 1,04	1,25 ± 0,89	1,50 ± 0,76		
			05.08. 5 d	1,88 ± 1,25	3,50 ± 2,39	1,88 ± 0,99	1,75 ± 1,04	3,25 ± 1,28		
			13.08. 8 d	3,00 ± 2,33	3,63 ± 4,34	2,00 ± 1,07	3,00 ± 2,07	4,50 ± 2,39		
			27.08. 8 d	0,50 ± 0,76	0,63 ± 0,74	1,25 ± 1,04	2,25 ± 1,67	2,13 ± 2,59		
			03.09. 5 d	0,38 ± 0,74	0,13 ± 0,35	0,88 ± 0,99	0,50 ± 0,93	0,63 ± 0,74		
			2009	Kescher	21.07.	0,38 ± 0,52	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
					18.08.	1,63 ± 0,74	2,75 ± 3,62	7,50 ± 5,83	4,38 ± 2,45	0 ± 0
					14.09.	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0 ± 0	7,00 ± 5,53	X
	Klebetafel	23.07.		1,63 ± 1,19	1,13 ± 0,83	0,88 ± 0,83	0,25 ± 0,71	1,00 ± 0,93		
		30.07.		1,63 ± 1,60	3,86 ± 2,19	1,38 ± 1,06	1,25 ± 1,16	1,75 ± 1,04		
		06.08.		2,13 ± 1,46	4,63 ± 2,88	3,13 ± 1,81	2,50 ± 1,85	2,50 ± 1,77		
		13.08.	2,63 ± 1,06	4,88 ± 3,14	5,13 ± 2,70	5,13 ± 2,36	4,00 ± 2,39			
		20.08.	1,88 ± 1,25	5,88 ± 2,17	7,00 ± 3,02	9,25 ± 3,49	6,88 ± 2,23			
	2010		27.08.	0,88 ± 1,13	2,00 ± 1,77	4,50 ± 1,77	2,50 ± 1,85	3,63 ± 2,62		
			03.09.	0,88 ± 1,13	1,38 ± 0,74	1,50 ± 1,41	2,38 ± 1,92	0,63 ± 1,06		
			10.09.	0 ± 0	0,50 ± 1,07	0,88 ± 0,99	1,00 ± 0,53	0,38 ± 0,52		
				Nur Einzelfunde						

Beispielhaft ist in Abbildung 52 die Verteilung der Taghaften im Frühsommer 2008 dargestellt. Eine erhöhte Abundanz kann statistisch signifikant für die gentechnische Variante beschrieben werden.

Um diesen vermeintlich fördernden *Bt*-Effekt einordnen zu können, wurden ebenfalls die Daten für den nächsten Probenahmezeitpunkt im Hochsommer dargestellt (Abbildung 53).

Tabelle 47: Übersicht über statistisch signifikante nachweisbare Unterschiede für die Familie der Taghaften (Nachweis über Konfidenzintervalle, die geringere Abundanz zeigt sich in der jeweils erstgenannten Maissorte: BEN – Benicia, DKC – DKC 4250, ISO – DKC 5143, MON – DKC 5143-Bt, TEF – Insektizidbehandlung)

Jahr	Methode	Termin	Sorten
2008	Kescher	17.07.	BEN, DKC, TEF / MON
		18.08.	BEN / TEF
	Klebetafel	05.08.-13.08.	ISO / TEF
		19.08.-27.08.	BEN / MON
2009	Kescher	18.08.	BEN / ISO, MON, TEF
	Klebetafel	23.07.-30.07.	ISO, MON / DKC
		06.08.-13.08.	BEN / MON
		13.08.-20.08.	BEN / DKC, ISO, MON, TEF
		20.08.-27.08.	BEN / ISO, TEF

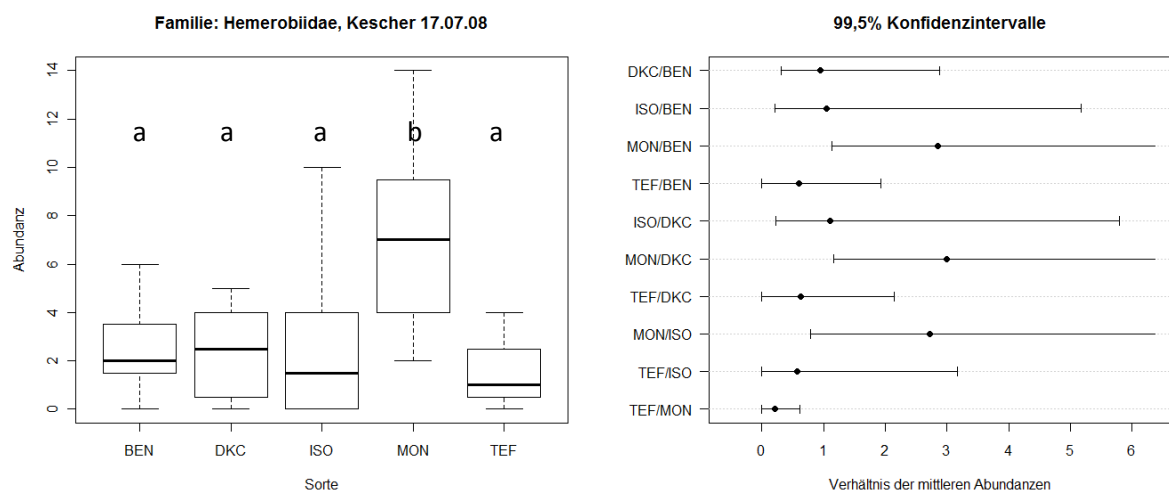


Abbildung 52: Darstellung der Verteilung der Taghaften im Frühsommer 2008 (adulte Tiere beider Geschlechter, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Kescher, Beprobung am 17.07.2008, pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden)

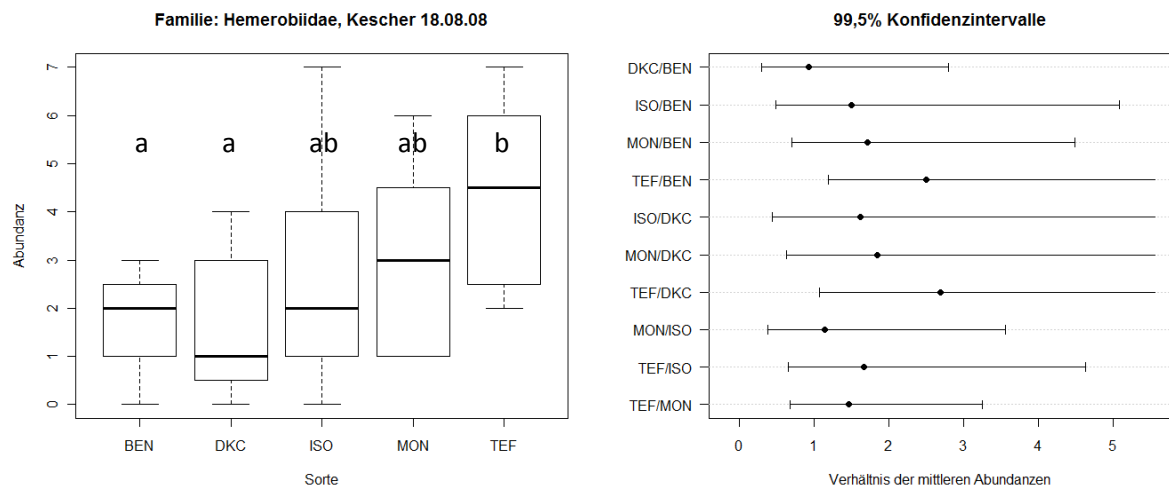


Abbildung 53: Darstellung der Verteilung der Taghaften im Hochsommer 2008 (adulte Tiere beider Geschlechter, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Kescher, Beprobung am 18.08.2008, pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden)

Hier kann ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Sorten Benicia und DKC 4250 einerseits und der Insektizidvariante andererseits nachgewiesen werden, während die Abundanzen in der gentechnischen und ihrer nah-isogenen Variante sich dazwischen eingruppierten. Im Vergleich zu den Abundanzen der Taghaften, zeigt sich das Vorkommen der grünen Florfliege *Chrysoperla carnea* aus der Familie der Chrysopidae nur in Einzelfunden (2008: 27 Tiere, 2010: 49 Tiere) oder in geringen durchschnittlichen Abundanzen (2009). Eine statistische Auswertung dieser Daten (Tabelle 48) zeigte keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Tabelle 48: Übersicht über die ermittelten Abundanzen der grünen Florfliege *Chrysoperla carnea* über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (Mittelwerte mit Standardabweichung gemittelt aus je acht Parzellen pro Sorte, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebetafelproben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)

Art	Jahr	Methode	Datum	Maissorte bzw. -behandlung				
				Benicia	DKC 4250	DKC 5143	DKC 5143-Bt	Insektizid
<i>Chrysoperla carnea</i>	2008	Kescher	17.07.	Nur Einzelfunde (11 Tiere)				
			18.08.					
			xx.09.	X	X	X	X	X
		Klebetafel	24.07. 7 d	Nur Einzelfunde (16 Tiere)				
			30.07. 6 d					
			05.08. 5 d					
			13.08. 8 d					
			27.08. 8 d					
			03.09. 5 d					
	2009	Kescher	21.07.	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
			18.08.	0,25 ± 0,46	0,75 ± 1,04	1,50 ± 1,77	0,63 ± 0,52	1,50 ± 1,69
			14.09.	0 ± 0	0,25 ± 0,46	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0 ± 0
		Klebetafel	23.07.	1,88 ± 2,70	1,38 ± 1,30	0,50 ± 0,53	1,25 ± 1,28	1,00 ± 1,41
			30.07.	0 ± 0	0,57 ± 0,79	0,75 ± 0,89	0,50 ± 1,07	0,63 ± 0,74
			06.08.	0,38 ± 0,74	1,00 ± 1,20	1,00 ± 1,41	1,38 ± 1,41	0,88 ± 1,36
			13.08.	0,25 ± 0,46	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,50 ± 0,53	0,13 ± 0,35
			20.08.	0,38 ± 0,52	0,88 ± 0,64	0,63 ± 0,52	0,88 ± 1,13	0,75 ± 1,16
			27.08.	0,25 ± 0,46	0,25 ± 0,46	0,88 ± 1,13	0,63 ± 0,74	0,38 ± 0,52
			03.09.	0 ± 0	0,25 ± 0,46	0,13 ± 0,35	0,38 ± 0,52	0,25 ± 0,46
			10.09.	0 ± 0	0 ± 0	0,13 ± 0,35	0,13 ± 0,35	0 ± 0
	2010	Kescher	25.07.	Einzelfunde (9 Tiere)				
			xx.08.	X	X	X	X	X
			21.09.	Einzelfunde (3 Tiere)				
		Klebetafel	21.07.	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,46	0,50 ± 0,53	0,13 ± 0,35	0,38 ± 0,52
			29.07.	0,13 ± 0,35	0,25 ± 0,46	0,75 ± 0,89	0,25 ± 0,46	0,63 ± 1,19
			05.08.	X	X	X	X	X
			12.08.	Einzelfunde (10 Tiere)				
			19.08.					
			26.08.					
			02.09.					
			09.09.					
			16.09.					

Im Jahr 2009 zeigten sich auf den Klebetafeln große Mengen an Syrphidae (Schwebfliegen). Aufgrund des schlechten Zustandes der Tiere auf den Klebetafeln konnten sie nicht bis zur Art bestimmt, sondern lediglich als Familie gezählt werden. Beispielhaft wird ihre Verteilung in Abbildung 54 dargestellt. Ein statistisch signifikanter Unterschied kann zwischen Benicia und DKC 4250 einerseits und DKC 5143, DKC 5143-Bt sowie DKC 5143 mit Insektizidbehandlung angenommen werden. Dieser Trend zeigt sich auch bei der ersten Klebetafelprobe (BEN / ISO, MON, TEF sowie DKC / MON, TEF) und der dritten Probe (BEN / ISO, MON, TEF sowie DKC / ISO). Anschließend traten die Schwebfliegen nur noch in Einzelfängen auf. Im Jahr 2010 traten Schwebfliegen nur vereinzelt auf, die höchsten Abundanzen wurden in der Woche vom 22.-29.07.2010 ermittelt mit einem maximalen Medianwert

von 3 Tieren pro Parzelle in der nah-isogenen Variante (auch mit Insektizidbehandlung). Hier wurden keine signifikanten Unterschiede identifiziert.

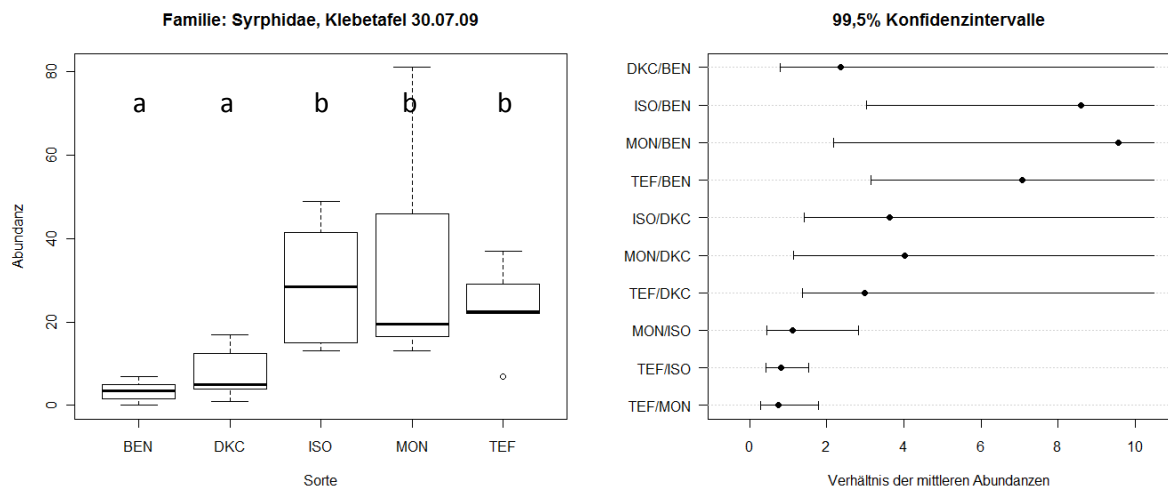


Abbildung 54: Darstellung der Verteilung der Schwebfliegen im Frühsommer 2009 (adulte Tiere beider Geschlechter, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanz auf Klebtafeln, Beprobung vom 23.07.-30.07.2009, pro Parzelle eine Klebtafel; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanz mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden)

5.1.6 Einfluss der Feldbewässerung

Um den Einfluss der Feldbewässerung auf die Arthropodengemeinschaft zu untersuchen, wurde im Sommer 2010 ein zusätzlicher Versuch auf einer benachbarten Feldfläche durchgeführt. Es konnten dieselben Familien und Arten identifiziert werden wie auf dem Hauptversuchsfeld. Die Abundanz waren ähnlich dem Hauptversuch im selben Zeitraum niedrig, dennoch konnten Tendenzen identifiziert werden. Die mittleren Abundanz der Gruppen der Schwebfliegen, der Wanzen, der Zikaden, der Marienkäfer sowie der als *Micromus spec.* etc. bezeichneten Hemerobiidae pro Woche und Klebtafel sind in Abbildung 55 dargestellt. Tendenziell zeigen sich im unbewässerten Feldteil immer mehr Tiere als im bewässerten Feldteil, mit Ausnahme der Hemerobiidae, die nur in Einzelfunden in beiden Teilen gleichmäßig auftauchen.

Diese Tendenzen wurden in einem paarweisen Wilcoxon-Test mit Holmanpassung des p-Wertes auf statistische Signifikanz überprüft. In der Woche vom 12.08.-19.08.2010 konnten signifikante Unterschiede in der Verteilung der Marienkäfer ($p = 0,032$) und der Zikaden ($p = 0,030$) identifiziert werden.

Einfluss der Bewässerung auf verschiedene Organismengruppen (Sommer 2010)

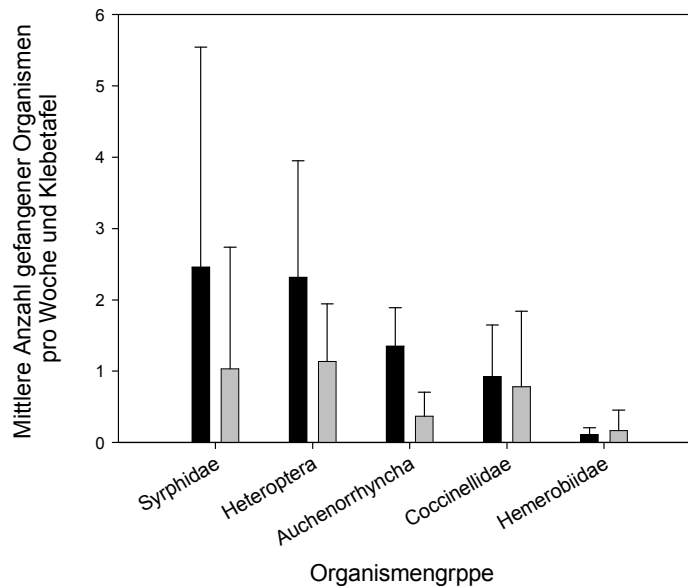


Abbildung 55: grafische Darstellung des Einflusses der Feldbewässerung auf verschiedene Organismengruppen im Sommer 2010 (Mittelwerte der Anzahl der gefangenen Tiere pro Woche und Klebetafel im beregneten (grau) und trockenen (schwarz) Feldteil, Probenahme in den Wochen vom 28.07.-01.09.)

5.2 Lumbriciden

5.2.1.1 Felddaten

Die auf dem Feld gefangenen Lumbriciden wurden lediglich stichprobenartig bis zur Art bestimmt (Tabelle 49). Für die weitere Analyse wurde die Lumbricidengemeinschaft in ihrer Gesamtheit genutzt, da überwiegend juvenile Tiere gefangen wurden und diese nicht bis zur Art bestimmt werden können.

Tabelle 49: Systematischer Überblick über die vorhandenen Lumbriciden auf Gattungsniveau mit einzelnen vorkommenden Arten auf der Feldversuchsfläche 2008-2010

<i>Lumbricus</i> u.a.	<i>L. terrestris</i>
	<i>L. meliboes</i>
<i>Allolobophora</i> u.a.	<i>A. caliginosa f. trapezoides</i>
	<i>A. antipai f. typica</i>
<i>Dendrobaena</i>	<i>D. veneta</i>

Exemplarisch auf dem Feld in einer Bt-Parzelle (A1, MON) und einer Parzelle mit der konventionellen Sorte DKC 4250 (A4, DKC) gefangene Regenwürmer wurden auf Unterschiede im Gewicht hin untersucht. Da sich im Shapiro-Wilk-Test keine Normalverteilung der Messwerte feststellen ließ (MON $p = 0,01049$, DKC $p = 0,04053$), wurde der Kruskal-Wallis-Test angewandt. Es konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden ($p = 0,9374$, Abbildung 56).

Vergleich der Gewichte im Feld gefangener Regenwürmer

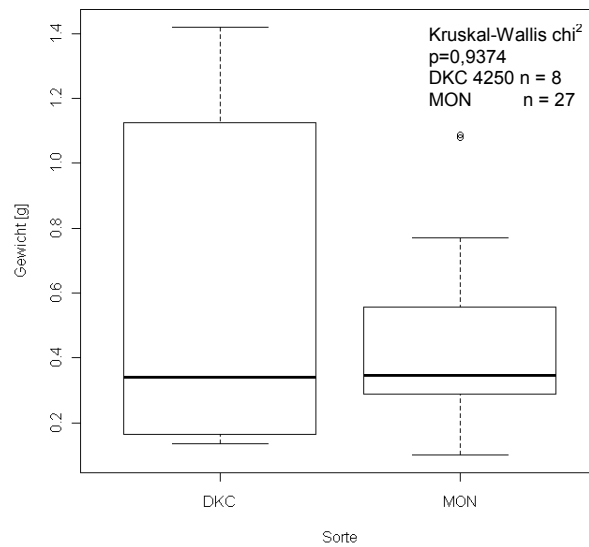


Abbildung 56: Vergleich der Gewichte von im Feld gefangenen Lumbriciden (20.04.2010, DKC Parzelle A4, MON Parzelle A1, Analyse mit dem Kruskal-Wallis Chi-Quadrat-Test)

Diese Tiere wurden in einem ELISA auf ihren Gehalt an den verschiedenen Cry-Proteinen gemessen. Es konnte kein Gehalt an Cry3Bb1 oder Cry2Ab2 ermittelt werden.

Regenwurmdichte Feldversuch 2008-2010

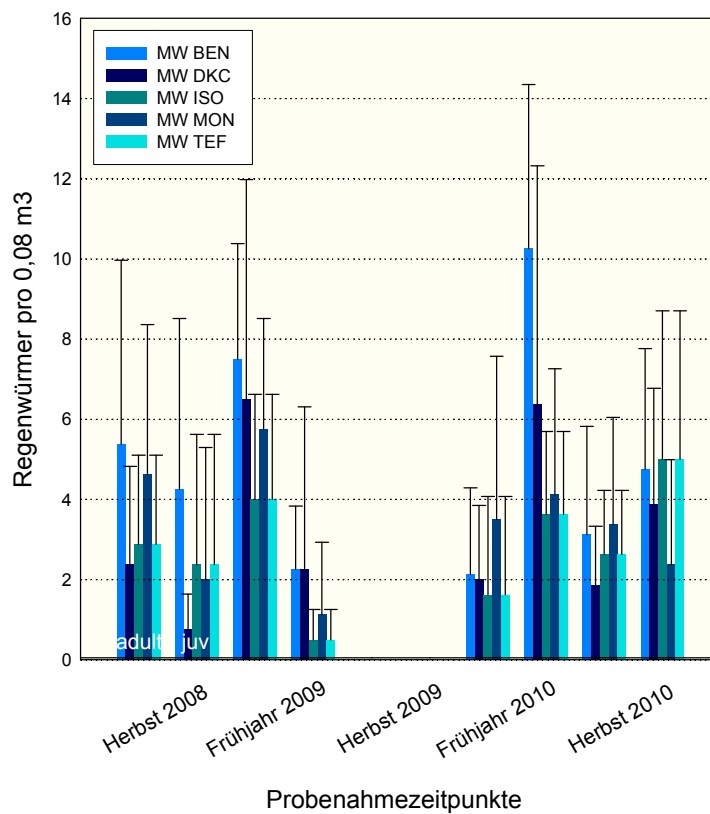


Abbildung 57: Darstellung der Verteilung der Lumbriciden auf dem Feld zu allen Probenahmezeitpunkten (jeweils adult & juvenil)

In jeder Feldsaison wurden vor der Aussaat und nach der Ernte Regenwurmproben genommen. Diese Daten sind in Abbildung 57 als Mittelwert (MW) pro Sorte dargestellt. Die Dichten wurden dabei jeweils für die adulten und die juvenilen Lumbriciden getrennt dargestellt. Die Probenahme im Herbst 2009 wurde zwar durchgeführt, führte aber in den Parzellen A1-A8, B1-B8 und C1-4 nur zu insgesamt vier Einzelfängen, so dass sie anschließend eingestellt wurde und in der Darstellung daher fehlt. Ein klares Verteilungsmuster lässt sich nicht erkennen. Tendenziell scheint die Dichte in den Parzellen der Sorte Benicia etwas erhöht. Eine statistische Untersuchung wird im Folgenden pro Probenahme durchgeführt.

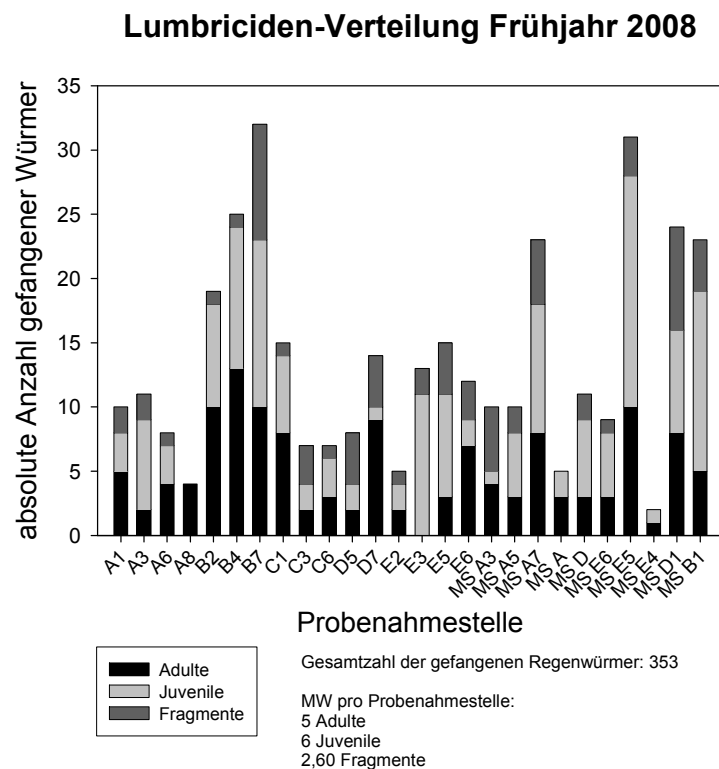


Abbildung 58: Verteilung der Regenwürmer auf der Feldversuchsfläche vor Beginn des Freisetzungsversuchs (Frühjahr 2008, Probenahmestellen bezeichnet in Anlehnung an das spätere Feldversuchsdesign, MS – Probenahme in der Mantelsaat, z.B. MS A3 – Probenahme auf Höhe der Parzelle A3)

Zu Beginn des Versuchs wurde eine Bestandserhebung auf der Freisetzungsfläche durchgeführt. Dazu wurde im Frühjahr 2008 an 26 ausgewählten, über die gesamte Feldfläche verteilten Standorten eine Probenahme zum Ursprungszustand durchgeführt. Die dort erhobenen Daten sind in Abbildung 58 dargestellt. Insgesamt wurden bei dieser Probenahme 353 Lumbriciden gefangen¹⁴, dies entspricht im Mittel fünf adulten und sechs juvenilen Würmern pro Probenahmestelle. Durchschnittlich 2,6 Würmer konnten nur noch als Fragmente sichergestellt werden und nicht gesichert einer der beiden Altersgruppen zugeordnet werden.

Insgesamt zeigte sich bei dieser Probenahme eine sehr heterogene Verteilung der Regenwürmer auf der Feldfläche. In manchen Parzellen wie B7 konnten mit insgesamt 33 Würmern wesentlich mehr Würmer als im Mittel gefunden werden, während in anderen Parzellen wie A8 mit vier Würmern wesentlich weniger gefunden wurden. Auch der Anteil der juvenilen Würmer am Gesamtfund schwankte beträchtlich zwischen 0 % in A8 und 100 % der zu Parzelle E3 zugeordneten Würmer. Zu diesem Probenahmezeitpunkt konnte für die gesamte Lumbricidenpopulation ein Mittelwert von 13,6 Würmern pro 0,2025 m² ermittelt werden, dies entspricht einer mittleren Dichte von 76,2 Würmern pro m².

Die weiteren Probenahmen wurden grafisch dargestellt. Dazu wurden die beiden Parallelen jeder Probenahme gemittelt und anschließend alle 40 Parzellen in einem Diagramm gezeigt. In Abbildung 59 wurden beispielhaft die Probenahmen im Herbst 2008 (links) und im darauffolgenden Frühjahr 2009 (rechts) dargestellt. Bei der Darstellung wurde unterschieden nach Adulten (oben) und Juvenilen (unten).

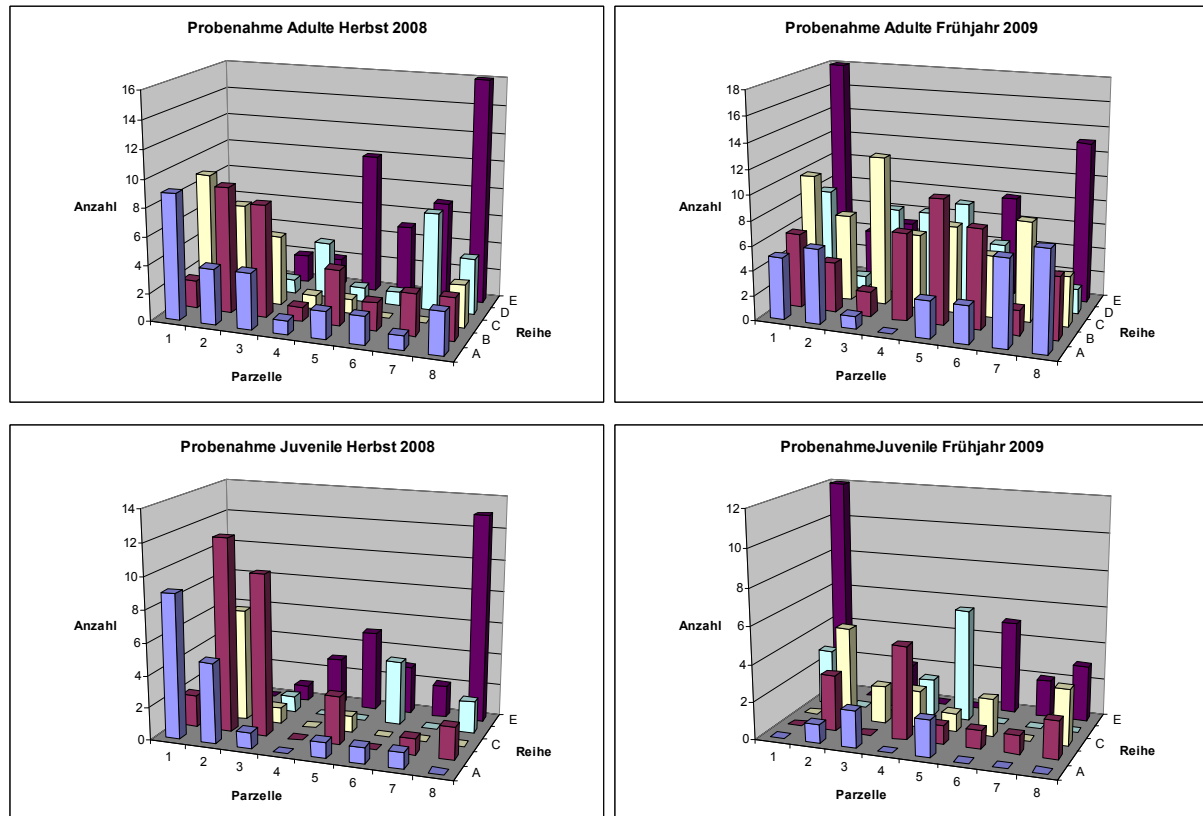


Abbildung 59: Verteilung der Lumbriciden-Gemeinschaft auf dem Versuchsfeld zu ausgewählten Probenahmezeitpunkten (links oben: Adulte Herbst 2008, rechts oben: Adulte Frühjahr 2009, links unten: Juvenile Herbst 2008, rechts unten: Juvenile Frühjahr 2009)

Es zeigen sich maximale Fangzahlen von 16 (Herbst 2008) bzw. 18 (Frühjahr 2009) Tieren pro 0,2025 m², dies entspricht einer maximalen Besiedelung von 79 bzw. 88,8 Tieren / m² bei den Adulten und 13 bzw. 12 juvenilen Würmern pro Probenahme, einer maximalen Besiedelung von 64,2 bzw. 59,3 Würmern / m². Insgesamt zeigt sich auch hier die Heterogenität des gesamten Feldes. Ein Sorteneffekt kann aus dieser Abbildung nicht abgeleitet werden. Um weitergehend die Daten zu analysieren, wurde daher, aufsummiert über die Zeitpunkte Herbst 2008 bis Herbst 2010 der Datensatz, als Boxplot dargestellt (Abbildung 60).

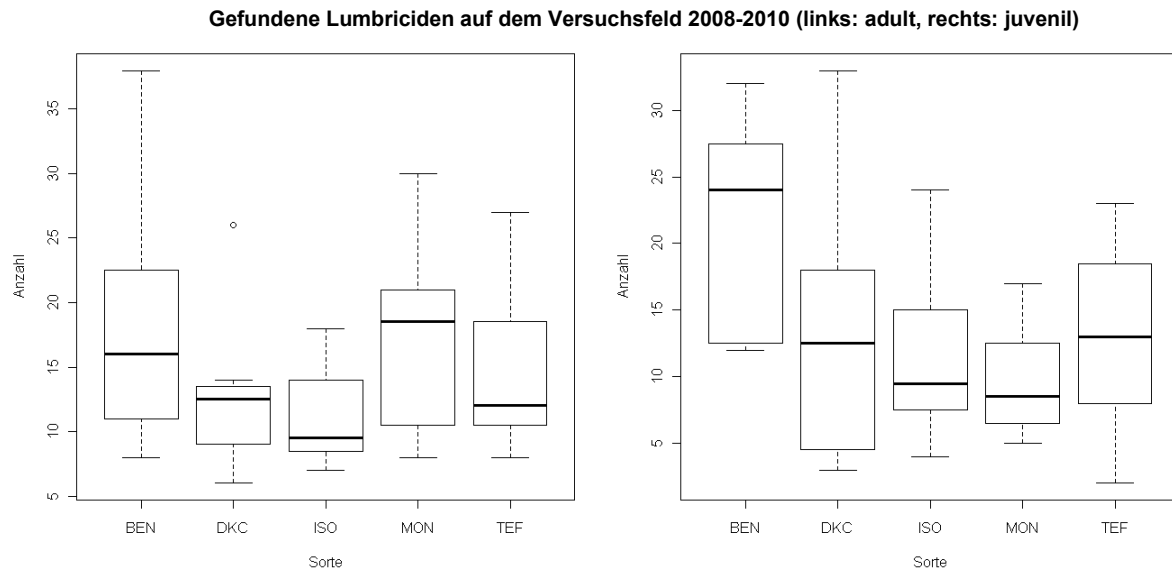


Abbildung 60: Boxplotdarstellung der Aufsummierung aller gesammelten Würmer je Plot aller Probenahmen (links: Adulte, rechts: Juvenile)

Hier zeigt sich in beiden Darstellungen eine breite Streuung der Messwerte für die Parzellen der Sorte Benicia mit einem Median von 16 bzw. 24 Tieren (adult / juvenil). Um statistisch signifikante Unterschiede auszumachen, wurde nach dem Nachweis der Normalverteilung und der Varianzhomogenität für beide Datensätze eine ANOVA durchgeführt. Im Fall der Adulten zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen ($p = 0,2471$). Der Datensatz der Juvenilen zeigte einen signifikanten Unterschied ($p = 0,03105$), der in einem paarweisen t-Test den Parzellen der Sorte BEN und der MON zugeordnet werden konnte ($p = 0,029$). Um weitergehend analysieren zu können, wurden für jeden Probenahmezeitpunkt Boxplots erstellt und diese dann auf statistisch signifikante Unterschiede mittels 99,5% - Konfidenzintervallen verglichen (Abbildung 61).

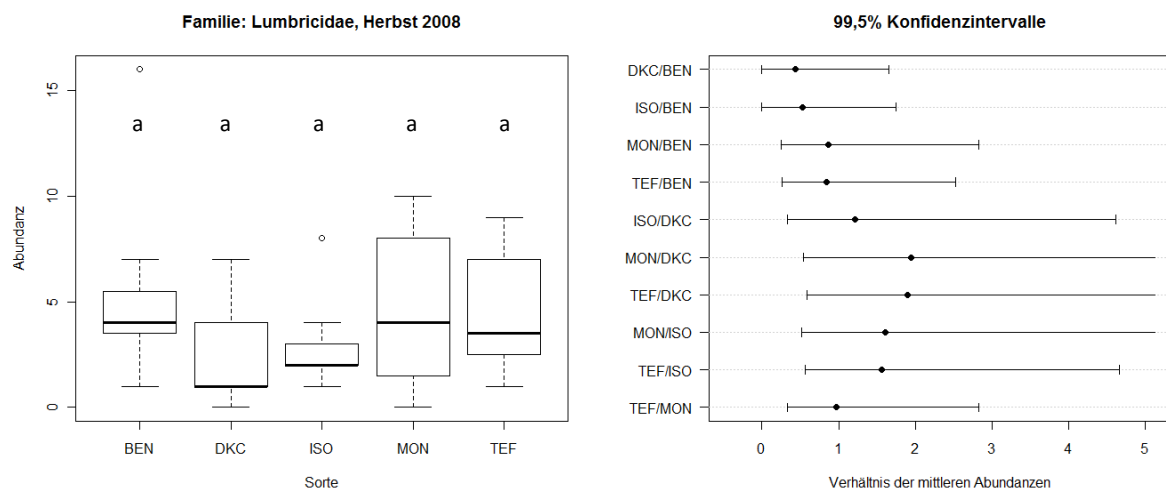


Abbildung 61: Boxplotdarstellung der gefangenen adulten Lumbriciden Herbst 2008 (links, rechts: 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a) statistisch nicht signifikant verschieden)

Dabei ergaben sich für die adulten Lumbriciden zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikante Unterschiede. Die juvenilen Lumbriciden zeigten vereinzelt an verschiedenen Zeitpunkten statistisch signifikante Konfidenzintervalle (Tabelle 50).

Tabelle 50: Statistische Signifikanzen innerhalb des Datensatzes "juvenile Lumbriciden", Zeitpunkt und 99,5 % - Konfidenzintervalle

Sortenkombination	Zeitpunkt	99,5 % - Konfidenzintervall
BEN / DKC	Herbst 2008	0,0000-0,9778
BEN / ISO	Frühjahr 2009	0,0000-0,9463
BEN / ISO	Frühjahr 2010	0,0000-0,7024
BEN / MON	Frühjahr 2010	0,0000-0,8817
BEN / TEF	Frühjahr 2010	0,2840-0,8920

Signifikante Zusammenhänge zwischen der Verteilung der Regenwürmer und den erhobenen Bodendaten konnten nicht errechnet werden. Auf eine Darstellung wird daher verzichtet.

5.2.1.2 Labordaten

Der Regenwurmdauerversuch wurde in zwei Ansätzen wiederholt. Zu jedem Probenahmezeitpunkt wurden drei Töpfe jeder Sorte beprobt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 51 zusammengefasst.

In beiden Wiederholungen konnten nie mehr als ein Viertel der eingesetzten *L. terrestris* wiedergefangen werden (21,46 % nach 90 Tagen, 7,5 % nach 236 Tagen im ersten Durchlauf sowie 25 % nach 102 Tagen und 27,92 % nach 200 Tagen im zweiten Durchlauf). Da diese niedrige Wiederfangquote sich in allen Sorten gleichmäßig zeigte, wurde auf eine weitere statistische Auswertung verzichtet.

Tabelle 51: Ergebnisübersicht der Regenwurmdauerversuche (1. Ansatz: Versuch in Einheitserde ED 73, eingesetzte Würmer pro Ansatz: 20; 2. Ansatz: Versuch in defaunierter Felderde (Parzelle A4), eingesetzte Würmer pro Ansatz: 20)

Sorte	1. Ansatz				2. Ansatz			
	Tag	wiedergef. Würmer	Tag	wiedergef. Würmer	Tag	wiedergef. Würmer	Tag	wiedergef. Würmer
BEN	90 d	2	236 d	0	102 d	6	200 d	14
BEN	90 d	0	236 d	0	102 d	2	200 d	0
BEN	90 d	0	236 d	0	102 d	0	200 d	0
DKC	90 d	6	236 d	11	102 d	14	200 d	6
DKC	90 d	7	236 d	2	102 d	0	200 d	2
DKC	90 d	12	236 d	2	102 d	0	200 d	9
ISO	90 d	0	236 d	0	102 d	13	200 d	7
ISO	90 d	16	236 d	9	102 d	6	200 d	14
ISO	90 d	0	236 d	9	102 d	16	200 d	15
MON	90 d	1	236 d	0	102 d	3	200 d	0
MON	90 d	2	236 d	0	102 d	0	200 d	0
MON	90 d	1	236 d	0	102 d	0	200 d	0
BM BEN	90 d	0	236 d	1				
BM BEN	90 d	0	236 d	1				
BM BEN	90 d	0	236 d	0				
BM DKC	90 d	7	236 d	0				
BM DKC	90 d	0	236 d	0				
BM DKC	90 d	0	236 d	1				
BM ISO	90 d	9	236 d	0				
BM ISO	90 d	6	236 d	0				
BM ISO	90 d	6	236 d	0				
BM MON	90 d	9	236 d	0				
BM MON	90 d	9	236 d	0				
BM MON	90 d	10	236 d	0				
gesamt Wiederfang	90 d	103	236 d	36	102 d	60	200 d	67
% - Anteil		21,46		7,5		25,00		27,92

Im Kurzzeit-Regenwurmfluchttest wurden die verschiedenen Cry-Proteine gegen ihre jeweiligen Puffer bzw. Blattmaterial der GV-Sorte gegen seine nah-isogene Sorte getestet. Das System konnte vorab durch den Einsatz einer bekannt wirksamen Referenzsubstanz evaluiert werden. Eine vermeidende Wirkung von 60 % wie in der ISO-Norm beschrieben, konnte gezeigt werden (41 Tiere in der Kontrolle, 9 in der behandelten Seite, entspricht einer Fluchtreaktion von 64 %, $p=0,000679$). Die eingesetzten Cry-Proteine lösten keine Fluchtreaktion bei den Regenwürmern aus. In den Versuchsansätzen konnten in der statistischen Analyse mit dem Fisher's Exact Test keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung der Würmer zwischen den beiden Behandlungen festgestellt werden, da die p-Werte immer deutlich größer als 0,05 waren (Tabelle 52).

Diese p-Werte nahe 1 zeigten sich konstant für alle Einzelproteine, aber auch für die Kombination aller drei Proteine und mit dem Pflanzenmaterial. Auch im Chi-Quadrat-Test mit den absoluten Messwerten zeigte sich kein signifikanter Unterschied.

Tabelle 52: Ergebnisse der Regenwurmfluchttests nach statistischer Auswertung mit dem Fisher's Exact Test (10 Tiere pro Ansatz, Auswertung nach 72 h)

Behandlung	Konzentration	Versuchsansätze	valide Ansätze	p-Wert (Fisher's Exact Test)
Cry1A.105	50 ng/g TG	25.-28.06.10	5	1
		30.11.-03.12.10	3	0,6499
		11.-14.02.11	5	1
Cry2Ab2	50 ng/g TG	08.-11.10.10	4	1
		30.11.-03.12.10	5	1
		11.-14.02.11	5	1
Cry3Bb1	50 ng/g TG	25.-28.06.10	4	1
		30.11.-03.12.10	5	0,3498
		11.-14.02.11	5	1
Cry1+2+3	50+50+50 ng/g TG	08.-11.10.10	2	0,3348
		26.-29.11.10	5	1
		26.-29.11.10	5	1
MON 89034 x MON 88017	Blattmaterial frisch 40 g	26.-29.11.10	5	1
MON 89034 x MON 88017	Blattmaterial getrocknet 13 g	26.-29.11.10	5	1
Borsäure	1 mg/g TG	25.-28.06.10	5	0,000679

5.3 Wetterdaten

Die wichtigsten Wetterdaten während der Wachstumsperioden 2008 bis 2010 jeweils vom 01. Mai bis zum 31.10. wurden vom Deutschen Wetterdienst (DWD) abgefragt und in Abbildung 62 bis 65 dargestellt. Der saisonale Verlauf der Niederschläge (ermittelt in direkter Nachbarschaft der Feldversuchsfläche) ist in Abbildung 62 dargestellt. Aus Gründen der besseren Vergleichbarkeit wurden die Daten zwischen den Wachstumsperioden (01. November bis 30. April eines jeden Jahres) nicht dargestellt. Im direkten Vergleich ähneln sich die Niederschlagsmengen 2008 und 2009, während es im Jahr 2010 zu Beginn der Wachstumsperiode im Mai bis in die erste Juniwoche hinein und dann wieder vor allem von Mitte August bis Mitte September zu stark erhöhten Niederschlägen (bis zu 47 mm/d) kam. Zwischen diesen Regenperioden lag eine ausgeprägte Trockenperiode, die so in den Vorjahren nicht auftrat. Vergleicht man 2008 und 2009 genauer, fallen in 2008 vereinzelte Regentage mit bis zu 20 mm/d Niederschlag verteilt über die gesamte Wachstumsperiode auf, während in 2009 absolut mehr Regentage jedoch mit jeweils geringeren Niederschlagsmengen (2-14 mm/d) verzeichnet werden konnten.

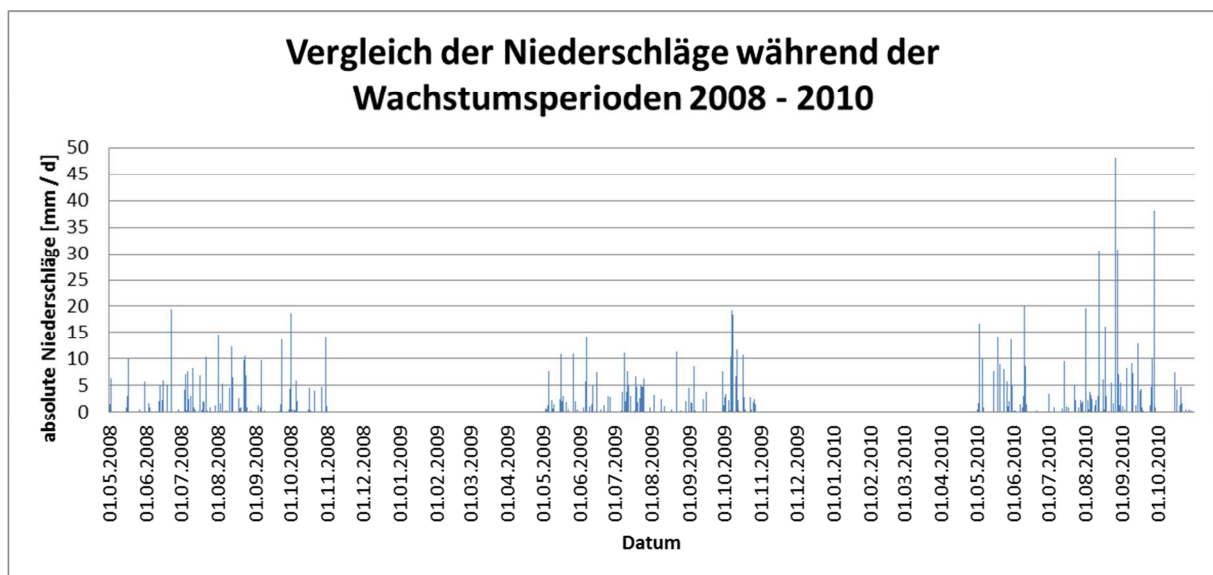


Abbildung 62: Darstellung des Niederschlags auf der Feldfläche 2008-2010 (jeweils 01.05.-31. 10., Daten nach DWD)

Die drei Versuchsjahre zeigen verschiedene Niederschlagsprofile über die Wachstumsperiode. Diese Unterschiede lassen sich auch in Abbildung 63 aufzeigen. Dort werden die jeweiligen Temperaturen (täglich 14 Uhr) über die Wachstumsperiode verglichen. Während die Anbauperioden 2008 und 2009 mit Temperaturen zwischen 15 °C und 20 °C im Mai begannen, lagen die Temperaturen 2010 rund um die Aussaat um die 10 °C. Anfang Juni folgte 2008 eine Wärmephase mit konstant hohen Temperaturen um die 25 °C, auch 2010 konnten in der ersten Juniwoche Temperaturen zwischen 20 °C und 25 °C verzeichnet werden. Im Gegensatz dazu gab es in dieser Phase in 2009 eine kühlere Phase mit Temperaturen zwischen 10 °C und 20 °C. In allen drei Jahren kam es im Verlauf des Juni zu einer Steigerung der mittleren Temperatur, die 2010 in einer extremen Wärmephase mit Temperaturen bis zu 35 °C parallel zur Trockenphase mündete, während in 2008 und 2009 im Juli lediglich Temperaturen zwischen 15 °C und 22 °C erreicht wurden. Der August wurde in 2010, parallel zu den starken Regenfällen auch im Schnitt kühler als in den Vorjahren. Insbesondere in 2009 konnten die höchsten Jahrestemperaturen mit 36 °C erst im August verzeichnet werden. Parallel dazu kam es jedoch in 2009 auch zu extremen Schwankungen mit Tagestemperaturen von nur 15 °C.

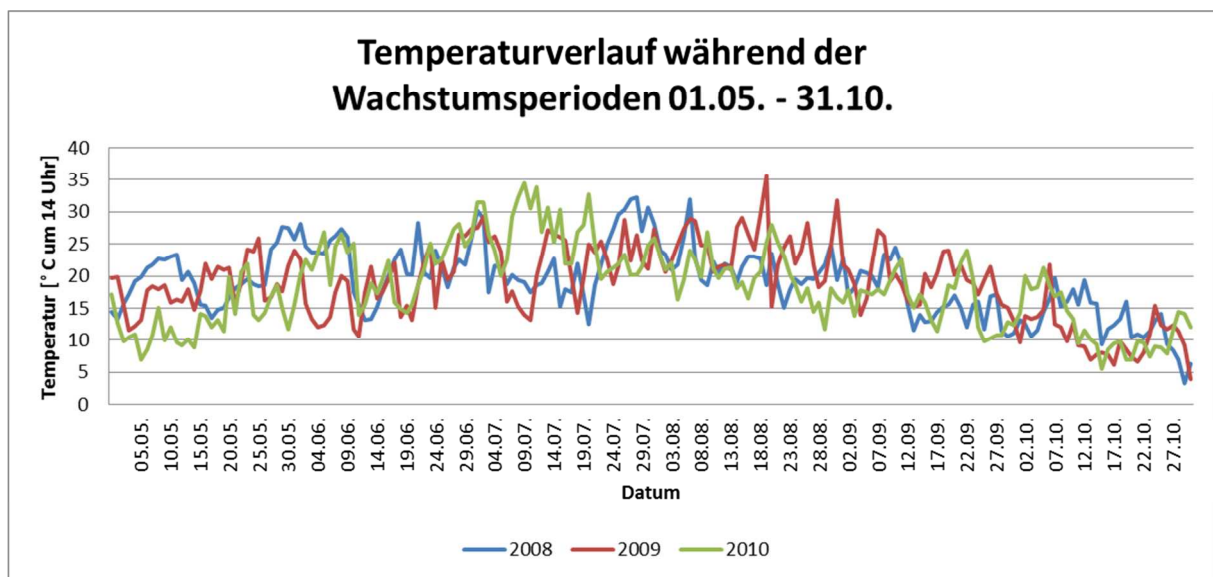


Abbildung 63: Darstellung des Temperaturverlaufs 01.05.-31.10. in den Jahren 2008-2010 (dargestellt ist jeweils die Temperatur um 14 Uhr Mittag, (blaue Linie 2008, rote Linie 2009 und grüne Linie 2010) Daten nach DWD)

Diese Temperaturprofile lassen sich auch mit der täglichen Sonnenscheindauer korrelieren (dargestellt in Abbildung 64). Während sich für 2009 eine ausgeglichene Verteilung der Sonnenscheindauer über die gesamte Wachstumsperiode mit den längsten Sonnentagen im Juli und August zeigt, zeigen sich für 2008 und 2010 verschobene Profile. Parallel zu Temperatur und Niederschlagsmenge zeigt sich für 2008 eine extreme Sonneneinstrahlung bereits im Mai und ein weiteres Maximum Ende Juli / Anfang August, während 2010 zu Beginn der Feldsaison mit einem Ausnahmetag (14 Stunden) im Mai eine Sonnenscheindauer von sieben Stunden nicht überschritten wird, sich aber anschließend ein Maximum im Juni / Juli zeigt mit Tageshöchstwerten bis zu 16 Stunden und einer durchschnittlichen Dauer von 12 Stunden. In der darauffolgenden Regenphase werden sechs bis acht Stunden selten überschritten, vereinzelt treten Tage ohne Sonnenschein auf.

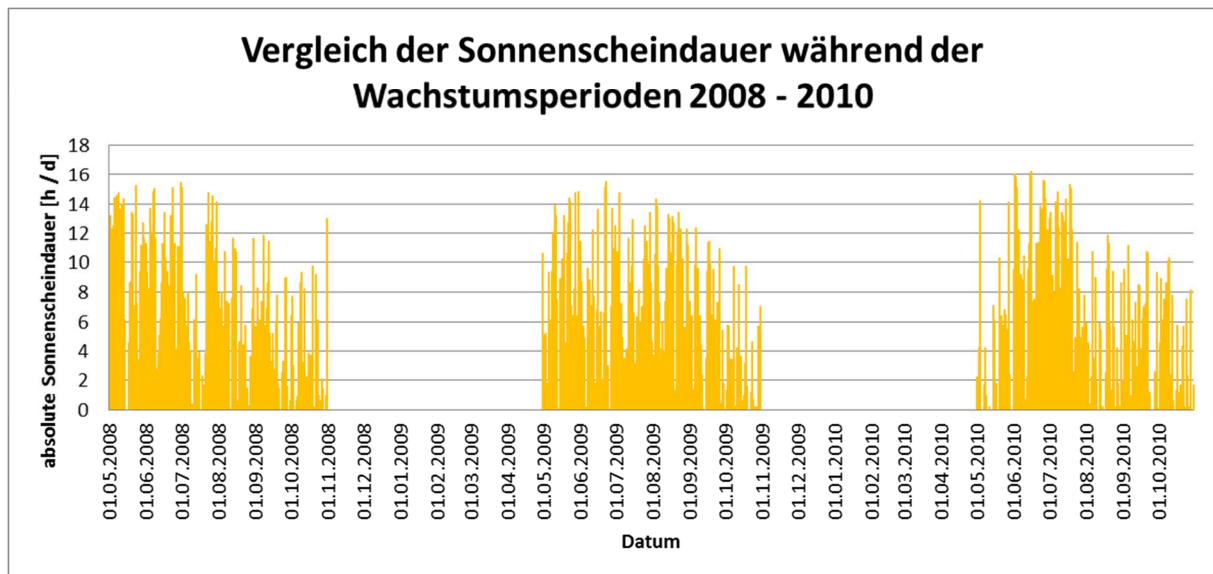


Abbildung 64: Darstellung der täglichen Sonnenscheindauer (in Stunden) während der Wachstumsperioden 01.05.-31.10. in den Jahren 2008-2010 (Daten nach DWD)

Abbildung 65 schließlich zeigt die täglichen mittleren Windgeschwindigkeiten während der Wachstumsperioden vom 01. Mai bis zum 31. Oktober der Jahre 2008 bis 2010. Hier zeigt sich der subjektive Eindruck bestätigt, dass es ein konstant relativ hohes Windaufkommen gab, mit kleinen Einbrüchen in ausgedehnten Hitzeperioden. Zu bemerken ist, dass in allen drei Jahren parallel zum Zeitpunkt der Pollenschüttung mittlere Windgeschwindigkeiten von etwa 4,5-5,5 m/s gemessen werden konnten.

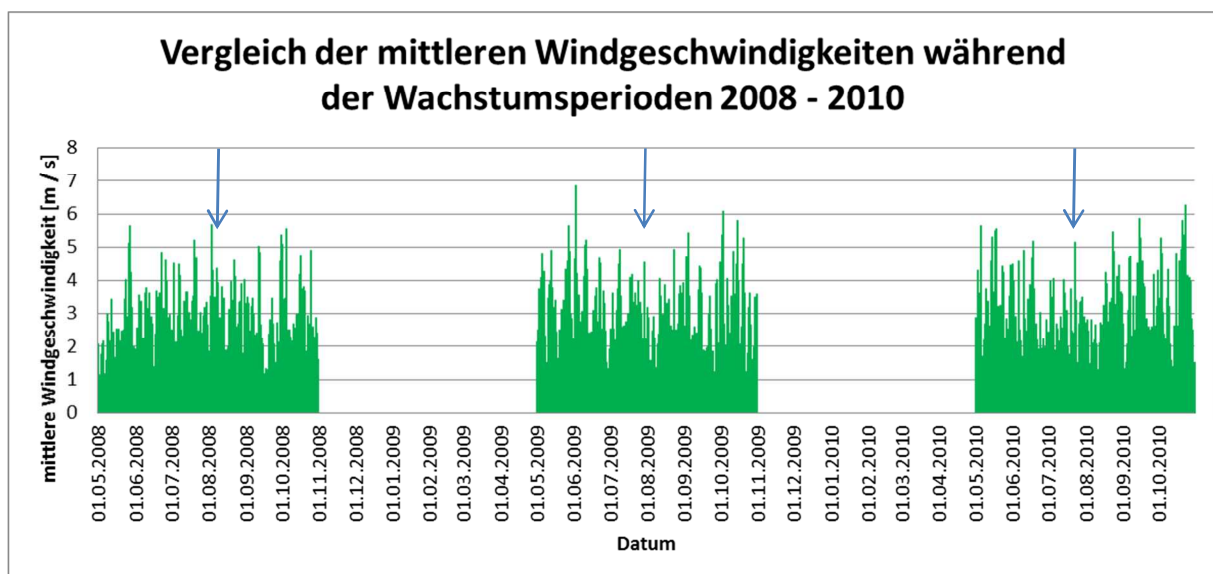


Abbildung 65: Darstellung der täglichen mittleren Windgeschwindigkeit während der Wachstumsperioden (01.05.-31.10.) in den Jahren 2008-2010 (Daten nach DWD, blaue Pfeile symbolisieren den Zeitpunkt der Pollenschüttung)

Insgesamt bilden die drei Versuchsjahre die gesamte Variabilität des typischen Sommerwetters in der untersuchten Region ab. Insbesondere das dritte Versuchsjahr zeigte sich voller Wetterextreme mit einem sehr heißen und trockenen Frühsommer und einem umso kälteren und nasserem Hochsommer. Insgesamt liegt aber auch das Jahr 2010 genauso in der natürlichen Spannweite wie das gemäßigte Jahr 2009 und das insgesamt sehr trockenen Jahr 2008.

6. Diskussion

Um eine umfassende Risikobewertung einer gentechnisch veränderten Nutzpflanze durchführen zu können, sind neben Untersuchungen der Effekte des Anbaus im Freiland in Form experimenteller Freisetzung unter landwirtschaftlichen Bedingungen auch Laboruntersuchungen anhand neuer oder aus der Umweltrisikoprüfung von Pflanzenschutzmitteln bekannter Modellorganismen ein mögliches Werkzeug. Dabei können weitergehende Erkenntnisse zum Mechanismus möglicher Wechselwirkungen gewonnen werden, die im Feld möglicherweise nur als Änderung der Häufigkeit eines Nichtziel-Organismus oder als ähnlicher Effekt bemerkt werden können.

Daher wurden in der vorliegenden Arbeit neben Felduntersuchungen im Rahmen eines Freisetzungsversuchs (Teil A) auch Laborarbeiten mit den Modellorganismen *T. caelestialium* und *L. terrestris* durchgeführt (Teil B).

6.1 Effekte des Anbaus der neuen *Bt*-Maissorte DKC 5143-*Bt* MON 89034 x MON 88017 auf ausgewählte Biozönosen eines Maisfeldes (Teil A)

6.1.1 Arthropoden

6.1.1.1 Thysanoptera

Für die Ordnung der Thripse konnte in drei Versuchsjahren im Feldversuch kein Effekt des Anbaus der neuen „stacked“ *Bt*-Sorte nachgewiesen werden. Während der Untersuchungen zeigten sich jedoch Effekte bedingt durch das Versuchsdesign und die verwendeten Sorten, die durch eine Anpassung des Probenahmeschemas in den letzten zwei Versuchsjahren weitergehend untersucht werden konnten. Bereits im Vorläuferprojekt konnte im Jahr der ersten Probenahme (2005) eine Verschiebung der Abundanzen zugunsten der frühblühenden Sorten beobachtet werden, dort allerdings mit den Phlaeothripidae als dominierende Familie (Rauschen, 2008). Signifikante Unterschiede konnten dort für die Thripidae nachgewiesen werden. Auch im ersten Versuchsjahr dieser Arbeit zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Abundanzen der Thripidae zur jeweiligen Vollblüte (BBCH 65) mit erhöhten Abundanzen in den erstblühenden Sorten. Diese Unterschiede könnten auf verschiedenen Faktoren beruhen. Die frühblühenden Sorten, insbesondere die in beiden Studien verwendete Sorte Benicia, sind offenbar als Futterpflanze attraktiver und könnten eine Umsiedlung auf die spätblühenden Sorten unattraktiv machen. Weiterhin wäre denkbar, dass die erhöhten Abundanzen lediglich über auf die Bevorzugung der früh bereitstehenden Futterpflanzen zustande kommen und sich im Laufe der Blüte normalisieren oder dass die Organismen futterfest auf der einmal besiedelten Pflanze verbleiben. Nach den in den Resultaten vorgestellten Daten scheint sich also die These zu bestätigen, dass die hohen Abundanzen zu Beginn durch konzentriert einwandernde Thripse in die Blüten der ersten Futterpflanzen zustande kommen, die sich gleichmäßig verteilen, sobald mehr Ressourcen vorhanden sind. Eine Untersuchung auf Artniveau könnte hier ein detaillierteres Bild liefern, ebenso weitere Studien der Lebensweise der Thripse, vor allem im Hinblick auf ihre Ernährungstypen. Möglicherweise erfolgt die Abwanderung von Arten, die in ihrer Diät einen Schwerpunkt auf Pollen legen, während etwa Arten, die vor allem an den Antheren fressen, auf der ursprünglichen Blüte verbleiben.

Weiterhin ergibt sich durch die vorgestellten Daten das Bild einer Population, die sowohl in ihrer Grundstärke als auch in ihrer zeitlichen Verteilung eng an die Wetterbedingungen geknüpft scheint. Der Zeitraum höchster Abundanz scheint enger zu sein als bei anderen untersuchten Arthropoden wie den Zikaden (vgl. Bourget et al., 2002). Gleichzeitig kann die Thripsgemeinschaft aufgrund der

vorliegenden Daten in Kombination mit den Arbeiten von Eckert (2006), Rauschen (2008) und Freier et al. (2007) als prävalente Zönose betrachtet werden, die sich zwar in einigen Arten, nicht jedoch in den dominierenden Taxa, wenigstens in verschiedenen Teilen Deutschlands unterscheidet. Die verschiedenen Familien innerhalb der Thysanopterengemeinschaft bieten dabei die Möglichkeit mehrere ökologische Funktionsgruppen zu betrachten. Es gibt herbivoren Vertreter, die eher als Schädlinge eingestuft werden und räuberisch lebenden Thripsen, die als Nützlinge klassifiziert werden. Diese vielseitigen Funktionen und Eigenschaften lassen die Thysanoptera als ideale Nichtziel-Organismen erscheinen, die einfach beprobt werden können, aufgrund ihrer Lebensweise exponiert sind (Meissle & Romeis, 2009) und verschiedene Stufen innerhalb der Nahrungsnetzes abdecken. Sie bieten sich daher, dem faunistischen Ansatz von Candolfi et al. (2004) folgend, für eine Verwendung im ERA und im Monitoring neuer Maissorten an. Dazu ist die Definition einer ökologischen Basislinie, also eines Richtwertes bezogen auf das Auftreten und die typische Häufigkeit innerhalb eines konventionellen Systems, als Vergleichswert nötig. Die vorgestellten Aspekte müssen bei dieser Festlegung unbedingt beachtet werden, da sie zu einer natürlichen Variabilität führen, die fälschlicherweise als Effekt angesehen werden könnte. Ein Unterschied im Blühzeitpunkt der untersuchten Feldfläche und umgebenden Maisfeldern kann zu extremen Unterschieden in den ermittelten Abundanzen der auftretenden Thysanoptera führen. Hier zeigt sich die Notwendigkeit einer genauen Versuchsplanung und einer umfangreichen Dokumentation im Monitoring der umgebenden Bedingungen. Idealerweise würde im Versuchsaufbau die nötige Kontrollvariante anhand des parallelen Anbaus konventioneller Sorten einzuplanen sein, die die GV-Linie in Hinblick auf ihren Blühzeitpunkt einrahmen.

6.1.1.2 Coleopteren

In der Gruppe der Coleopteren konnten vor allem Blattkäfer und Marienkäfer beobachtet werden. Auch hier konnten keine negativen Effekte des Anbaus der *Bt*-Sorte gezeigt werden (vgl. Rauschen et al., 2010b; Candolfi et al., 2004; Bourget et al., 2002). Die Blattkäfer konnten statistisch nicht ausgewertet werden, während die Familie der Marienkäfer immerhin zu einigen Zeitpunkten eine statistisch abgesicherte Aussage zuließ. Die verwendeten Methoden bildeten die beobachtete Artverteilung ab, stellten die Abundanzen jedoch geringer dar, als diese auf dem Versuchsfeld zu beobachten waren. Insbesondere im zweiten Versuchsjahr konnte ein starker Besatz mit Marienkäfern beobachtet werden, was sich mit der allgemeinen Beobachtung eines Blattlausmastjahres (Beute) deckt. Als häufigste Art konnte konstant der Schachbrettmarienkäfer *Propylea quatuordecimpunctata*, ein in Europa weitverbreiteter Marienkäfer (Nötzold, 1997), identifiziert werden, über den kaum wissenschaftlich publizierte Studien verfügbar sind. Eine Eignung des Schachbrettmarienkäfers als Stellvertreterart wäre zu prüfen.

Dem wissenschaftlich vielbeachteten Zweipunktmarienkäfer *Adalia bipunctata* (Schmidt et al., 2008; Alvarez-Alfegeme et al., 2011) kann mit einem Anteil von maximal 5,14 % (Frühsommer 2009, Kescher) keine vorherrschende Rolle in der Marienkäferzönose zugeordnet werden. Eine Auswahl dieses Organismus als Stellvertreterart scheint daher jedenfalls nach den vorliegenden Abundanzdaten als nicht schlüssig. Im Feld konnte entsprechend den Ergebnissen von Alvarez-Alfegeme et al. (2011, bezogen auf Cry3Bb1) kein negativer Einfluss des Anbaus der *Bt*-Sorte gezeigt werden.

Ein nicht unbedeutender Anteil der Marienkäfergemeinschaft wurde mit durchschnittlich 32,27 % durch die invasive Art *Harmonia axyridis* gebildet (an Einzelterminen bis zu 100 %). Die ursprünglich im biologischen Pflanzenschutz eingesetzte Art steht seit Beginn seiner Massenvermehrung 2002 (JKI, 2010) im Verdacht, die einheimische Zönose nachhaltig zu verändern. Diese Entwicklung wird begünstigt durch die multivoltine Vermehrung und die Stellung im Nahrungsnetz. Dixon konnte 2000 zeigen, dass *H. axyridis* andere aphidophage Marienkäfer als Nahrungsquelle nutzt; insbesondere die

Dominanz über *C. septempunctata* durch diese übergeordnete Stellung im Nahrungsnetz wurde 2001 von Yasuda et al. gezeigt. Eine Unterdrückung der *C. septempunctata* konnte durch Brown (2003) in Apfelplantagen nachgewiesen werden. Die hier erhobenen Daten bestätigen die besondere Stellung des asiatischen Marienkäfers, der daher zukünftig im ERA neuer Nutzpflanzen vermehrt betrachtet werden muss. Vorhandene Daten zu dieser in Europa neu etablierten Art können dazu genutzt werden.

6.1.1.3 Auchenorrhyncha

Die Zikadengemeinschaft wurde entgegen ersten Planungen nur auf dem Feld und nicht im Labor untersucht, da es nicht gelang, eine Stellvertreterart in Zucht zu etablieren. Die Auswahl der dominierenden Art *Zyginidia scutellaris* als Modellorganismus wurde deshalb verworfen, obwohl bereits eine Exposition gegenüber den Cry-Proteinen aus *Bt*-Mais nachgewiesen wurde (Meissle & Romeis, 2009). Ein negativer Einfluss des Anbaus der *Bt*-Sorte wurde auch für die Gemeinschaft der Zikaden nicht gezeigt (vgl. Candolfi et al., 2004, Einfluss von Cry 1Ab aus *Bt* 176 und Rauschen et al., 2010a, Einfluss von Cry3Bb1 aus MON 88017), stattdessen konnte zu bestimmten Zeitpunkten ein Einfluss der Maissorten auf die Abundanz erkannt werden. Weiterhin zeigten sich anhand der Zikadengemeinschaft weitere wichtige Erkenntnisse im Hinblick auf das Probenahmedesign. Die Besiedelung der Feldfläche durch Zikaden konnte über die gesamte Wachstumsperiode beobachtet werden. Die Artzusammensetzung veränderte sich jedoch innerhalb der Saison über die drei Jahre hinweg unabhängig von den Wetterverhältnissen nach einem konstanten Muster. Einzelne Arten wie *Javesella pellucida* und *Macrostelus laevis* zeigten individuelle Zeitverläufe in ihrem Auftreten, während andere Arten in Proben verschiedener Fangmethoden ein artspezifisches geschlechterabhängiges Verhalten zeigen. So kann etwa für *Z. scutellaris* im Kescher ein Verhältnis von männlichen zu weiblichen Individuen von 1:2 beobachtet werden, während auf den verwendeten Klebetafeln ein umgekehrtes Fangergebnis erzielt wird. Zusätzlich zeigt sich dort eine Verschiebung im prozentualen Anteil der Geschlechter über die Wachstumsperiode. Während im Frühsommer vor allem Weibchen gefangen werden, kann die Mehrzahl der im Spätsommer gefangenen Individuen als männlich identifiziert werden.

Diese Unterschiede konnten bereits im Vorgängerprojekt identifiziert (Rauschen et al., 2010a; sowie eigene unveröffentlichte Daten) und im vorliegenden Projekt bestätigt werden. Sie belegen die Bedeutung der genauen Planung der Probenahmen und der Erfassung der ökologischen Basislinie als Grundlage für die Erstellung eines Monitoringplans für den Anbau gentechnisch veränderter Pflanzen. Eine Missachtung der artspezifischen Eigenheiten könnte ansonsten Einflüsse vortäuschen und so falsch positive Ergebnisse liefern. Gleichzeitig kann aber auch für die Gemeinschaft der Auchenorrhyncha in den Arbeiten von Eckert (2006) und Rauschen (2008) sowie Rauschen et al. (2010a) in Kombination mit dem vorliegenden Datensatz eine allgemein verbreitete Zönose identifiziert werden, die gegebenenfalls die Nutzung dieser Gruppe in der Risikobewertung für neue Sorten ermöglicht.

Der hier erhaltene Datensatz zeigt darüber hinaus die Relevanz der mehrjährigen Studien zur Bewertung der Einflüsse verschiedener Sorten auf die Gemeinschaft der herbivoren Nicht-Zielorganismen und der genauen Dokumentation der landwirtschaftlichen Praxis. Die extremen Wetterverhältnisse im Jahr 2010 mit einem sehr heißen und trockenen Frühsommer und langanhaltenden Starkregenphasen im Hochsommer verringerten den Besatz an Zikaden erheblich und führten zum Ausfall ganzer Arten, während die Wetterverhältnisse im zweiten Versuchsjahr 2009 zu einem hohen Bestand an Zikaden führten und daher Sorteneffekte statistisch greifbar machten. Trotz der geringen Abundanzen im Feld konnte 2010 der Einfluss der Feldbewässerung auf die Auchenorrhyncha gezeigt werden. Wurde die Feldfläche mit 25-30 mm /m² bewässert, hatte dies stets einen negativen Einfluss auf die Dichte der Zikadengemeinschaft, partiell konnte dieser als

statistisch signifikant identifiziert werden. Dies muss neben anderen als ein Aspekt der Auswirkungen der üblichen landwirtschaftlichen Praxis auf die Arthropodengemeinschaft betrachtet werden, die später diskutiert werden wird.

6.1.1.4 Heteroptera

Die Gemeinschaft der Wanzen wurde sowohl im Gesamten auf dem Feld als auch weitergehend anhand der Stellvertreterart *Trigonotylus caelestialium* im Feld und als Modellorganismus im Labor untersucht. Im Feld konnte dabei wie schon für die anderen herbivoren und räuberischen Arthropoden kein negativer Effekt des Anbaus der neuen „stacked“ Bt-Sorte, jedoch zu manchen Zeitpunkten ein Unterschied zwischen den angebauten Sorten, nachgewiesen werden. Betrachtet man die Abundanzen der Wanzencommunity, zeigte sich auch für diese Gruppe ein starker Einfluss der landwirtschaftlichen Praxis. Folgend den Publikationen von Wheeler (1985, 2000, 2001) und Higuchi & Takahashi (2002) erfolgt eine Einwanderung der Wanze *T. caelestialium* im Frühsommer aus den umliegenden Randstreifen nach einer Überwinterung als diapausierendes Ei. Dieser Umstand konnte im Vorgängerprojekt, aufgeschlüsselt nach der vorliegenden Pflanzengemeinschaft (Schultheis, 2008), bestätigt werden. Dabei zeigte sich, dass zu Beginn der Wachstumsperiode *T. caelestialium* in umliegenden Wiesen als nachgeordnete Art etwa im Verhältnis 1:10 neben *Megalocera recticornis*, der großen grünen Graswanze, gefunden werden kann, nicht jedoch in Wintergetreide (unveröffentlicht). Diese Beobachtung konnte im aktuellen Versuch wiederholt gemacht werden. Am östlichen Rand des Feldes lag eine Wiesenfläche, die partiell zur Ablagerung der entstandenen Maissilage bis zu deren Einbringen in die Biogasanlage genutzt wurde. Im Versuchsjahr 2008 wurde diese Fläche der guten landwirtschaftlichen Praxis folgend regelmäßig über die gesamte Wachstumsperiode gemäht, während im Jahr 2009 bedingt durch die nötigen Schutzmaßnahmen nach einer Feldbesetzung vor der Aussaat keine Mahd möglich war. Dies und die ausbleibende Beregnung der Feldfläche kann die Unterschiede zwischen den Fangzahlen, insbesondere zwischen den Nymphen der zweiten Generation, in den ersten beiden Versuchsjahren erklären. Der Einfluss der Feldbewässerung konnte zwar nicht statistisch abgesichert nachgewiesen werden, der Versuch im Jahr 2010 liefert jedoch einen Trend. Die mittleren Abundanzen lagen in 2010 bedingt durch die Hitzeperiode vor allem während der Zeit der Eiablage der ersten Generation niedriger als in den vorherigen Jahren. Eine schlechtere Futterqualität kann dabei einerseits durch verringerte Fitness der Wanzen zu einer erniedrigten Eiablage rate führen (Shintani, 2009a) oder auch zu einer erhöhten Produktion diapausierender Eier während des Sommers (Higuchi & Takahashi, 2005; Kudo & Kurihara, 1988).

Weiterhin zeigte sich auch in der Gruppe der Wanzen bei der blütenbewohnenden Blumenwanze *Orius spec.* der Einfluss des Blühzeitpunktes auf die Verteilung im Feld, wie er schon bei den Thripsen diskutiert wurde, aber kein negativer Einfluss des Anbaus der Bt-Sorte (Candolfi et al., 2004).

6.1.1.5 Weitere Arthropoden

Die weiteren ausgewerteten Arthropoden bestanden vor allem aus blattlausfressenden braunen und grünen Flor- und die Schwebfliegen (Hemeroptera, *Chrysoperla carnea*, Syrphidae). In keinem Fall konnte ein Einfluss des Anbaus der neuen Bt-Maissorte gezeigt werden. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Beobachtungen von Meissle & Romeis (2009), die keine Exposition der hier als Beute dienenden Blattläuse nachweisen konnten und Candolfi et al. (2004). Li et al. zeigten 2008 weiterhin, dass *C. carnea* nicht durch Cry1Ab aus Bt 176 oder Cry3Bb1 aus MON 88017 in Maispollen geschädigt werden. Die wissenschaftlich im Bereich der GVO-Risikodiskussion untersuchte grüne Florfliege

(Hilbeck et al., 1999) spielt dabei im vorliegenden Datensatz mit Einzelfunden nur eine untergeordnete Rolle, während die Familie der Taghaften (Hemerobiidae) in den ersten zwei Jahren insbesondere auf den Klebetafeln in vergleichsweise hohen Abundanzen nachgewiesen werden konnten. Insgesamt zeigt sich an den hier diskutierten Blattlausfressern ebenso wie bei den weiter oben diskutierten Marienkäfern die Problematik, für räuberische Arthropoden statistisch aussagekräftige Fangzahlen zu erheben. Sanvido et al. zeigten 2009, dass stattdessen das Auftreten potentieller Beute als Maß für den Zustand der biologischen Kontrollmechanismen genutzt werden kann.

6.1.2 Lumbriciden

Die Lumbricidengemeinschaft auf dem Maisversuchsfeld zeigte über alle drei Versuchsjahre eine geringe Dichte mit hohen Schwankungen zwischen den Probenahmen im beprobten Pflughorizont. Eine Korrelation mit Bodenparametern, die durch Verbundpartner erhoben wurden, zeigte keine signifikanten Zusammenhänge. Die Alterszusammensetzung der erhobenen Gemeinschaft ermöglichte keine Untersuchung der Einflüsse der angebauten Sorten oder des verwendeten Insektizids auf Artniveau, da aufgrund der hohen Anteile juveniler und verwundeter Würmer nur ein geringer Anteil der gewonnenen Wurmgemeinschaft bis zur Art bestimmt werden konnte. Eine weitere Analyse der Daten erfolgte daher auf Familienniveau. Dies ist jedoch nach Römbke et al. (2005) nicht befriedigend, da selbst innerhalb einer Gattung Arten mit verschiedenen Lebensweisen und damit verschiedener ökologischer Bedeutung vorkommen, etwa der anösisch lebende *L. terrestris* und der epigäisch lebende *L. castaneus*. Insgesamt blieb der gewonnene Felddatensatz hinter den Erwartungen zurück, bedingt vor allem durch den geringen Besatz an Lumbriciden auf der untersuchten Feldfläche. Dieser kann wohl auf die Bodenstruktur mit sehr hohem Sandanteil und die Bodenbearbeitung vor einer jeden Aussaat zurückgeführt werden (Bauchhenß, 1991a, 1991b). Auch liegt nahe, den hohen relativen Anteil juveniler Würmer durch die Bodenbearbeitung zu erklären. Der Zeitpunkt der Probenahme kann durch eigene Beobachtungen auf dem Versuchsfeld als nicht ideal gewählt betrachtet werden. Insbesondere während der Feldsaison 2010 wurde durch den Verbundpartner Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft in Bodenfallen zur Bestimmung der Aktivitätsabundanzen von Laufkäfern eine Vielzahl Lumbriciden als Beifang und auch beim Abbau der Bodenfallen im September unter den Fallen beobachtet. Die Probenahme der Lumbriciden konnte aber, bedingt durch die Maispflanzen, erst nach der Ernte erfolgen, da mit Pflanzen auf dem Feld innerhalb der Parzellen keine genügende Fläche zur Verfügung stand. Diese vor Ort gesammelten Erfahrungen zeigen die Limitierung einer Untersuchung der Lumbricidengemeinschaft als generell zu empfehlende oder gar zu fordernder Beitrag zur Beurteilung der ökotoxikologischen Auswirkung von Anbaustrategien in der Landwirtschaft.

Der Eindruck, dass ein positiver Einfluss der Sorte Benicia auf den Bestand an Regenwürmern besteht, konnte nur für die juvenilen Würmer zu drei Zeitpunkten zwischen dieser und jeweils einer bis drei anderen Behandlungen als statistisch signifikanter Effekt ausgemacht werden. Werden alle Probenahmen ab Herbst 2008 aufsummiert, kann dieser Unterschied zwischen Benicia und der untersuchten DKC 5143-Bt identifiziert werden. Bei Untersuchungen an den Bt-Events Bt 11 und MON 810 zeigten Clark & Coats (2006) ähnliche Effekte zwischen GV- und den nah-isogenen Linien. Sie führten dies auf eine veränderte Nährstoffzusammensetzung zurück. Ein Einfluss des Anbaus der GV-Maislinie im Unterschied zu Sortenvariabilitäten konnte in keinem Fall identifiziert werden, da die veränderte Linie in keinem Fall von ihrer nah-isogenen Sorte DKC 5143 statistisch signifikant abwich und sich mit dieser und der konventionellen Sorte DKC 4250 stets ähnlich zeigte. Auch ein Einfluss auf die Entwicklung der Würmer, hier gemessen als das durchschnittliche Gewicht von im Feld gefangenen Lumbriciden, konnte nicht gezeigt werden. Dies stimmt im Wesentlichen überein mit den Daten von Zwahlen et al. (2003b), die über 160 Tage ebenfalls keinen Einfluss auf die Gewichte

fanden, lediglich bei der letzten Probenahme wurde hier eine signifikanter Abfall der Gewichte nachgewiesen, deren Gründe aber als vielfältig angenommen werden müssen und nicht als klarer *Bt*-Effekt gewertet werden.

Ein Gehalt an Cry-Proteinen in Regenwürmern als Beweis einer Exposition im Freiland konnte für Cry3Bb1 und Cry2Ab2 nicht gezeigt werden. Diese negativen ELISA-Daten dürfen jedoch lediglich als Hinweis betrachtet werden, da sie nicht in entsprechender Wiederholung und zu verschiedenen Zeitpunkten im Untersuchungszeitraum durchgeführt wurden. Die Probenahme der untersuchten Würmer erfolgte im Frühjahr 2010, also einen Winter nach der letzten der drei Anbauperioden. Eine Akkumulation der Proteine im Boden konnte in der Zwischenzeit durch Verbundpartner ausgeschlossen werden (Miethling-Graff et al., 2010 für Cry3bb1 aus MON 88017 und unveröffentlichte Daten aus dem aktuellen Forschungsverbund). Hinweise auf Einlagerung und Anreicherung der Cry-Proteine in Würmern konnten nicht gewonnen werden. Diese Ergebnisse passen zu den Daten von Saxena & Stotzky (2001), die in Laborversuchen das Cry-Protein Cry1Ab direkt nach 14-tägiger Exposition in Darm und Kot nachweisen konnten, jedoch nicht mehr nach 2-3 Tagen in frischer Erde. Zieht man in die Betrachtung die Daten von Zwahlen et al. (2003b) ein, die nach 240 Tagen noch geringe Proteinmengen nachweisen konnten, ergibt sich das Bild einer vorhandenen Exposition ohne Anreicherung über die Zeit.

Soll in einer Umweltrisikoprüfung neu entwickelter Anbaumethoden die Biodiversität und hier insbesondere der Erhalt der Bodenfunktion (Dunger, 1964) im Vordergrund stehen, lässt sich die absolute Notwendigkeit eines Systemvergleiches als Weiterentwicklung des reinen Sortenvergleichs ableiten, da Veränderungen im Bewirtschaftungssystem weitreichende Folgen für die Biodiversität auf dem Feld haben können (Bauchhenß, 1991a, 1991b). Leider konnte im Rahmen dieser Arbeit wegen der limitierten Anwendbarkeit der Regenwurmuntersuchungen keine Daten gewonnen werden, die eine Bewertung der neuen Sorte hinsichtlich ihrer Effekte auf die Regenwurmgemeinschaft erlauben. Insbesondere die sehr sandige Bodenzusammensetzung, aber auch die Probenahmetechnik und Terminierung scheinen hierfür verantwortlich zu sein. Eine Beprobung im Verlauf der Feldsaison erscheint angeraten, ist aber aufgrund des dichten Bestandes der Maispflanzen auf dem Versuchsfeld ohne Störung des Versuchs nicht möglich. Eine weitere Unzulänglichkeit in der Wahl der Lumbriciden-Gemeinschaft als Indikatorgruppe für eine Risikobewertung stellt die Bestimmbarkeit der Organismen bis zur Art dar, die insbesondere bei Juvenilen nicht immer durchführbar ist.

Eine Risikobewertung des neuen Maises DKC 5143-*Bt* MON 89034 x MON 88017 konnte daher in der vorliegenden Arbeit bezogen auf das Kompartiment „Boden“ auf der Versuchsfläche anhand der Regenwurmgemeinschaft nicht befriedigend durchgeführt werden. Als Ergebnis dieser Arbeit scheidet diese Modell als generell für alle Ackerflächen und Versuchsanstellungen anwendbar aus.

6.2 Entwicklung und Validierung zweier Labor-Testsysteme mit repräsentativen Stellvertreter-Organismen der Maisfeld-Biozönose (Teil B)

6.2.1 *T. caelestialium* als Modellorganismus der Maiskrautschicht

Nach ersten Versuchen in einem Vorgängerprojekt (Schultheis, 2008) wurde die Weichwanze *T. caelestialium* als Modellorganismus zur Aufklärung des Schicksals der Cry-Proteine aus dem neuen „stacked“ *Bt*-Mais ausgewählt. Ihre Verbreitung von Mittel- und Osteuropa bis hin nach Asien (Wheeler, 1985; Sato & Yasanuga, 1999) machen die Reisblattwanze zu einer interessanten Stellvertreterart in der Risikobewertung neuer GV-Sorten, die dabei durch ihr breites Futterspektrum mit jedoch relativ hoher Wirtstreue (Goto & Higuchi, 2004) nicht nur in der Bewertung neuer Events in Mais, sondern auch in anderen Süßgräsern nutzbar ist. Die Exposition der Wanze gegenüber den Cry-Proteinen wurde bereits im Vorgängerprojekt in Gehalten von maximal 100 µg/g Trockengewicht

nachgewiesen (Rauschen et al., 2008; Meissle & Romeis, 2009). Die relativ hohen Abundanzen und das Gewicht der Einzeltiere erlauben auf Einzeltierbasis Tiere zu fangen, Proteinnachweise und Fraßexperimente durchzuführen. Die bekannte Zuchtmethode auf Weizen (Higuchi & Takahashi, 2000) konnte in einem ersten Schritt etabliert werden, lediglich die Überwinterung zeigte sich aufgrund der Diapause trotz der Haltung im Klimaschrank als schwierig. Nach drei Monaten im Kühlschrank bei 4 °C konnten wenige schlüpfende Nymphen beobachtet werden, die jedoch nicht zum Aufbau einer erneuten Zucht ausreichten. Diese Probleme traten wohl trotz der Nutzung des vorhandenen Gewächshauses aufgrund der jahreszeitlichen Schwankungen in der Futterqualität auf und konnten nicht umgangen werden (Prof. Yoshinori Shintani, Hokuriku Research Centre, Japan, persönliche Mitteilung). Eine Erhöhung der Temperatur von 25 °C auf 28-34 °C könnte Abhilfe schaffen (Higuchi & Takahashi, 2005; Shintani, 2009b), war allerdings im laufenden Projekt nicht zu realisieren.

Bei der Aufzucht auf den verschiedenen Sorten konnten pro Sommer drei Generationen gezüchtet werden. In der dritten Folgegeneration schlüpften nur wenige Tiere, da ein großer Anteil diapausierender Eier gebildet wurde. Die Schlupfrate war zu gering, um die Zucht fortzuführen. Ein weiteres Problem stellte in der Zucht die Schimmelbildung dar. Insbesondere bei der verlängerten Dauer bis zum Schlupf in den späteren Generationen und bei den Eiern in Diapause führte der Schimmel zu Verlusten. Durch Nutzung steriler Petrischalen und Kosmetiktücher statt strukturiertem Küchenpapier konnte das Problem eingedämmt, jedoch nicht behoben werden. Weitere Maßnahmen wie eine vorbeugende Behandlung des Weizensaatgutes und die Verwendung autoklavierten Wassers zur Befeuchtung könnten Abhilfe schaffen.

Die Aufzucht konnte auf allen im Versuch eingesetzten Maissorten erfolgen. Dabei zeigte sich jedoch, dass die Wanzen sich auf der Sorte Benicia schlechter vermehrten und entwickelten und daher so weniger Adulte in die nachfolgenden Tests eingesetzt werden konnten. Insbesondere für die Untersuchungen der Eianzahl standen leider aus der Zucht auf Benicia nicht genügend Organismen zur Verfügung. Im Vergleich der Fraßflächen konnten jedoch einige Adulte auch aus dieser Zucht eingesetzt werden. Sortenunterschiede konnten dabei nicht identifiziert werden. Die Qualität der Futterpflanzen auf die Entwicklung der Nymphen wurde jedoch schon gezeigt (Shintani, 2009a) und es gibt Hinweise darauf, dass die Sorte Benicia schlechter als Futter geeignet ist als die anderen verwendeten Sorten. In der Untersuchung des Einflusses der verfütterten Sorte auf die Entwicklung und Fortpflanzung der Wanzen zeigte sich kein negativer Effekt der Bt-Maissorte im Vergleich mit der nah-isogenen Sorte, der Sorte Benicia oder der zweiten konventionellen Sorte DKC 4250. Betrachtet man die Entwicklung der Juvenilen bis zum Schlupf hinsichtlich der Entwicklungsdauer und der Mortalität, gruppieren sich in der ersten Folgegeneration die Bt-Sorte und die nah-isogene Sorte einerseits und die beiden konventionellen Sorten andererseits. Die Überlebensrate in der erstgenannten Gruppe ist dabei signifikant höher und die Entwicklungsdauer ist verkürzt. Dies spricht für eine im Vergleich bessere Futterqualität und keinen Einfluss der aufgenommenen Cry-Proteine. In der zweiten Folgegeneration kann dieser Unterschied nicht mehr beobachtet werden, stattdessen steigt in allen Behandlungen die Mortalität. Dies gibt einen weiteren Hinweis auf die verschlechterte Futterqualität im Spätsommer trotz der Aufzucht der Pflanzen im Gewächshaus.

In Fraßversuchen über verschiedene Zeiträume ergaben sich keine Hinweise auf eine Akkumulation, die eine Rolle in der Nahrungskette spielen könnte. Im Gegenteil konnten bereits nach einer relativ kurzen Zeit (6 h) auf nah-isogenem Mais keine Cry-Proteine mehr in den Wanzen nachgewiesen werden.

Um aufzuklären, ob die Proteine in den Wanzen noch Bioaktivität zeigen und so einen Einfluss auf Prädatoren höherer trophischer Ebenen haben könnten, und ob die Proteine durch Abbau oder durch Ausscheidung aus den Wanzen verschwinden, wurde ein Biotest mit dem für Cry1A.105 und Cry2Ab2 suszeptiblen Zielorganismus *Ostrinia nubilalis* angepasst und durchgeführt. Erste Versuche zeigten mit den *O. nubilalis* der Aachener Zucht keine Mortalität. Bei der Wiederholung des Versuchs mit *O. nubilalis* einer auswärtigen Zucht (JKI Darmstadt) zeigten sich eine geringe Mortalität von 17 % der eingesetzten Zünslerlarven bei vierfach erhöhter Konzentration der natürlichen vorkommenden

Gehalte an den verschiedenen Cry-Proteinen. Dieser Test gibt Hinweise darauf, dass die Cry-Proteine in den Wanzen noch bioaktiv sind. Weitere Wiederholungen mit mehr Testorganismen sind für eine letztendliche Bewertung abzuwarten. Ungeachtet dieser ausstehenden Daten spricht der rasche Abbau bzw. die rasche Ausscheidung gegen eine biologische Relevanz der aktiven Proteine in der Umwelt beispielsweise durch Verschleppung in benachbarte Zönosen oder durch Aufnahme durch Räuber, da keine Hinweise auf einen langfristigen Verbleib gewonnen werden konnten.

Anhand der vorliegenden Daten kann *T. caelestialium* als geeigneter Modellorganismus bezeichnet werden, der einerseits standardisierte Versuchsprotokolle zulässt und andererseits in der Maiszönose eine vorherrschende Rolle spielt und sowohl die Anforderungen der Auswahl an Modellarten in Anlehnung an die Pestizidbewertung (Romeis et al., 2008, 2007, 2006) und auch im Ökosystemzusammenhang (Andow & Hilbeck, 2004) erfüllt. Anhand der etablierten Versuche und der japanischen Methodenpublikationen (Ishimoto et al., 2006; Kobayashi & Kikuchi, 2004; Mima et al., 2002) sind weitergehende Untersuchungen des Modells beispielsweise hinsichtlich eventueller Verschleppungswege neuer Pflanzeninhaltsstoffe o.ä. innerhalb der Risikobewertung neuer GV-Pflanzen problemlos möglich.

6.2.2 *L. terrestris* als Modellorganismus des Bodens

Um weitergehende Erkenntnisse zu erlangen, sollte ein detritivorer Modellorganismus im Laborversuch getestet werden. Aus der Gruppe der Lumbriciden ist *L. terrestris*, trotz zahlreicher Unzulänglichkeiten, als Modellorganismus etabliert (Zwahlen et al., 2003; Fründ et al., 2009; ISO 17512-1, 2008). Daher wurde er für Untersuchungen in kurz- und langfristigen Versuchsansätzen ausgewählt.

Die geringe Wiederfangrate von unter 20 % im Dauerversuch zeigt dabei die Schwierigkeiten mit den kommerziell erhältlichen, jedoch im Freiland gefangenen Testorganismen auf. Ihr genaues Alter ist unbekannt und möglicherweise ihre Fitness durch Fang und Transport eingeschränkt. Die Tatsache, dass die erhältlichen Würmer nicht einer kontrollierten Zucht entstammen, sondern im Freiland gefangen werden, macht *L. terrestris* nicht zur optimalen Stellvertreterart. Die Vergleichbarkeit mit anderen Arbeiten wird erschwert, da jede Studie eigene Quellen für ihre Würmer angibt (Zwahlen et al., 2003b: Eigenfänge im Apfelgarten; Schrader et al., 2008: Eigenfänge auf nicht näher beschriebener landwirtschaftlicher Fläche; Ahmad et al., 2006: kommerzieller Bezug über Bass Pro Shops (Waterford, MI, USA)) und die Altersbeschreibung der Testorganismen lediglich zwischen adulten und juvenilen Würmern unterscheidet. Zwahlen et al. (2003b) nehmen anhand des Gewichts der Tiere an, dass sich alle verwendeten adulten Organismen noch in den Wachstumsphase befanden. Von einem einheitlichen Testorganismus, der unter kontrollierten Bedingungen aufgezogen und in einer definierten Altersspanne in Versuche eingesetzt werden kann, kann nicht gesprochen werden. Fründ et al. veröffentlichten 2009 Empfehlungen zum experimentellen Gebrauch von *L. terrestris* als Modell im Labor, in denen die zu dokumentierenden Parameter und Validitätskriterien definiert und diskutiert werden. Dabei wird von Freilandfängen als Versuchstieren ausgegangen und eine genaue Dokumentation empfohlen. Lowe und Butt zeigten jedoch 2007, dass die Würmer unterschiedlicher Bezugsquellen und Freilandfänge sich unter kontrollierten Umgebungsbedingungen, wie sie in Laborversuchen herrschen, signifikant verschieden verhalten. Sie schlussfolgern, dass die Herkunft der Würmer die Validität und Reproduzierbarkeit von subletalen Versuchsansätzen beeinflussen und empfehlen daher, wo möglich, gezüchtete Würmer bekannten Alters und bekannter Herkunft als Testorganismen zu nutzen. Diese Forderung deckt sich mit den Erfahrungen aus der Suche nach Modellorganismen im Bereich der Arthropoden (Romeis et al., 2011).

Im ersten Durchgang des langfristigen Expositionsversuchs wurden die Würmer nur gegenüber den Wurzeln einzelner Maispflanzen oder gegenüber getrocknetem Blattmaterial einer Maissorte

exponiert. Es wurde kein Boden vom Versuchsfeld, sondern angelehnt an den Versuchsaufbau von Ahmad et al. (2006) Einheitserde ED 73 verwendet. Bereits nach den 100 ersten Tagen des Versuchs konnten weniger als 20 % der eingesetzten Würmer wiedergefunden werden. Verschiedene Einflussfaktoren sind dabei dankbar. Möglicherweise kam es trotz der Feuchtemessung in den Töpfen zu Staunässe, die sich negativ auf die Würmer auswirkte. Die verwendeten Töpfe verfügten zwar über Bodenlöcher, diese wurden jedoch mit Gaze verschlossen, um eine Flucht der Würmer zu verhindern, und die Töpfe standen direkt auf einer Folie, so dass denkbar ist, dass sich diese Löcher rasch durch Partikel verschlossen. In der Wiederholung des Versuchs wurden daher die Töpfe auf Pflastersteine gestellt, um ein Abfließen des übrigen Wassers und damit auch der feinen Partikel zu ermöglichen. Als weiterer Mangel im ersten Durchlauf wurde die eventuell mangelnde Ernährung der Würmer in den Ansätzen mit den Maispflanzen identifiziert. Insbesondere aufgrund des geringeren organischen Anteils des im zweiten Versuchsdurchlauf verwendeten Feldbodens gegenüber der zuvor verwendeten Einheitserde und aufgrund des Verdachts der mangelnden Ernährung im ersten Durchlauf, wurden im zweiten Durchlauf die verschiedenen Expositionsquellen kombiniert und zusätzlich zum Anpflanzen einer Maispflanze die Töpfe mit getrocknetem Blattmaterial versehen. Da aber im ersten Versuchsdurchlauf in den Blattmaterialbehandlungen nicht mehr Würmer wiedergefunden wurden, konnte der Faktor „Verhungern“ nicht als bestimmender Faktor der schlechten Ergebnisse angesehen. Stattdessen geriet die verwendete Einheitserde aufgrund ihrer hohen Anzahl löslicher Salze in den Verdacht, für den Tod und die anschließende Verwesung der Würmer verantwortlich zu sein. Daher wurde in der Wiederholung Boden vom Versuchsfeld als Matrix gewählt. Da auch in diesem kein befriedigendes Versuchsergebnis zu erzielen war, musste eine weitergehende Fehleranalyse erfolgen. Obwohl beschrieben wurde, dass *L. terrestris* auch langfristig ohne die Möglichkeit zum Tiefbohren überlebt (Butt, 1994), könnte auch die flache Haltung Einfluss auf die Überlebensrate im Versuch haben. In allen Ansätzen zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen der *Bt*-Sorte und anderen Varietäten, so dass nicht von einer zusätzlichen Schwächung durch die *Bt*-Sorte ausgegangen werden kann.

Im kurzzeitigen Regenwurmfluchttest zeigten die eingesetzten Würmer in der Positivkontrolle mit Borsäure eine klare Fluchtreaktion. Dieser Effekt konnte mit den verschiedenen Cry-Proteinen einzeln und in Kombination sowie mit Blattmaterial der GV-Sorte nicht verursacht werden. Die Konzentration der Cry-Proteine war mit 50 ng / g Boden 100 – 1000-fach höher gewählt als durch Verbundpartner im Freiland nachgewiesen (Dohrmann, vTI Braunschweig, persönliche Mitteilung).

Zusammenfassend erlauben die Daten dieser Arbeit zum jetzigen Zeitpunkt keine Einschätzung bezüglich des Risikos für die Familie der Lumbriciden durch den Anbau der gentechnisch veränderten Maissorte DKC 5143-*Bt* MON 89034 X MON 88017. Die Exposition der Lumbriciden durch Pflanzenreste und Bodenmatrix muss aufgrund der beschriebenen Ernährungsweise als gegeben angesehen werden (Römbke et al., 2005), konnte jedoch in dieser Studie im ELISA nicht nachgewiesen werden. Dies deutet auf eine sehr niedrige Exposition und / oder einen raschen Abbau im Regenwurm hin. Hinweise auf eine Anreicherung mit Cry-Proteinen konnten nicht gewonnen werden.

6.3 Zusammenführung der Ergebnisse zu einer Gesamtbewertung

Für eine Risikoabschätzung von neuen GV-Pflanzen wird durch die EFSA ein mehrstufiges Konzept vorgegeben, das die Ergebnisse einer ersten Stufe über die weiteren Untersuchungen entscheiden lässt und nicht in jedem Fall in Freilanduntersuchungen enden muss. In die Bewertung der erhaltenen Datensätze muss dabei unbedingt einfließen, dass im Labor beobachtete Effekte nicht zwingend eine Relevanz im Freiland haben müssen, wo viele biotische und abiotische Faktoren auf die Nichtziel-Organismen einwirken und Einflüsse überlagern können (BVL, 2007).

In der vorliegenden Studie sollte in Teil A zunächst der Einfluss des Anbaus der neuen *Bt*-Sorte auf verschiedene Zönosen im Maisfeld untersucht werden. Dabei wurde mit den Arthropoden der Krautschicht und Blüte eine Gemeinschaft von Herbivoren und ihre Prädatoren und mit den Lumbriciden eine Detrivorengemeinschaft untersucht. Es sollten Fragen nach möglichen Verschiebungen innerhalb der Organismengemeinschaft und andere Effekte adressiert werden (A. 1-4). In der Zusammenfügung aller Daten konnten in den drei aufeinanderfolgenden Versuchsjahren im Feldversuch in der Betrachtung verschiedener Nicht-Zielorganismen keine negativen Effekte durch den Anbau der neuen „stacked“ Maissorte DKC 5143-*Bt* MON 89034 x MON 88017 im Vergleich mit der nah-isogenen Sorte DKC 5143 und den konventionellen Sorten DKC 4250 und Benicia nachgewiesen werden. Stattdessen konnte über alle Probenahmetechniken und Organismengruppen hinweg ein Sorteneffekt nachgewiesen werden, wobei sich die Sorte Benicia stets besonders auffällig war.

Verschiebungen in der Organismengemeinschaft (in ihrer typischen Zusammensetzung beschrieben etwa durch Freier et al., 2007), die über das normale Maß der Schwankungen zwischen Anbaujahren oder konventionellen Maissorten hinausgingen, waren in den Kompartimenten „Krautschicht“ und „Blüte“ nicht aufzuspüren. Für das Kompartiment „Boden“ konnte aufgrund methodischer Probleme kein aussagekräftiger Datensatz ermittelt werden.

Für einen *Bt*-Effekt ergaben sich somit keine Anhaltspunkte. Ein wirklicher Ausschluss eines *Bt*-Effektes im Unterscheid zu einem Sorteneffekt der *Bt*-Sorte könnte hier allerdings nur durch einen Versuchsansatz erfolgen, der das *Bt*-Event im Hintergrund verschiedener Sorten vergleicht und so andere pleiotrope Effekte ausschließen könnte.

Die Exposition gegenüber den Cry-Proteinen konnte erwartungsgemäß für am Mesophyll fressende, herbivore Organismen bestätigt werden (Meissle & Romeis, 2009; Rauschen, 2008; Rauschen et al., 2008; Obrist et al., 2006a, 2005; Harwood et al., 2005; Dutton et al., 2004; Zwahlen et al., 2000). Ein Nachweis der Exposition gegenüber den Cry-Proteinen konnte in Regenwürmern nicht erbracht werden, vermutlich aufgrund der geringen Konzentration im Boden. Hinweise auf eine Aufkonzentrierung in tierischen Geweben konnten in keinem Fall gewonnen werden, so dass von einer Akkumulation entlang der Nahrungskette nicht ausgegangen werden kann (Saxena & Stotzky, 2001).

Darüber hinaus wurden im Feldversuch weitere grundlegende Erkenntnisse gesammelt, die bei einer unabdingbar nötigen Bestimmung der ökologischen Basislinie, also einer Aufnahme des Grundzustandes im Vergleich zur Einführung neuer GV-Pflanzen, Berücksichtigung finden sollten. Die Dynamik im System zeigt sich in der vorliegenden Studie insbesondere im deutlich erkennbaren Wittereinfluss, der die Abundanzen der Organismen deutlich bestimmt.

Eine ökologische Basislinie wird von vielen biotischen und abiotischen Faktoren beeinflusst und stellt keinesfalls den biologischen Urzustand, vielmehr ein dynamisches System dar, dass nicht nur von Klima und Boden, aber ebenso von landwirtschaftlicher Praxis auf der Fläche und in der direkten Umgebung abhängt, sich ständig weiterentwickelt und daher sehr heterogen und variabel ist.

Neben diesen Art- und Abundanzenerhebungen im Feldversuch sollte in einem zweiten Schritt (Teil B) je eine Art jeder untersuchten Zonöse ins Labor überführt und dort als Modellorganismus etabliert werden. Hier sollte die Methodenentwicklung und -evaluierung zur Untersuchung neuer „stacked“ Sorten oder anderer zukünftiger Events im Vordergrund stehen (B. 1-7).

Mit den beiden verwendeten Modellorganismen *T. caelestialium* und *L. terrestris* wurde aus beiden Organismengruppen je eine Art ins Labor überführt und getestet.

T. caelestialium erwies sich als gut zu halten und experimentell zu nutzen. Eine Gefährdung durch die im Mais exprimierten Cry-Proteine Cry1A.105, Cry2Ab2 und Cry3Bb1 konnte nicht nachgewiesen werden. Es gelang, das Schicksal der Proteine in der Wanze zu verfolgen. *T. caelestialium* stellt somit ein Bindeglied zwischen Freiland- und Laborarbeiten dar. Als einer der wichtigsten Vertreter der herbivoren Nichtziel-Arthropoden der Maiszönose bildet sie die umgebende Umwelt partiell ab und ist gleichzeitig in standardisierten Testsystemen nutzbar. Eine Applikation purer Cry-Proteine zur

Testung hoher Dosen in einem worst case-Szenario wurde nicht etabliert, erscheint aber aufgrund der Erfahrungen als machbar. Gleichzeitig eignet sich der Modellorganismus für ein Monitoring als Stellvertreterart im Freiland, da er einen nicht unbedeutenden Anteil der Zönose ausmacht und gleichzeitig durch seine Stellung als Beute für verschiedene räuberische Arthropoden (Meissle & Romeis, 2009) auch eine Aussage über den Zustand der höheren trophischen Ebenen zulässt (Sanvido et al., 2009).

Nach der Auswahl der Modellorganismen anhand ihrer funktionellen Rolle im Ökosystem (step 1 & 2, EFSA, 2010a) und ihrer potentiellen Exposition gegenüber den Cry-Proteinen und anderen ökologischen Kriterien (step 3, EFSA, 2010a) konnte mit *T. caelestialium* ein Organismus ins Labor überführt werden, der sowohl in statistisch aussagekräftigen Abundanzen im Feld zu untersuchen ist, als auch unter Laborbedingungen getestet werden kann (step 4, EFSA, 2010a). Da diese Art nicht als bedrohte Spezies angesehen wird, unterliegt diese Auswahl keinen gesetzlichen Einschränkungen.

Mit dem zweiten untersuchten Modellorganismus, dem Tauwurm *L. terrestris*, wurde gezielt ein bereits etablierter Labororganismus gewählt, der jedoch auf der im Freilandversuch genutzten Feldfläche eine untergeordnete Rolle spielte. Die erhobenen Daten können zwar direkt mit anderen Studien (Ahmad et al., 2006; Zwahlen et al., 2003a, 2003b) verglichen werden, eine Übertragung auf die Feldfläche ist jedoch nicht direkt möglich. Die Nutzbarkeit des etablierten Tauwurm-Modells wird eingeschränkt durch die Problematik, dass dieser zwar auffällige Organismus nur begrenzt auf Ackerflächen verbreitet ist und dass keine Testorganismen gleichbleibender Qualität vorhanden sind. Dies wäre aber zur Gewährleistung von reproduzierbaren Ergebnissen empfehlenswert (Lowe & Butt, 2007; Romeis et al., 2011). *L. terrestris* wurde stellvertretend für die Detritoren im Labor untersucht, leider ohne den gewünschten Erfolg. Den EFSA-Empfehlungen folgend wurde jedoch im Feld die gesamte Regenwurmgemeinschaft untersucht, da hier der Zustand der gesamten Familie für die Zersetzung pflanzlichen Materials und die Bodenbildung als aussagekräftiger angenommen werden kann, als ein einzelner Stellvertreter (EFSA, 2010a).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass anhand des dreijährigen Feldversuches und den Laborarbeiten mit *T. caelestialium* ein neuer Modellorganismus etabliert werden konnte, dessen Einsatzmöglichkeiten in standardisierten Risikobewertungen neuer GV-Pflanzen lange nicht ausgeschöpft ist. Anhand des lange genutzten und empfohlenen Modellorganismus *L. terrestris* wurden die Grenzen und Schwierigkeiten, auch etablierte Modelle erfolgreich zu nutzen, aufgezeigt.

Somit konnten in der vorliegenden Studie beide Zielsetzungen erreicht werden. In Teil A der Studie wurden im Sinne des mehrstufigen Ansatzes der Hypothesen-basierten Untersuchung in der Umweltrisikoprüfung (vgl. Abbildung 10, Seite 16) im Feldversuch Daten einer fortgeschrittenen Stufe (tier 3) für Nichtziel-Organismen erhoben, die keinen Hinweis auf negative Effekte auf diese lieferten. Diese Daten können zusätzlich zu den Daten der ersten Untersuchungsstufe (tier 1a, tier 1b), die durch den Antragsteller im Zulassungsverfahren beigebracht wurden (Monsanto, 2010), als Datengrundlage zur umfangreichen Risikoanalyse dienen. In Teil B der Studie konnte weiterhin Abbildung 11 (siehe Seite 18) und dem EFSA-Guidance-Dokument (EFSA, 2010a) folgend der Schritt vom ersten Schritt 1 (step 1), der Identifizierung exponierter funktioneller Gruppen in dem Maisbiozönose, hin zum vierten Schritt (step 4), der endgültigen Auswahl einer Stellvertreterart, vollzogen werden.

7. Anhang

7.1 Literaturverzeichnis

- Ackermann, R., Pönitz, K., Rochel, J., Holschowsky, I. (2003). Larve gegen Stängel. Bauernzeitung 17: 21-23.
- Ahmad, A., Wilde, G. E., Zhu, K. Y. (2006). Evaluation of Effects of Coleopteran-Specific Cry3Bb1 Protein on Earthworms Exposed to Soil Containing Corn Roots or Biomass. Environ. Entomol. 35(4): 976-985.
- Alvarez-Alfageme, F., Bigler, F., Romeis, J. (2011). Laboratory toxicity studies demonstrate no adverse effects of Cry1Ab and Cry3Bb1 to larvae of *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae): the importance of study design. Transgenic Res. 20: 467-479.
- Andow, D. A. & Hilbeck, A. (2004). Science-based risk assessment for nontarget effects of transgenic crops. BioScience 54: 637-649.
- Bankole, S. A. & Adebajo, A. (2003). Mycotoxins in food in West Africa: current situation and possibilities of controlling it. Afr. J. Biotechnol. 2 (9): 254-263.
- Bauchhenß, J. (1991a). Regenwurmtaxozönosen auf Ackerflächen unterschiedlicher Düngungs- und Pflanzenschutzintensitäten. Bayer. Lw. Jb. 68: 335-354.
- Bauchhenß, J. (1991b). Vergleichende Untersuchungen der Individuendichte, Biomasse, Artendichte und Diversität von Regenwurmpopulationen auf konventionell und alternativ bewirtschafteten Flächen. Bayer. Lw. Jb. 68: 430-443.
- Biedermann, R. & Niedringhaus, R. (2004). Die Zikaden Deutschlands. - Bestimmungstabellen für alle Arten. Fründ, Scheeßel.
- Biosicherheit (2009). <http://www.biosicherheit.de/basisinfo/564.mais-zulassung-anbau-koexistenz.html> [28.06.2011].
- Biosicherheit (2011a). <http://www.biosicherheit.de/debatte/1255.biooekonomie-pflanzenforschung-sicherheitsforschung-technikfolgenabschaetzung.html> [28.06.2011].
- Biosicherheit (2011b). <http://www.biosicherheit.de/mediathek/491.maiszuensler-entwicklungszyklus.html> [28.06.2011].
- Biosicherheit (2011c). <http://www.biosicherheit.de/mediathek/407.maiszuensler-schadbilder.html> [28.06.2011].
- Biosicherheit (2011d). <http://www.biosicherheit.de/basisinfo/126.raffinierter-schaedling.html> [28.06.2011].
- Biosicherheit (2011e). <http://www.biosicherheit.de/mediathek/398.maiswurzelbohrer.html> [28.06.2011].
- Biosicherheit (2011f). <http://www.biosicherheit.de/mediathek/611.maisversuchsfeld.html> [28.06.2011].
- Biosicherheit (2011g). <http://www.biosicherheit.de/forschung-live/1243.regenwuermer-bt-mais-gentechnik.html> [28.06.2011].
- Blinn, R. L. & Yonke, T. R. (1986). Short Communications – Laboratory Life History of *Trigonotylus coelestialium* (Kirkaldy) (Heteroptera: Miridae). J. Kansas Entomol. Soc. 59(4): 735-737.
- BMELV (2011). Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz. <http://www.bmelv.de/SharedDocs/Standardartikel/Europa-Internationales/Welternaehrung-FAO/2010-10-16-AusschussWelternaehrungssicherung.html> [02.02.2011].

- 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.
- Bravo, A., Gill, S. S., Soberón, M. (2007). Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. Toxicon 49: 423-435.
- Broderick, N. A., Raffa, K. F., Handelsman, J. (2006). Midgut bacteria required for *Bacillus thuringiensis* insecticidal activity. Proc. Nat. Acad. Sci. 103: 15196-15199.
- Brown, M. W. (2003). Intraguild responses of aphid predators on apple to the invasion of an exotic species, *Harmonia axyridis*. BioControl 48: 141-153.
- Buch, W. (1986). Der Regenwurm im Garten. Ulmer, Stuttgart.
- Butt, K. R., Frederickson, J., Morris, R. M. (1994). The life cycle of the earthworm *Lumbricus terrestris* L. (Oligochaeta: Lumbricidae) in culture. Eur. J. Soil. Biol. 30: 49-54.
- BVL (2007). BEETLE Studie: Long term effects of genetically modified (GM) crops on health and the environment (including biodiversity): Prioritisation of potential risks and delimitation of uncertainties http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06_Gentechnik/inverkehrbring/en/beetle_report_2009.pdf?__blob=publicationFile&v=2 [26.07.2011]
- BVL (2011). Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit. http://apps2.bvl.bund.de/stareg_web/showmeldungen.do?flaecheId=2108 [12.01.2011].
- 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 Sci. Tech. 14: 129-170
- Carl Roth (2011a). Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe. <http://www.carlroth.com/catalogue/catalogue.do;jsessionid=065F6ACB1F3A294A5BCB0FB92B8DBD1C?favOid=000000080003693000060023&act=showBookmark&lang=de-de&market=DE> [01.03.2011].
- Carl Roth (2011b). Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe. <http://www.carlroth.com/catalogue/catalogue.do;jsessionid=112BC23327CEEAD5DFC0CE3D6AFF256A?favOid=000000000002693000020023&act=showBookmark&lang=de-de&market=DE> [01.03.2011].
- Carrière, Y. & Tabashnik, B. E. (2001). Reversing insect adaptation to transgenic insecticidal plants. Proc. R. Soc. Lond. B. 268: 1475-148.
- CERA (2011a). GM Crop Database. Center for Environmental Risk Assessment (CERA), ILSI Research Foundation, Washington D.C., [http://cera-gmc.org/index.php?evidcode\[\]=&hstIDXCode\[\]=&gType\[\]=&AbbrCode\[\]=&atCode\[\]=&stCode\[\]=&coIDCode\[\]=&auDate1=&auDate2=&action=gm_crop_database&mode=Submit](http://cera-gmc.org/index.php?evidcode[]=&hstIDXCode[]=&gType[]=&AbbrCode[]=&atCode[]=&stCode[]=&coIDCode[]=&auDate1=&auDate2=&action=gm_crop_database&mode=Submit) [01.02.2011].
- CERA (2011b). GM Crop Database. Center for Environmental Risk Assessment (CERA), ILSI Research Foundation, Washington D.C., http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database&mode=ShowProd&data=MON810 [01.02.2011].
- CERA (2011c). GM Crop Database. Center for Environmental Risk Assessment (CERA), ILSI Research Foundation, Washington D.C., http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database&mode=ShowProd&data=MON89034 [01.02.2011].

- CERA (2011d). GM Crop Database. Center for Environmental Risk Assessment (CERA), ILSI Research Foundation, Washington D.C., http://cera-gmc.org/index.php?action=gm_crop_database&mode=ShowProd&data=MON88017 [01.02.2011].
- Chan, K.-Y. & Munro, K. (2001). Evaluating mustard extracts from earthworm sampling. *Pedobiologia* 45: 272-278.
- Chmielewski, F.-M. (2007). Folgen des Klimawandels für Land- und Forstwirtschaft, in: Endlicher, W., Gerstengarbe, F. W. (eds.). *Der Klimawandel - Einblicke, Rückblicke und Ausblicke*. Potsdam-Institut für Klimafolgenforschung e.V., Potsdam.
- Christian, E. & Zicsi, A. (1999). Ein synoptischer Bestimmungsschlüssel der Regenwürmer Österreichs (Oligochaeta: Lumbricidae). *Die Bodenkultur* 50: 121-131.
- Clark, B. W. & Coats, J. R. (2006). Subacute effects of CryIAb Bt corn litter on the earthworm *Eisenia fetida* and the springtail *Folsomia candida*. *Environ. Entomol.* 35(4): 1121-1129.
- Cortez, J. & Bouché, M.B. (1992). Short communication: Do earthworms eat living roots? *Soil Biol. Biochem.* 24(9): 913-915.
- Crickmore, N., Zeigler, D. R., Feitelson, J., Schnepf, E., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Dean, D. H. (1998). Revision of the Nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* Pesticidal Crystal Proteins. *MMBR* 62: 807-813.
- Crickmore, N. (2005). Using worms to better understand how *Bacillus thuringiensis* kills insects. *Trends Microbiol.* 13: 347-350.
- Crickmore, N., Zeigler, D. R., Schnepf, E., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Bravo, A., Dean, D. H. (2011). *Bacillus thuringiensis* toxin nomenclature. www.lifesci.sussex.ac.uk/Home/Neil_Crickmore/Bt/ [22.06.2011].
- Daly, T. & Buntin, G. D. (2005). Effect of *Bacillus thuringiensis* transgenic corn for lepidopteran control on nontarget arthropods. *Environ. Entomol.* 34: 1292-1301.
- De Maagd R. A., Bravo, A., Crickmore, N. (2001). How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. *Trends Genet.* 17(4): 193-199.
- De Maagd, R. A. & Naimov, S. (2003). Transgenic potatoes resistant to coleopteran and lepidopteran pests through the use of single hybrid *Bacillus thuringiensis* cry gene. *ISB* 7: 4-6.
- Debeljak, M., Cortet, J., Demšar, D., Kroghd, P. H. (2007). Hierarchical classification of environmental factors and agricultural practices affecting soil fauna under cropping systems using *Bt* maize. *Pedobiologia* 51: 229-238.
- Degenhardt, H., Horstmann, F. & Mülleder, N. (2003). *Bt*-Mais in Deutschland. *Mais* 2: 75-77.
- Dively, G.P. & Rose, R. (2003). Effects of *Bt* transgenic and conventional insecticide control on the non-target natural enemy community in sweet corn. *Proceedings of the 1st International Symposium on Biological Control of Arthropods*. Honolulu, Hawaii, USA 2002. USDA-Forest Service FHTET-03-05: 265-274.
- Dixon, A. F. G. (2000). *Insect Predator-Prey Dynamics: Ladybird beetles and Biological Control*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- DMK (2011a). Deutsches Maiskomitee. <http://www.maiskomitee.de/web/public/Fakten.aspx/Statistik> [02.02.2011].
- DMK(2011b). Deutsches Maiskomitee. http://www.maiskomitee.de/web/public/Fakten.aspx/Z%C3%BCchtung/Nutzung_neuer_Zuchtmethoden [02.02.2011].

- DMK (2011c). Deutsches Maiskomitee.
<http://www.maiskomitee.de/web/public/Fakten.aspx/Wissenswertes> [02.02.2011].
- DMK (2011d). Deutsches Maiskomitee.
<http://www.maiskomitee.de/web/public/Produktion.aspx/Sorten> [02.02.2011].
- DMK (2011e). Deutsches Maiskomitee.
<http://www.maiskomitee.de/web/public/Fakten.aspx/Statistik/Welt> [02.02.2011].
- DMK (2011f). Deutsches Maiskomitee.
http://www.maiskomitee.de/web/upload/statistik/welt/Grafik_Statistiken_welt.jpg
[11.07.2011].
- DMK (2011g). Deutsches Maiskomitee.
http://www.maiskomitee.de/web/public/Fakten.aspx/Statistik/Europ%C3%A4ische_Union
[02.02.2011].
- DMK (2011h). Deutsches Maiskomitee.
<http://www.maiskomitee.de/web/public/Fakten.aspx/Statistik/Deutschland> [02.02.2011].
- DMK (2011i). Deutsches Maiskomitee.
http://www.maiskomitee.de/web/public/Fakten.aspx/Statistik/Deutschland/Statistik_Biogas
[02.02.2011].
- Dunger, W. (1964). Tiere im Boden. Ziemsen, Wittenberg.
- Dutton, A., Obrist, L., D'Alessandro, M., Diener, L., Müller, M., Romeis, J., Bigler, F. (2004). Tracking *Bt*-toxin in transgenic maize to assess the risks on non-target arthropods. IOBC/WPRS Bulletin 27(3): 57-63.
- EC (2001). Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council of 12 March 2001 on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC. L 106/1 of 4/17/2001.
- EC (2002). Council Decision of 3 October 2002 establishing guidance notes supplementing Annex VII to Directive 2001/18/EC of the European Parliament and of the Council on the deliberate release into the environment of genetically modified organisms and repealing Council Directive 90/220/EEC. L 280/27 of 10/18/2002.
- EC (2003a). Regulation (EC) No 1829/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on genetically modified food and feed. L 268/1 of 10/18/2003.
- EC (2003b). Commission decision of 24 October 2003 on emergency measures to prevent the spread within the Community of *Diabrotica virgifera* Le Conte (notified under document number C(2003) 3880). L 275/49 of 10/25/2003.
- EC (2006). Commission decision of 11 August 2006 amending Decision 2003/766/EC on emergency measures to prevent the spread within the Community of *Diabrotica virgifera* Le Conte (notified under document number C(2006) 3582). L 225/28 of 08/17/2006.
- EC (2008). Commission decision of 25 July 2008 amending Decision 2003/766/EC on emergency measures to prevent the spread within the Community of *Diabrotica virgifera* Le Conte (notified under document number C(2008) 3813). L 209/13 of 08/06/2008.
- Eckert, J. (2006). Effekte des Anbaus von *Bt*-Mais auf Nichtzielarthropoden der Krautschichtfauna : Monitoringorganismen und praktikable Erfassungsmethoden. Dissertation an der RWTH Aachen (<http://darwin.bth.rwth-aachen.de/opus3/volltexte/2006/1732/>).
- Eckert, J., Schuphan, I., Hothorn, L. A., Gathmann, A. (2006). Arthropods on maize ears for detecting impacts of *Bt* maize on nontarget organisms. Environ. Entomol. 35: 554-560.

- EFSA (2006a). Guidance Document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. The EFSA Journal 99: 1-100.
- EFSA (2006b). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the Post Market Environmental Monitoring (PMEM) of genetically modified plants. The EFSA Journal 319: 1-27.
- EFSA (2008). Environmental Risk Assessment of Genetically Modified Plants – Challenges and Approaches. EFSA Scientific Colloquium Summary Report. 20-21 June 2007, Tabiano (Parma), Italy. <http://www.efsa.europa.eu/en/supporting/doc/colloquiagmoera.pdf> [25.07.2011]
- EFSA (2009). Scientific report of EFSA prepared by the GMO Unit on Public Consultation on the Updated Guidance Document of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. The EFSA Scientific Report 293: 1-18.
- EFSA (2010a). EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO); Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants. EFSA Journal 8 (11): 1879.
- EFSA (2010b). EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO); Scientific Opinion on application (EFSA-GMO-NL-2007-39) for the placing on the market of insect resistant and herbicide tolerant genetically modified maize MON89034 x MON88017 for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. EFSA Journal 8 (3): 1564.
- EFSA (2011). registerofquestions.efsa.europa.eu/roqFrontend/questionLoader?question=EFSA-Q-2009-00662 [10.07.2011].
- Ellstrand, N. C., Prentice, H. C., Hancock, J. F. (1999). Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 30: 539-563.
- Engel, H. (1971). Tierische Schädlinge und ihre Bekämpfung. In: Rintelen: Mais – ein Handbuch der Produktionstechnik und Ökonomie. Bayrische Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau, München.
- Eppendorf (2011a). Eppendorf AG, Hamburg.
<http://www.eppendorf.de/int/index.php?l=2&pb=e907984a4eb4515c&sitemap=2.1&action=products&catalognode=9620> [01.03.2011].
- Eppendorf (2011b). Eppendorf AG, Hamburg.
<http://www.eppendorf.de/int/index.php?l=2&sitemap=2.1&pb=c6d31085008d5a3a&action=products&contentid=1&catalognode=9690&productpage=3> [01.03.2011].
- EPPO (2011). eppo.org/QUARANTINE/Diabrotica_virgifera/diabrotica_virgifera.htm#map-dia [01.03.2011].
- EEG (2004). Gesetz für den Vorrang Erneuerbarer Energien vom 31. Juli 2004. Bundesgesetzblatt Teil I 40: 1918-1930.
- FAO (2011a). faostat.fao.org/site/339/default.aspx [24.01.2011].
- FAO (2011b).
faostat.fao.org/DesktopModules/Faostat/Images/T20/ChartPic_aoo4g37mfbb5bv5z9la6.png?a7e188a7-a926-49f5-863e-2a75e5f94de8 [02.02.2011].
- Freier, B., Schorling, M., Schober, A. (2007). Die Begleiter des Maiszünlslers. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.*, 59 (11). 276-279.

- Freisetzungsantrag (2008). Antrag gem. RL 2001/18/EG, Part B, auf Genehmigung einer Freisetzung von MON 89034 x MON 88017-Mais für die absichtliche Freisetzung genetisch veränderter Pflanzen zum Einsatz in Feldversuchen in Deutschland gemäß § 16 des Gentechnikgesetzes (Antrag auf Anordnung der sofortigen Vollziehung gemäß § 80 a Abs. 1 Nr. 1 i.V. § 80 Abs. 2 Nr. 4 VWGO im Falle eines positiven Bescheides) beim Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) "Abteilung 4 Gentechnik" Mauerstr 39-42 10117 Berlin, AZ 6786-01-0194, eingereicht von der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen (RWTH), Templer Graben 55, 52062 Aachen.
- Fründ, H. C. & Jordan, B. (2004). Eignung verschiedener Senfzubereitungen als Alternative zu Formalin für die Austreibung von Regenwürmern. Mitt. Dtsch. Bo. 103: 25-26.
- Fründ, H. C., Butt, K., Capowiez, Y., Eisenhauer, N., Emmerling, C., Ernst, G., Potthoff, M., Schädler, M., Schrader, S. (2009). Using earthworms as a model organisms in the laboratory: Recommendations for experimental implementations. Pedobiologia 53 (2): 119-125.
- Furlan, L., Canzi, S., Di Bernardo, A., Edwards, C. R. (2006). The ineffectiveness of insecticide seed coatings and planting-time soil insecticides as *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte population suppressors. J. Appl. Entomol. 130: 485-490.
- Garcia-Alonso, M., Jacobs, E., Raybould, A., Nickson, T. E., Sowig, P., Willekens, H., van der Kouwe, P., Layton, R., Amijee, F., Fuentes, A. M., Tencalla, F. (2006). A tiered system for assessing the risk of genetically modified plants to non-target organisms. Environ. Biosafety Res. 5: 57-65
- Glare, T. R. & O'Callaghan, M. (2000). *Bacillus thuringiensis*: Biology, ecology and safety. John Wiley & Sons Limited, Chichester, New York, Weinheim, Brisbane, Singapore, Toronto.
- Goto, J. & Higuchi, H. (2004). Preliminary Evaluation of the Flight Ability of the Rice Leaf Bug, *Trigonotylus caelestialium* (Kirkaldy) (Heteroptera; Miridae), Investigated by Tethered Flight Technique. Jpn. J. Appl. Entomol. Zool. 48: 219-224.
- Graff, O. (1953). Die Regenwürmer Deutschlands. Hannover: Schaper.
- Graff, O. (1983). Unsere Regenwürmer: Lexikon für Freunde der Bodenbiologie. Hannover: Schaper.
- Grebenstein (2010). Grebenstein Angelsport GmbH, Giesen.
http://grebenstein.com/pdf/Katalog_2010/AK72_Grebenstein%202010%20ohne%20Preise%20E.pdf [24.02.2010].
- Gunn, A. (1992). The use of mustard to estimate earthworm populations. Pedobiologia 36(2): 65-67.
- Haimi, J. (2000). Decomposer animals and bioremediation of soils. Environ. Pollut. 107: 233-238.
- Harwood, J. D., Wallin, W. G., Obrycki, J. J. (2005). Uptake of Bt endotoxins by nontarget herbivores and higher order arthropod predators: molecular evidence from a transgenic corn agroecosystem. Mol. Ecol. 14: 2815-2823.
- Hellens, R., Mullineaux, P. (2000). A guide to *Agrobacterium* binary Ti-vectors. Trends Plant Sci. 5: 446-451
- Herr, S. & Bauchhenß, J. (1987). Einfacher Bestimmungsschlüssel für Regenwürmer. Schule und Beratung 87 (2): 15-20.
- Heywood, V. H. (ed) (1978). Flowering plants of the world. Mayflower Books, New York.
- Higuchi, H. & Takahashi, A. (2000). Method for rearing the rice leaf bug, *Trigonotylus caelestialium* (Kirkaldy) (Heteroptera: Miridae) with wheat seedlings. Proc. Assoc. Pl. Prot. Hokuriku 48:23-25 (in Japanese).
- Higuchi, H. & Takahashi, A. (2002). Lack of Evidence for Nymphal and Adult Hibernation in Joetsu Population of the Rice Leaf Bug, *Trigonotylus caelestialium* (Kirkaldy) (Heteroptera: Miridae). Jpn. J. Appl. Entomol. Zool. 46: 41-43 (in Japanese with English summary).

- Higuchi, H. & Takahashi, A. (2005). Seasonal Changes in Egg Diapause Induction and Effects of Photoperiod and Temperature on Egg Diapause in the Rice Leaf Bug, *Trigonotylus caelestialium* (Kirkaldy) (Heteroptera: Miridae). Jpn. J. Appl. Entomol. Zool. 49: 113-118 (in Japanese with English summary).
- Hilbeck, A., Moar, W. J., Pusztai-Carey, M., Filipini, A., Bigler, F. (1999). Prey-mediated effects of Cry1Ab toxin and protoxin and Cry2A protoxin on the predator *Chrysoperla carnea*. Entomol. Exp. Appl. 91: 305-316.
- Hiranuma, A. & Yasunaga, T. (1998). The nymphal period of mirid bugs (Heteroptera, Miridae). Rostrum 47: 1-14 (in Japanese with English summary).
- Huang, F., Buschmann, L. L., Higgins, R. A., McGaughey, W. H. (1999). Inheritance of Resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin (Dipel ES) in the European Corn Borer. Science 284: 965-967.
- Ibiza-Palacios, M. S., Ferré, J., Higurashi, S., Miyamoto, K., Sato, R., Escriche, B. (2008). Selective inhibition of binding of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin to cadherin-like and aminopeptidase proteins in brush-border membranes and dissociated epithelial cells from *Bombyx mori*. Biochem. J. 409:215-21.
- Iglisch, I. & Kriegerowski, L. (1986). Indications for Mass Breeding of *Lumbricus-Rubellus* Hofm (Annelida, Lumbricidae) as a Representative Test Organism of Terrestrial Biotopes for the Evaluation of Chemicals. Anz. Schädl. Kd. 59: 95-99.
- ImageJ1.43u (2010). rsbweb.nih.gov/ij/ [16.12.2010].
- Ishimoto, M. (2004). Seasonal Prevalence of Occurrence of the Rice Leaf Bug, *Trigonotylus caelestialium* (Kirkaldy) (Heteroptera: Miridae) on Paddy Rice Plants. Jpn. J. Appl. Entomol. Zool. 48: 79-85 (in Japanese with English summary).
- Ishimoto, M., Sato, H., Muraoka, Y., Aoki, Y., Takita, M., Noguchi, T., Fukumoto, T., Mochizuki, F., Takahashi, A., Higuchi, H. (2006). Monitoring Adult Rice Leaf Bug, *Trigonotylus caelestialium* (Kirkaldy) (Heteroptera: Miridae), with a Synthetic Sex Pheromone Trap in Paddy Fields. Jpn. J. Appl. Entomol. Zool. 50: 311-318.
- ISO 11268-3 (1999). Soil quality -- Effects of pollutants on earthworms -- Part 3: Guidance on the determination of effects in field situations.
- ISO 17512-1 (2008). Soil quality – Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour – Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*).
- Ito, K. (2000). Rearing of the rice leaf bug, *Trigonotylus caelestialium* (Kirkaldy) (Heteroptera: Miridae), using wheat seedlings. Ann. Rept. Plant Prot. North Japan 51: 155-157 (in Japanese with English summary).
- Jaenicke-Després, V., Buckler, E. S., Smith, B. D., Gilbert, M. T. P., Cooper, A., Doebley, J., Pääbo, S. (2003). Early allelic selection in maize as revealed by ancient DNA. Science 302: 1206-1208.
- James, C. (2009). Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops. ISAAA 41. Ithaca, NY.
- Japanese Biosafety Clearing House (2009). Japanese Biosafety Clearing House, Ministry of Environment Outline of the biological diversity risk assessment report: Type 1 use approval for MON89034×MON88017 [02.02.2011].
- Jasinski, J. R., Eisley, J. B., Young, C. E., Kovach, J., Willson, H. (2003). Select nontarget arthropod abundance in transgenic and nontransgenic field crops in Ohio. Environ. Entomol. 32: 407-413.
- JKI (2008). <http://diabrotica.jki.bund.de/index.php?menuid=34> [02.02.2011].

- JKI (2010). Informationsblatt des JKI: Der asiatische Marienkäfer - *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773) - Schädling oder Nützling.
http://oekologischerlandbau.jki.bund.de/dokumente/upload/3663e_harmonia_jki_flyer.pdf
 [11.07.2011].
- Kakizaki, M. (2004). The sex pheromone components for mating disruption of the rice leaf bug, *Trigonotylus caelestialium* (Heteroptera: Miridae). Appl. Entomol. Zool. 39 (2): 221-228.
- Kiss, J., Szentkirályi, F., Tóth, F., Szénási, A., Kádár, F., Árpás, K., Szekeres, D., Edwards, C. R. (2002). *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. 157-172. Facultas, Wien.
- Kobayashi, T. & Kikuchi, A. (2004). A Technique for Marking the Rice Leaf Bug, *Trigonotylus caelestialium* (Kirkaldy) (Heteroptera: Miridae) Using a Fluorescent Pigment. Jpn. J. Appl. Entomol. Zool. 48: 109-113 (in Japanese with English summary).
- Krysan, J. L. & Miller, T. A. (1986). Methods for the study of pest *Diabrotica*. Springer-Verlag, New York.
- Kudo, S. & Kurihara, M. (1988). Seasonal Occurrence of Egg Diapause in the Rice Leaf Bug, *Trigonotylus caelestialium* KIRKALDY (Hemiptera: Miridae). Appl. Ent. Zool. 23 (3): 365-366.
- Landwirtschaftskammer (2011).
<http://www.landwirtschaftskammer.de/landwirtschaft/pflanzenschutz/psd/maiswurzelbohrer.htm>
 [02.02.2011].
- Lawrence, A. P., & Bowers, M. A. (2002). A test of the hot mustard extraction method of sampling earthworms. Soil Biol. Biochem. 34: 549-552.
- Lewin, B. (1991). Gene. VCH, Weinheim, New York: 812-818.
- Li, Y., Meissle, M., Romeis, J. (2008). Consumption of *Bt* maize pollen expressing Cry1Ab or Cry3Bb1 does not harm adult green lacewings, *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). PLoS ONE 3(8), e2909.
- Linaris (2011a). Linaris GmbH, Wertheim. <http://www.linaris.de/linaris/php/zeige.php?id=PSP06200-0096> [01.03.2011].
- Linaris (2011b). Linaris GmbH, Wertheim. <http://www.linaris.de/linaris/php/zeige.php?id=PSP05801-0096> [01.03.2011].
- Linaris (2011c). Linaris GmbH, Wertheim.) <http://www.linaris.de/linaris/php/zeige.php?id=PSP06100-0096> [01.03.2011].
- Lowe, C. N. & Butt, K. R. (2005). Culture techniques for soil dwelling earthworms: A review. Pedobiologia 49: 401-413.
- Lowe, C. N. & Butt, K. R. (2007). Culture of commercially obtained *Lumbricus terrestris* L.: Implications for sub-lethal ecotoxicological testing. Soil Biol. Biochem. 39 (7): 1674-1679.
- LTZ Augustenberg (2011). http://www.landwirtschaft-bw.info/servlet/PB/show/1251144/LTZ_Bivoltine%20Rasse%20des%20Mais%3%BCnslers.pdf
 [02.02.2011].
- Miethling-Graff, R., Dockhorn, S., Tebbe, C. C. (2010). Release of the recombinant Cry3Bb1 protein of *Bt* maize MON88017 into field soil and detection of effects on the diversity of rhizosphere bacteria. Eur. J. Soil Biol. 46 (1): 41-48.
- Meier, U. (2001). Entwicklungsstadien mono- und dikotyler Pflanzen, BBCH Monografie. 2. Auflage, Biologische Bundesanstalt für Land und Forstwirtschaft.

- Meissle, M. & Romeis, J. (2009). The web-building spider *Theridion impressum* (Araneae: Theridiidae) is not adversely affected by *Bt* maize resistant to corn rootworms. *Plant Biotech. J.* 7 (7): 645-656.
- Meyer (2008a). Hermann Meyer KG, Willich. <http://www.meyer-shop.com/item/1100200/110/0/39237/einheitserde-typ-ed-73.html> [02.10.2008].
- Meyer (2008b). Hermann Meyer KG, Willich. <http://www.meyer-shop.com/item/1040505/1040500/0/38637/pflanz-kuebel-30-l.html> [02.10.2008].
- Mima, J., Takahashi, A., Higuchi, H., Takahashi, T., Sekiguchi, T. (2002). A Method for Marking the Rice Leaf Bug, *Trigonotylus caelestialium* (Kirkaldy) (Heteroptera: Miridae), with Rubidium. *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 46: 253-256 (in Japanese with English summary).
- Moeser, J. & Hibbard, B. E. (2005). A synopsis of the nutritional ecology of larvae and adults of *Diabrotica virgifera virgifera* (LeConte) in the New and Old World - Nouvelle cuisine for the invasive maize pest *Diabrotica virgifera virgifera* in Europe? In: Western Corn Rootworm: Ecology and Management (ed. by Vidal, S., Kuhlmann, U., Edwards, C. R.) CABI Publishing, Wallingford.
- Monsanto (2010). <http://registerofquestions.efsa.europa.eu/roqFrontend/?wicket:interface=:0:buttonform:questionDetailsTabs:panel:docItemForm:pageable:1:fileNameLnk:1:LinkListener::> [26.07.2011]
- Moritz, G. (1991). Diagnosekartei zur Determination wirtschaftlich wichtiger Thysanoptera (Fransenflügler). Ringhefter mit 12 S. und 16 Diagnosetafeln, Martin-Luther-Universität Halle.
- Musser, F. R., Nyrop, J. P., Shelton, A. M. (2004). Survey of predators and sampling method comparison in sweet corn. *J. Econ. Entomol.* 97: 136-144.
- NABU (2011). <http://www.nabu.de/tiereundpflanzen/naturdesjahres/natur2004/02265.html> [04.02.11].
- Nguyen, H. T., Hunfeld, H., Meissle, M., Miethling-Graff, R., Pagel-Wieder, S., Rauschen, S., Zubruegg, C., Eber, S., Tebbe, C. C., Jehle, J. A. (2008). Round robin quantitation of Cry3Bb1 using the qualitative PathoScreen™ ELISA. *IOBC wprs Bulletin* 33: 59-66.
- Nötzold, V. (1997). Marienkäfer. Deutscher Jugendbund für Naturbeobachtung (DJN).
- Obrist, L. B., Klein, H., Dutton, A., Bigler, F. (2005). Effects of *Bt* maize on *Frankliniella tenuicornis* and exposure of thrips predators to prey-mediated *Bt*-toxin. *Entomol. Exp. Appl.* 115: 409-416.
- Obrist, L. B., Dutton, A., Albajes, R., Bigler, F. (2006a). Exposure of arthropod predators to Cry1Ab toxin in *Bt* maize fields. *Ecol. Entomol.* 31: 1-12.
- Obrist, L. B., Dutton, A., Romeis, J., Bigler, F. (2006b). Biological activity of Cry1Ab toxin expressed by *Bt* maize following ingestion by herbivorous arthropods and exposure of the predator *Chrysoperla carnea*. *BioControl* 51:31-48.
- Perry, J. N., ter Braak, C. J. F., Dixon, P. M., Duan, J. J., Hails, R. S., Huesken, A., Lavielle, M., Marvier, M., Scardi, M., Schmidt, K., Tothmeresz, B., Schaarschmidt, F., van der Voet, H. (2009). Statistical aspects of environmental risk assessment of GM plants for effects on non-target organisms. *Environ. Biosafety Res.* 8: 65-78.
- R (2011). R version 2.12.2. The R Foundation for Statistical Computing (25.02.2011).
- Rauschen, S., Eckert, J., Gathmann, A., Schuphan, I. (2004). Impact of growing *Bt*-maize on cicadas: diversity, abundance and methods. *IOBC/wprs Bulletin* 27: 137-142.
- Rauschen, S., Eckert, J., Schaarschmidt, F., Schuphan, I. and Gathmann, A. (2008). An evaluation of methods for assessing the impacts of *Bt*-maize MON810 cultivation and pyrethroid insecticide use on Auchenorrhyncha (planthoppers and leafhoppers). *Agric. For. Entomol.* 10: 331-339.

- Rauschen, S. (2008). Biosafety research into *Diabrotica*-resistant *Bt*-maize: Indicator organisms and monitoring methods. Dissertation RWTH Aachen, http://darwin.bth.rwth-aachen.de/opus3/volltexte/2008/2605/pdf/Rauschen_Stefan.pdf [28.06.2011].
- Rauschen, S., Schultheis, E., Pagel-Wieder, S., Schuphan, I., Eber, S. (2009). Impact of *Bt*-corn MON88017 in comparison to three conventional lines on *Trigonotylus caelestialium* (Kirkaldy) (Heteroptera: Miridae) field densities. *Transgenic Res.* 18 (2): 203-214.
- Rauschen, S., Schultheis, E., Hunfeld, H., Schaarschmidt, F., Schuphan, I., Eber, S. (2010a). *Diabrotica*-resistant *Bt*-maize DKc5143 event MON88017 has no impact on the field densities of the leafhopper *Zyginidia scutellaris*. *Environ. Biosafety Res.* 9: 87-99.
- Rauschen, S., Schaarschmidt, F., Gathmann, A. (2010b). Occurrence and field densities of Coleoptera in the maize herb layer: Implications for Environmental Risk Assessment of genetically modified *Bt*-maize. *Trans. Res.* 19: 727-744.
- Remane, R. (1964). Weitere Beiträge zur Kenntnis der Gattung *Nabis* Latr. (Hemiptera: Heteroptera: Nabidae), *Zoologische Beiträge*. Berlin 10: 253-314.
- Rodrigo-Simón, A., Caccia, S., Ferré, J. (2008). *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin-binding and pore-forming activity in brush border membrane vesicles prepared from anterior and posterior midgut regions of lepidopteran larvae. *Appl. Environ. Microbiol.* 74: 1710-1716.
- Römbke, J., Jänsch, S., Didden, W. (2005). The use of earthworms in ecological soil classification and assessment concepts. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 62: 249-265.
- Romeis, J., Meissle, M., Bigler, F. (2006). Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. *Nat. Biotechnol.* 24(1): 63-71.
- Romeis, J., Meissle M., Bigler, F. (2007). Reply to Early-tier tests insufficient for GMO risk assessment. *Nat. Biotechnol.* 25: 36-37.
- Romeis, J., Bartsch, D., Bigler, F., Candolfi, M. P., Gielkens, M. M. C., Hartley, S. E., Hellmich, R. L., Huesing, J. E., Jepson, P. C., Layton, R., Quemada, H., Raybould, A., Rose, R. I., Schiemann, J., Sears, M. K., Shelton, A. M., Sweet, J., Vaituzis, Z., Wolt, J. D. (2008). Assessment of risks of insect-resistant transgenic crops to nontarget arthropods. *Nat. Biotechnol.* 26: 203-208.
- Romeis, J., Lawo, N. C., Raybould, A. (2009). Making effective use of existing data for case-by-case risk assessments of genetically engineered crops. *J. Appl. Entomol.* 133 (8): 571-583.
- Romeis, J., Hellmich, R. L., Candolfi, M. P., Carstens, K., De Schrijver, A., Gatehouse, A. M. R., Herman, R. A., Huesing, J. E., McLean, M. A., Raybould, A., Shelton, A. M., Waggoner, A. (2011). Recommendations for the design of laboratory studies on non-target arthropods for risk assessment of genetically engineered plants. *Transgenic Res.* 20: 1-22.
- Saeglitz, C., Bartsch, D., Eber, S., Gathmann, A., Priesnitz, K. U., Schuphan, I. (2006). Monitoring the Cry1Ab Susceptibility of European Corn Borer in Germany. *J. Econ. Entomol.* 99(5): 1768-1773.
- Sanvido, O., Romeis, J., Bigler, F. (2009). An approach for post-market monitoring of potential environmental effects of *Bt*-maize expressing Cry1Ab on natural enemies. *J. Appl. Entomol.* 133 (4): 236-248.
- Sato, T. & Yasunaga, T. (1999). Taxonomy of the genus *Trigonotylus* FIEBER from Japan (Heteroptera, Miridae). *Rostria* 48: 11-19 (in Japanese with English summary).
- 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 Biol. Biochem.* 33: 1225-1230.
- Schaefer, M. (1994). Brohmer, P. [Begr.]: *Fauna von Deutschland* (19., überarbeitete Auflage). Wiebelsheim: Quelle & Meyer.

- Schmidt, J. E. U., Braun, C. U., Whitehouse, L. P., Hilbeck, A. (2008). Effects of activated *Bt* transgene products (Cry1Ab, Cry3Bb) on immature stages of the ladybird *Adalia bipunctata* in laboratory ecotoxicity testing. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 56 (2): 221-228.
- Schmitz, G. & Bartsch, D. (2001). Biozootische Untersuchungen in Maisfeldern bei Bonn und Aachen. Mitt. Dtsch. Ges. allg. angew. Entomol. 13: 615-618.
- Schmitz, G., Rothmeier, I., Greib, G., Ross-Nickoll, M., Bartsch, D. (2002). Zum Ausbreitungsprozess und –potential des Maiszünslers (*Ostrinia nubilalis* Hbn.) in Nordwestdeutschland. Z. Schädlingsk. Pflanzenschutz 6: 624-629.
- Schnepf, E., Crickmore, N., van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, F., Zeigler, D. R. & Dean, D. H. (1998). *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 62 (3): 775-806.
- Scholte, E.-J. & Dicke, M. (2005). Effects of insect-resistant transgenic crops on non-target arthropods: first step in pre-market risk assessment studies. Report Number CGM 2005-06 commissioned by the Commissie Genetische Modificatie COGEM, The Netherlands, via <http://www.cogem.net/ContentFiles/CGM%202005-06.pdf> [01.02.2011].
- Schrader, S., Münchenberg, T., Baumgarte, S., Tebbe, C. (2008). Earthworms of different functional groups affect the fate of the *Bt*-toxin Cry1Ab from transgenic maize in soil. Eur. J. Soil. Biol. 44 (3): 283-28.
- Schultheis, E. (2008). Aufnahme und Verbleib des *Bt*-Proteins Cry3Bb1 in Schlüsselarten der Maisbiozönose und seine Auswirkungen. Diplomarbeit RWTH Aachen.
- Shintani, Y. (2009a). Effect of a seasonal variation in host-plant quality on the rice leaf bug, *Trigonotylus caelestialium*. Entomol. Exp. Appl. 133: 128-135.
- Shintani, Y. (2009b). Artificial selection for responsiveness to photoperiodic change alters the response to stationary photoperiods in maternal induction of egg diapause in the rice leaf bug *Trigonotylus caelestialium*. J. Ins. Phys. 55: 818-824.
- Siqueria, H. A., González-Cabrera, J., Ferré, J., Flannagan, R., Siegfried, B. D. (2006). Analyses of Cry1Ab binding in resistant and susceptible strains of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Crambidae). Appl. Environ. Microbiol. 72: 5318-5324.
- Soberón, M., Pardo-López, L., López, I., Gómez, I., Tabashnik, B. E., Bravo, A. (2007). Engineering modified *Bt* toxins to counter insect resistance. Science 318: 1640-1642.
- Spencer, J. L., Levine, E., Isard, S. A., Mabry, T. R. (2005). Movement, dispersal and behaviour of Western Corn Rootworm adults in rotated maize and soybean fields. In: Western Corn Rootworm: Ecology and Management (ed. by Vidal S., Kuhlmann, U., Edwards, C. R.) CABI Publishing, Wallingford.
- Stippen.nl (2011). www.stippen.nl [14.04.2011].
- Suhre, F. B. (2000). Pesticide residues and acute risk assessment the US EPA approach. Food Addit. & Contam. 17: 569-573.
- Torres, J. B. & Ruberson, J. R. (2008). Interactions of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin in genetically engineered cotton with predatory heteropterans. Transgenic Res. 17:345–354.
- Transgen (2009). <http://www.transgen.de/recht/gesetze/292.doku.html> [09.08.2011].
- Transgen (2011). <http://www.transgen.de/zulassung/gvo/51.doku.html> [02.02.2011].
- UPB (2011). Umweltprobenbank. http://www.umweltprobenbank.de/de/documents/profiles/specimen_types/10224#further_information [04.02.2011].

- Van Frankenhuyzen, K. (2009). Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. J. Invertebr. Pathol. 101: 1-16.
- Van Montagu, M. (2011). It Is a Long Way to GM Agriculture. Annu. Rev. Plant Biol. 62: 1-23.
- Vercesi, M. L., Krogh, P. H., Holmstrup, M. (2006). Can *Bacillus thuringiensis* (Bt) corn residues and Bt-corn plants affect life-history traits in the earthworm *Aporrectodea caliginosa*? Appl. Soil Ecol. 32: 180-187.
- Wheeler, A.G. & Henry, T. J. (1985). *Trigonotylus coelestialium* (Heteroptera: Miridae), a pest of small grains: seasonal history, host plants, damage, and descriptions of adult and nymphal stages. Proc. Entomol. Soc. Wash. 87 (4): 699-713.
- Wheeler, A. G. (2000). Plant Bugs (Miridae) as Plant Pests. In: Heteroptera of Economic Importance (ed. by Schaefer, C. W. & Panizzi, A. R.), CRC Press, Boca Raton, 37-83.
- Wheeler, A. G. (2001). Biology of the Plant Bugs. Cornell University Press, Ithaca, N.Y.
- Wyniger, R. (1974). Insektenzucht. Methoden der Zucht und Haltung von Insekten und Milben im Laboratorium. Eugen Ulmer, Stuttgart.
- Yasuda, H., Kikuchi, T., Kindlmann, P., Sato, S. (2001). Relationships between attack and escape rates, cannibalism, and intraguild predation in larvae of two predatory ladybirds. J. Insect Behav. 14: 373-384.
- Zellner, M. (2001). Maßnahmen gegen den Maiszünsler - Wirkungsweise und Erfolgsaussichten. Maisinformation 1: 3-5.
- 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.
- Zwahlen, C., Hilbeck, A., Gugerli, P., Nentwig, W. (2003a). Degradation of the Cry1Ab protein within transgenic *Bacillus thuringiensis* corn tissue in the field. Mol. Ecol. 3: 765-775.
- Zwahlen, C., Hilbeck, A., Howald, R., Nentwig, W. (2003b). Effects of transgenic Bt corn litter on the earthworm *Lumbricus terrestris*. Mol. Ecol. 12: 1077-1086.

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Übersicht über den weltweiten Körnermaisbau 2007-20010 durch das Deutsche Maiskomitee e.V., aufgeteilt in Anbaufläche in 1000 ha bzw. 1000 t nach Kontinenten (v: vorläufig, s: Schätzung) (Quelle: DMK, 2011f)	6
Abbildung 2: Übersicht über die wichtigsten Körnermais produzierenden Länder weltweit 2008, aufgetragen nach der jährlichen Produktion in internationalen Dollar und in Megatonnen (FAO, 2011b)	7
Abbildung 3: <i>Ostrinia nubilalis</i> links: adultes Weibchen, rechts: Maiszünslerlarve in Maisstängel (Quelle: Biosicherheit, 2011b/c (links: Dr. R. Kaiser-Alexnat, rechts: G. Spelsberg))	8
Abbildung 4: Verbreitung des Maizünslers in Deutschland 2009 (nördliche Verbreitungsgrenze, Erhebungen für Mecklenburg-Vorpommern und Niedersachsen für 2009 noch nicht berücksichtigt, für NRW erste Daten aus 2009; Quelle: Biosicherheit, 2011d (transgen/i-bio))	9
Abbildung 5: Adulte <i>D. virgifera virgifera</i> (ungarischer Feldstamm, links männlich, rechts weiblich; Quelle: Biosicherheit, 2011e (K. Gloyna, BTL Bio-Test Labor GmbH))	10
Abbildung 6: <i>D. virgifera virgifera</i> als Schädling (links: Larven an der Wurzel, Mitte: befallene Wurzel im Vergleich zu einer gesunden Wurzel, rechts: "Lodging" der Maispflanze als Reaktion auf die reduzierte Standfestigkeit; Quelle: Biosicherheit, 2011e (M. Czepo))	10
Abbildung 7: Vorkommen von <i>D. virgifera virgifera</i> in Europa 2009 (rote Bereiche: <i>D. v.</i> in 2009 aktiv vorkommend, blaue Bereiche: nur frühere Fänge, nicht aber in 2009; EPPO, 2011)	11
Abbildung 8: schematische Übersicht eines Cry-Proteins mit den drei Domänen in α -Helix (Domäne I) bzw. β -Faltblattstruktur (Domäne II und III) (Quelle: De Maagd et al., 2003)	13
Abbildung 9: Übersicht über das 6-stufige Konzept der Umweltrisikoprüfung nach der Direktive 2001/18/EC und der Verordnung 1829/2003/EC (Quelle: EFSA, 2010a)	16
Abbildung 10: Entscheidungsbaum für den mehrstufigen Ansatz (tiered approach) in der Hypothesen-basierten Untersuchung in der Umwelt-risikoprüfung (EFSA, 2010a)	16
Abbildung 11: Übersicht über den mehrstufigen Ansatz zur Auswahl möglicher Stellvertreterarten (EFSA, 2010)	18
Abbildung 12: Karte des Plasmids PV-ZMIR245, genutzt für die Entwicklung des „Events“ MON89034 (Quelle: Freisetzungsantrag, 2008)	21
Abbildung 13: Karte des Plasmids PV-ZMIR39, genutzt für die Entwicklung von MON88017 (Freisetzungsantrag, 2008)	22
Abbildung 14: <i>T. caelestialium</i> (adultes Männchen) auf Maisblatt (Quelle: K. U. Priesnitz)	24
Abbildung 15: Schematische Übersicht der funktionellen Beziehungen zwischen Regenwürmern und ihrer umgebenden Umwelt (Quelle: Römbke et al., 2005)	26
Abbildung 16: Lage des Versuchsfeldes im Westen von Braunschweig (markiert durch ein rotes Rechteck und einen Pfeil) (Quelle: Freisetzungsantrag, 2008)	29
Abbildung 17: Auszug aus dem Standortregister (Quelle: BVL, 2011)	29
Abbildung 18: Anbauplan des Friedrich-Löffler-Instituts 2010 (Quelle: verändert nach FLI Braunschweig, persönliche Mitteilung), Versuchsfeld des BMBF-Verbundes in rot umrahmt, Feld Mühlenkamp Nord in orange umrahmt	30

Abbildung 19: Anordnung des Braunschweiger Feldversuchs 2008-2010: Maissorten GV-Mais DKC 5143-Bt (MON, rot), nah-isogene Sorte DKC 5143 (grün), konventionelle Sorten Benicia (lila) und DKC 4250 (blau) sowie DKC 5143 mit Bodeninsektizidbehandlung Tefluthrin (gelb); eingetragen zusätzlich Trennwege (weiß) und Mantelsaat (dunkelgrün)	30
Abbildung 20: Keschern im Feld (Quelle: Biosicherheit, 2011f (N. Arndt)).....	34
Abbildung 21: Probenahme Frühjahr 2008, (X: Probenahmestelle vor dem ersten Einmessen des Versuchsfeldes relativ zum späteren Versuchsdesign)	38
Abbildung 22: Regenwurmprobenahme auf dem Versuchsfeld (Edelstahlrahmen im Boden, hier bisher nur 10 cm tief gegraben; Quelle: Biosicherheit, 2011g (S. Fuhrmann)).....	38
Abbildung 23: Zuchtdosen Abbildung 24: Maisblätter MON 89034 x MON 88017, links: nach einem Tag mit Fraßspuren, rechts: frisch.....	41
Abbildung 25: Versuchsaufbau Fraßversuch zur Aufklärung des Schicksal der Cry-Proteine.....	42
Abbildung 26: Regenwurmdauerversuch a) Lufttrocknen der Maisblätter, b) Anordnung in der Klimakammer (vorne: Ansätze mit Maispflanzen, hinten: Ansätze mit luftgetrocknetem Blattmaterial)	47
Abbildung 27: ELISA-Farbreaktion (vor Zugabe der „Stop Solution“, Platte zur Messung von Cry3Bb1 am 09.04.09).....	51
Abbildung 28: Fraßmengenbestimmung: a - Originalbild mit Skalierung, b - ausgeschnittenes Bild, c - markierte Fraßspuren, d - umgefärbte Flächen mit Bestimmung der schwarzen Fläche (hier 97,837 %)	52
Abbildung 29: Darstellung der Familie der Thripidae 2008 (links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen in den männlichen Blütenständen, Beprobung von jeweils 25 Pflanzen; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden).....	56
Abbildung 30: Darstellung der Zusammensetzung der Thripszönose über die Blüte 2009 in absoluten Fangzahlen auf Familienniveau (Beprobung aller acht Parzellen mit je 25 männlichen Blütenständen; links: in der Sorte Benicia mit drei Probenahmezeitpunkten; rechts: in der Sorte DKC 4250 mit zwei Probenahmezeitpunkten)	57
Abbildung 31: Darstellung der Zusammensetzung der Thripszönose über die Blüte 2010 in der Sorte Benicia mit zwei Probenahmezeitpunkten in absoluten Fangzahlen auf Familienniveau (Beprobung aller acht Parzellen mit je 25 männlichen Blütenständen)	57
Abbildung 32: Darstellung der Unterfamilie der Thripinae 2009 (oben) und 2010 (unten) (links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen in den männlichen Blütenständen, Beprobung von jeweils 25 Pflanzen; rechts: zugehörige 99,5 % bzw. 99,167 % - Konfidenzintervalle, Beprobung der Insektizidbehandlung entfiel 2010, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden).....	58
Abbildung 33: Grafische Darstellung der Familie der Coccinellidae 2009 (links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen auf Klebtafeln, Beprobung in der Woche vom 31.07.-06.08.2009; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden).....	59
Abbildung 34: Darstellung der Larven von <i>Harmonia axyridis</i> 2009 (links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Keschern, Beprobung am 21.07.2009; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden)	62

- Abbildung 35: Darstellung des Vorkommens des Schachbrettmarienkäfers 2010 (links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen auf Klebetafeln, Beprobung in der Woche vom 14.-21.07.2010 ; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b, c) statistisch nicht signifikant verschieden)..... 64
- Abbildung 36: Darstellung der Zikadenzönose (adult) 2008, oben Frühsommer (17.07.2008), unten Hochsommer (18.08.2008) (links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Kescher, pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden) 65
- Abbildung 37: Darstellung der Zikadenzönose (adult) im Spätsommer 2009 (links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Kescher, Beprobung am 14.09.2009, pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,167-Konfidenzintervalle, Beprobung der DKC 5143 mit Insektizidbehandlung entfiel, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a) statistisch nicht signifikant verschieden) 66
- Abbildung 38: Darstellung der Verteilung von *Zyginidia scutellaris* Spätsommer 2009 (oben: adulte männliche Tiere, unten: adulte weibliche Tiere, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Kescher, Beprobung am 14.09.2009, pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,167 % - Konfidenzintervalle, Beprobung der Sorte DKC 5143 mit Insektizidbehandlung entfiel, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden) 68
- Abbildung 39: Darstellung der Verteilung von *Zyginidia scutellaris* Spätsommer 2009 (adulte Tiere beider Geschlechter, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen auf der Klebetafel, Beprobung in der Woche vom 03.09. - 10.09.2009, pro Parzelle eine Klebetafel; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a) statistisch nicht signifikant verschieden) 69
- Abbildung 40: Darstellung der Verteilung von *Javesella pellucida* Hochsommer 2008 (adulte Tiere beider Geschlechter, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Kescher, Beprobung am 17.07.2008, pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden) 70
- Abbildung 41: Darstellung der Verteilung von *Trigonotylus caelestialium* Frühsommer 2009 (adulte Tiere beider Geschlechter, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Kescher, Beprobung am 21.07.2009, pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden) 74
- Abbildung 42: Darstellung der Verteilung von *Trigonotylus caelestialium* Hochsommer 2008 (juvenile Tiere, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Kescher, Beprobung am 18.08.2008, pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b, c) statistisch nicht signifikant verschieden)..... 74
- Abbildung 43: Darstellung der Verteilung von *Trigonotylus caelestialium* Hochsommer 2009 (juvenile Tiere, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Kescher, Beprobung am 18.08.2009, pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a) statistisch nicht signifikant verschieden) 75
- Abbildung 44: Darstellung der Verteilung von *Orius spec.* Vollblüte 2008 (adulte Tiere beider Geschlechter, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen in den männlichen Blütenständen zur jeweiligen Vollblüte, Beprobung am 30.07. (1-2) bzw. 05.08.2008 (3-5), pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden) 75

Abbildung 45: Interne Gehalte an Cry3Bb1 aus DKC 5143-Bt MON 89034 X MON 88017 (gemessen im ELISA, Behandlungen: MON (Feld) – Tiere aus MON-Parzellen Versuchsfeld; MON (3 d) – Tiere aus konv. Zucht, 3 Tage MON; MON (4 d) – Tiere aus konv. Zucht, 4 Tage MON; MON – Tiere aus MON-Zucht; MON (24 h), ISO (2-10 h) – Tiere aus konv. Zucht, dann 24 h MON, anschl. 2-10 h ISO; MON, ISO (12-18 h) – Tiere aus MON-Zucht, dann 12-18 h ISO).....	77
Abbildung 46: Vergleich der in 24 Stunden durch adulte <i>T. caelestialium</i> gefressenen Fläche in Abhängigkeit von der verfütterten Sorte (Auswertung mit Image J, statistische Auswertung mit Kruskal-Wallis-Test).....	78
Abbildung 47: Untersuchung der Reproduktion der F ₁ -Generation in Zucht gehaltener <i>T. caelestialium</i> in Abhängigkeit von der verfütterten Maissorte - Vergleich der mittleren Anzahl abgelegter Eier pro Weibchen und Tag (statistische Analyse mit einem Kruskal-Wallis-Test; Ziffern geben die Beprobungsdauer in Tagen an; Gesamtzahl der Eier im Versuch: 491 (MON), 76 (ISO), 50 (DKC); Indices geben die Versuchsgruppe (je 12 Tiere) an)	78
Abbildung 48: Untersuchung der Reproduktion der F ₂ -Generation in Zucht gehaltener <i>T. caelestialium</i> in Abhängigkeit von der verfütterten Maissorte - Vergleich des Zeitraumes zwischen Eiablage und Schlupf (statistische Analyse mit einem Likelihood-Quotienten-Test, p=0,5737; Gesamtzahl der Eier im Versuch: MON 120, ISO 60, DKC 33, BEN 33).....	79
Abbildung 49: Untersuchung der Reproduktion der F ₂ -Generation in Zucht gehaltener <i>T. caelestialium</i> in Abhängigkeit von der verfütterten Maissorte - Vergleich der Schlupfrate (statistische Analyse mit einem Kruskal-Wallis-Test mit anschließendem Wilcoxon-Test; links: Schlupfrate als Quotient geschlüpfter und ungeschlüpfter Eier ohne Gelege in Diapause (0 % geschlüpft), rechts: Schlupfrate als Quotient aus geschlüpften und ungeschlüpften Eiern inkl. Eiern aus Gelegen mit 0 % Schlupf (Gelege in Diapause))	79
Abbildung 50: Untersuchung der Reproduktion der F ₁ - und F ₂ -Generation in Zucht gehaltener <i>T. caelestialium</i> in Abhängigkeit von der verfütterten Maissorte - Vergleich der Sterblichkeit während der Nymphenentwicklung (statistische Analyse mit einem Likelihood-Quotienten-Test, Sorten mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden).....	80
Abbildung 51: Untersuchung der Reproduktion der F ₁ -Generation in Zucht gehaltener <i>T. caelestialium</i> in Abhängigkeit von der verfütterten Maissorte - Vergleich der Nymphenentwicklungsdauer (statistische Analyse mit einem Likelihood-Quotienten-Test, Sorten mit gleichen Buchstaben (a, b, c) statistisch nicht signifikant verschieden)	81
Abbildung 52: Darstellung der Verteilung der Taghaften im Frühsommer 2008 (adulte Tiere beider Geschlechter, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Kescher, Beprobung am 17.07.2008, pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden)	83
Abbildung 53: Darstellung der Verteilung der Taghaften im Hochsommer 2008 (adulte Tiere beider Geschlechter, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen im Kescher, Beprobung am 18.08.2008, pro Parzelle vier Transekte à 30 m als Sammelprobe; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden)	83
Abbildung 54: Darstellung der Verteilung der Schwebfliegen im Frühsommer 2009 (adulte Tiere beider Geschlechter, links: Boxplotdarstellung der erhobenen Abundanzen auf Klebetafeln, Beprobung vom 23.07.-30.07.2009, pro Parzelle eine Klebetafel; rechts: zugehörige 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a, b) statistisch nicht signifikant verschieden)	85

Abbildung 55: grafische Darstellung des Einflusses der Feldbewässerung auf verschiedene Organismengruppen im Sommer 2010 (Mittelwerte der Anzahl der gefangenen Tiere pro Woche und Klebtafel im beregneten (grau) und trockenen (schwarz) Feldteil, Probenahme in den Wochen vom 28.07.-01.09.)	86
Abbildung 56: Vergleich der Gewichte von im Feld gefangenen Lumbriciden (20.04.2010, DKC Parzelle A4, MON Parzelle A1, Analyse mit dem Kruskal-Wallis Chi-Quadrat-Test).....	87
Abbildung 57: Darstellung der Verteilung der Lumbriciden auf dem Feld zu allen Probenahmezeitpunkten (jeweils adult & juvenil).....	87
Abbildung 58: Verteilung der Regenwürmer auf der Feldversuchsfläche vor Beginn des Freisetzungsversuchs (Frühjahr 2008, Probenahmestellen bezeichnet in Anlehnung an das spätere Feldversuchsdesign, MS – Probenahme in der Mantelsaat, z.B. MS A3 – Probenahme auf Höhe der Parzelle A3).....	88
Abbildung 59: Verteilung der Lumbriciden-Gemeinschaft auf dem Versuchsfeld zu ausgewählten Probenahmezeitpunkten (links oben: Adulte Herbst 2008, rechts oben: Adulte Frühjahr 2009, links unten: Juvenile Herbst 2008, rechts unten: Juvenile Frühjahr 2009)	89
Abbildung 60: Boxplotdarstellung der Aufsummierung aller gesammelten Würmer je Plot aller Probenahmen (links: Adulte, rechts: Juvenile).....	90
Abbildung 61: Boxplotdarstellung der gefangenen adulten Lumbriciden Herbst 2008 (links, rechts: 99,5 % - Konfidenzintervalle, Abundanzen mit gleichen Buchstaben (a) statistisch nicht signifikant verschieden)	90
Abbildung 62: Darstellung des Niederschlags auf der Feldfläche 2008-2010 (jeweils 01.05.-31. 10., Daten nach DWD).....	93
Abbildung 63: Darstellung des Temperaturverlaufs 01.05.-31.10. in den Jahren 2008-2010 (dargestellt ist jeweils die Temperatur um 14 Uhr Mittag, (blaue Linie 2008, rote Linie 2009 und grüne Linie 2010) Daten nach DWD).....	94
Abbildung 64: Darstellung der täglichen Sonnenscheindauer (in Stunden) während der Wachstumsperioden 01.05.-31.10. in den Jahren 2008-2010 (Daten nach DWD).....	95
Abbildung 65: Darstellung der täglichen mittleren Windgeschwindigkeit während der Wachstumsperioden (01.05.-31.10.) in den Jahren 2008-2010 (Daten nach DWD, blaue Pfeile symbolisieren den Zeitpunkt der Pollenschüttung)	95

7.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Systematische Einordnung der Nutzpflanze Mais nach Heywood (1978).....	5
Tabelle 2: Übersicht bekannter Cry-Proteine / -Proteinfamilien und getesteter Zielorganismen (schwarz gefüllt: aktiv, weiß gefüllt: nicht aktiv, grau gefüllt: eventuell aktiv, ungefüllt: nicht getestet, Toxinfamilien, für die keine Bioassaydaten verfügbar sind, sind nicht aufgeführt; Quelle: Van Frankenhuyzen, 2009).....	13
Tabelle 3: Ursprung und Funktion der Komponenten des PV-ZMIR245-Plasmids, genutzt für die Herstellung des MON 89034 (verändert nach: Freisetzungsantrag, 2008).....	20
Tabelle 4: Komponenten des Plasmids PV-ZMIR39 und ihre Funktionen, genutzt zur Entwicklung von MON88017 (verändert nach: Freisetzungsantrag, 2008).....	22
Tabelle 5: Übersicht über die Aussaat- und Erntetermine, Boden- und Herbizidbehandlungen und die Bewässerung (Quelle: FLI Braunschweig, persönliche Mitteilung)	31
Tabelle 6: Übersicht über die Probenahmetermine für Arthropoden über die gesamte Projektdauer 2008-2010 (beprobte Bereiche orange eingefärbt) (KW: Kalenderwoche)	33
Tabelle 7: Kescherschema 2009 (MS: Mantelsaat)	34
Tabelle 8: Daten der landwirtschaftlichen Feldpraxis auf dem Vergleichsfeld Mühlenkamp-Nord 2010 (Quelle: FLI, persönliche Mitteilung)	36
Tabelle 9: Übersicht über die genutzte Bestimmungsliteratur	37
Tabelle 10: Übersicht über die Probenahmetermine Regenwurm über die gesamte Projektdauer 2008-2010	37
Tabelle 11: Literatur zur Artbestimmung der gefangenen Regenwürmer.....	39
Tabelle 12: Übersicht über die Probenahmen im Fraßversuch (d = Tage, h = Stunden, MON: DKC 5143- <i>Bt</i> MON 89034 x MON 88017, ISO: DKC 5143)	42
Tabelle 13: Übersicht der Einzelorganismen nach Sorte und Generation	42
Tabelle 14: Anzahl der verwendeten Ansätze im Full-Life-Cycle-Test in F ₁ und F ₂	43
Tabelle 15: Zutaten für die Zünslerdiät	43
Tabelle 16: getestete Ansätze	44
Tabelle 17: Zusammensetzung des PBST-Puffers.....	45
Tabelle 18: Übersicht über die Versuchsansätze im Regenwurmdauerversuch, erster Ansatz.....	46
Tabelle 19: Versuchsansätze im Regenwurmfluchttest	48
Tabelle 20: Puffer der verwendeten Cry-Proteine Cry1A.105, Cry2Ab2 und Cry3Bb1	49
Tabelle 21: Systematische Übersicht über die Thripszönose der männlichen Blütenstände (dominierende Taxa sind hervorgehoben).....	55
Tabelle 22: Übersicht über die in den Klopffproben ermittelten Abundanzen der vorherrschenden Thripsfamilien in den männlichen Maisblüten (Mittelwerte (MW) mit Standardabweichungen (SD) gemittelt pro Parzelle, aufaddiert aus je 5 Proben à 5 Pflanzen, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)	55
Tabelle 23: Systematische Übersicht über die erhobene Käferzönose (dominierende Taxa sind hervorgehoben).....	59

Tabelle 24: Übersicht über statistisch signifikante nachweisbare Unterschiede für die Familie der Marienkäfer (Nachweis über Konfidenzintervalle, die geringere Abundanz zeigt sich in der jeweils erstgenannten Maissorte: BEN – Benicia, DKC – DKC 4250, ISO – DKC 5143, MON – DKC 5143-Bt, TEF - Insektizidbehandlung)	60
Tabelle 25: Übersicht über die ermittelten Abundanzen des Zweipunktmarientkäfers <i>Adalia bipunctata</i> über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD gemittelt aus je acht Parzellen pro Sorte, Klopffproben aufaddiert aus je 5 Proben à 5 Pflanzen je Parzelle, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)	60
Tabelle 26: Übersicht über die ermittelten Abundanzen des Siebenpunktmarientkäfers <i>Coccinella septempunctata</i> über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD gemittelt aus je acht Parzellen pro Sorte, Klopffproben aufaddiert aus je 5 Proben à 5 Pflanzen je Parzelle, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebetafelproben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt).....	61
Tabelle 27: Übersicht über die ermittelten Abundanzen des asiatischen Marienkäfers <i>Harmonia axyridis</i> über die 2008-2010 (MW mit SD aus je acht Parzellen pro Sorte, Klopffproben aufaddiert aus je 5 Proben à 5 Pflanzen je Parzelle, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebetafelproben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)	62
Tabelle 28: Übersicht über die ermittelten Abundanzen des Schachbrettmarienkäfers <i>Propylea quattuordecimpunctata</i> über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD aus je acht Parzellen pro Sorte, Klopffproben aufaddiert aus je 5 Proben à 5 Pflanzen je Parzelle, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebetafelproben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt).....	63
Tabelle 29: Systematische Übersicht über die erhobene Zikadenzönose (dominierende Taxa sind hervorgehoben).....	64
Tabelle 30: Übersicht über statistisch signifikante nachweisbare Unterschiede für die Ordnung der Zikaden (Nachweis über Konfidenzintervalle, die geringere Abundanz zeigt sich in der jeweils erstgenannten Maissorte: BEN – Benicia, DKC – DKC 4250, ISO – DKC 5143, MON – DKC 5143-Bt, TEF - Insektizidbehandlung)	65
Tabelle 31: Übersicht über die ermittelten Abundanzen der dominierenden Zikade <i>Zyginidia scutellaris</i> über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD gemittelt aus je acht Parzellen pro Sorte, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebetafelproben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt).....	67
Tabelle 32: Übersicht über statistisch signifikante nachweisbare Unterschiede für die Art <i>Zyginidia scutellaris</i> (Nachweis über Konfidenzintervalle, die geringere Abundanz zeigt sich in der jeweils erstgenannten Maissorte: BEN – Benicia, DKC – DKC 4250, ISO – DKC 5143, MON – DKC 5143-Bt, TEF - Insektizidbehandlung)	67
Tabelle 33: Übersicht über die ermittelten Abundanzen der Zikade <i>Javesella pellucida</i> über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD aus je acht Parzellen pro Sorte, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebetafel-proben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)	69
Tabelle 34: Übersicht über statistisch signifikante nachweisbare Unterschiede für die Art <i>Javesella pellucida</i> (Nachweis über Konfidenzintervalle, die geringere Abundanz zeigt sich in der jeweils erstgenannten Maissorte: BEN – Benicia, DKC – DKC 4250, ISO – DKC 5143, MON – DKC 5143-Bt, TEF - Insektizidbehandlung)	70

Tabelle 35: Übersicht über die ermittelten Abundanzen der Zikade <i>Macrosteles laevis</i> über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD aus je acht Parzellen pro Sorte, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebetafel-proben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)	71
Tabelle 36: Übersicht über statistisch signifikante nachweisbare Unterschiede für die Ordnung der Zikaden (Nachweis über Konfidenzintervalle, die geringere Abundanz zeigt sich in der jeweils erstgenannten Maissorte: BEN – Benicia, DKC – DKC 4250, ISO – DKC 5143, MON – DKC 5143-Bt, TEF - Insektizidbehandlung)	71
Tabelle 37: Systematische Übersicht über die erhobene Wanzenzönose (dominierende Taxa sind hervorgehoben).....	72
Tabelle 38: Übersicht über die ermittelten Abundanzen der Reisblattwanze <i>Trigonotylus caelestialium</i> über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD gemittelt aus je acht Parzellen pro Sorte, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebetafelproben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt).....	73
Tabelle 39: Übersicht über die ermittelten Abundanzen der Reisblattwanze <i>Trigonotylus caelestialium</i> (juvenile Tiere) über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD gemittelt aus je acht Parzellen pro Sorte, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebetafelproben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt).....	73
Tabelle 40: Übersicht über statistisch signifikante nachweisbare Unterschiede für die Art <i>Trigonotylus caelestialium</i> (Nachweis über Konfidenzintervalle, die geringere Abundanz zeigt sich in der jeweils erstgenannten Maissorte: BEN – Benicia, DKC – DKC 4250, ISO – DKC 5143, MON – DKC 5143-Bt, TEF - Insektizidbehandlung)	74
Tabelle 41: Übersicht über statistisch signifikante nachweisbare Unterschiede für die Art <i>Trigonotylus caelestialium</i> (juvenil) (Nachweis über Konfidenzintervalle, die geringere Abundanz zeigt sich in der jeweils erstgenannten Maissorte: BEN – Benicia, DKC – DKC 4250, ISO – DKC 5143, MON – DKC 5143-Bt, TEF - Insektizidbehandlung)	74
Tabelle 42: Übersicht über die ermittelten Abundanzen der Blumenwanze <i>Orius spec.</i> über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD gemittelt aus je acht Parzellen pro Sorte, Klopffproben aufaddiert aus je 5 Proben à 5 Pflanzen je Parzelle, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebetafelproben eine Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt)	76
Tabelle 43: Im Biotest ermittelte LC ₅₀ -Werte.....	81
Tabelle 44: Im Biotest getestete <i>Ostrinia nubilalis</i> -Larven	81
Tabelle 45: Systematische Übersicht über weitere erhobene Arthropodengemeinschaften (dominierende Taxa sind hervorgehoben).....	82
Tabelle 46: Übersicht über die ermittelten Abundanzen der Taghaften (Hemerobiidae) über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (MW mit SD gemittelt aus je acht Parzellen pro Sorte, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebetafelproben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt).....	82
Tabelle 47: Übersicht über statistisch signifikante nachweisbare Unterschiede für die Familie der Taghaften (Nachweis über Konfidenzintervalle, die geringere Abundanz zeigt sich in der jeweils erstgenannten Maissorte: BEN – Benicia, DKC – DKC 4250, ISO – DKC 5143, MON – DKC 5143-Bt, TEF - Insektizidbehandlung)	83

Tabelle 48: Übersicht über die ermittelten Abundanzen der grünen Florfliege <i>Chrysoperla carnea</i> über die Versuchsjahre 2008 bis 2010 (Mittelwerte mit Standardabweichung gemittelt aus je acht Parzellen pro Sorte, Kescherproben aus vier Transekten à 30 m je Parzelle, Klebetafelproben aus je einer Tafel pro Parzelle, X – keine Probenahme in der entsprechenden Sorte zu diesem Zeitpunkt) .	84
Tabelle 49: Systematischer Überblick über die vorhandenen Lumbriciden auf Gattungsniveau mit einzelnen vorkommenden Arten auf der Feldversuchsfläche 2008-2010	86
Tabelle 50: Statistische Signifikanzen innerhalb des Datensatzes "Juvenile Lumbriciden", Zeitpunkt und 99,5 % - Konfidenzintervalle	91
Tabelle 51: Ergebnisübersicht der Regenwurmdauerversuche (1. Ansatz: Versuch in Einheitserde ED 73, eingesetzte Würmer pro Ansatz: 20; 2. Ansatz: Versuch in defaunierter Felderde (Parzelle A4), eingesetzte Würmer pro Ansatz: 20)	92
Tabelle 52: Ergebnisse der Regenwurmfuchttests nach statistischer Auswertung mit dem Fisher's Exact Test (10 Tiere pro Ansatz, Auswertung nach 72 h)	93

7.4 Rohdaten

Die Rohdaten, die dieser Dissertation zugrunde liegen, sind den Exemplaren für die Gutachter im .xls-Format auf einem Datenträger beigelegt. Den veröffentlichten Exemplaren sind keine Daten beigelegt, sie können aber bei der Autorin jederzeit angefragt werden.

E-Mail-Adresse der Autorin: eva.schultheis@rwth-aachen.de

Ich möchte den folgenden Personen für ihren Beitrag zum Gelingen meiner Arbeit ganz besonders danken:

- Prof. Alan Slusarenko, für die Möglichkeit meine Promotion an seinem Institut durchzuführen und für die Übernahme des ersten Gutachtens
- Prof. Ingolf Schuphan, für die Übernahme des zweiten Gutachtens, für die Unterstützung und die vielen wertvollen Tipps
- Prof. Detlef Bartsch, für die fachliche Unterstützung
- Dr. Stefan Rauschen, für die allzeit kompetente Unterstützung, nicht nur in fachlichen Problemen, das immer offene Ohr und den Glauben an meine Fähigkeiten
- Dr. Sabine Eber, für die Heranführung an die Fragestellung und die Unterstützung des Gedankens, eine Doktorarbeit anzugehen
- Dr. Kai Priesnitz, mit dem ich in den letzten drei Jahren einmal um die Erde gereist bin, der mir immer zur Seite stand und mich jederzeit aufzumuntern wusste
- meiner gesamten Arbeitsgruppe, für die vielen guten Gespräche, die Hilfsbereitschaft, das gute Essen, den angenehmen Umgang miteinander und die stets gute Arbeitsatmosphäre
- Julia Aha, Maike Guschal, Lisa Wagenführ & Nadine Krüger, für die Unterstützung meiner Arbeit auf dem Feld und im Labor
- der Arbeitsgruppe „Insektenvirologie und molekulare Insektenpathologie“ am JKI Darmstadt, insbesondere Annette Sauer, sowie der Arbeitsgruppe „Molekulare Umweltmikrobiologie“ am vTI Braunschweig, insbesondere Claudia Wiese, für die Hilfe in Laborfragen und die Möglichkeit, vorhandene Testsysteme vor Ort zu nutzen
- dem gesamten Team des FLI Braunschweig, insbesondere Herrn Hackelsperger, für die vielen praktischen Hilfen auf dem Versuchsfeld
- dem gesamten Team des Instituts für Biologie 3, insbesondere der „Garlic Group“, die uns mit offenen Armen empfangen haben und im Labor immer an unserer Seite standen
- Susanne, die nicht nur meine Arbeit praktisch unterstützte, sondern auch immer Obdach bot und die Fahrten nach Braunschweig oft genug auch zu einem Besuch bei guten Freunden machte
- den Freunden aus meinem Verein, die die häufige Reiserei immer unterstützten, häufig genug für den nötigen „freien“ Kopf sorgten, immer an mich glaubten und mir mit Rat und Tat zur Seite standen
- meiner Familie, die immer an meiner Seite steht und meinen Weg unterstützt