

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für biologischen Pflanzenschutz, Darmstadt

## Empfindlichkeit von Maiszünslerlarven gegenüber *B.t.*-176 Maispollen

Susceptibility of European Corn Borer larvae to pollen of *B.t.*-176 maize

Martin Felke und Gustav-Adolf Langenbruch

### Zusammenfassung

Untersuchungen zur Empfindlichkeit von Maiszünslerlarven (2. Larvalstadium) gegenüber Maispollen der Linie *B.t.*-176 wurden im Rahmen des F+E-Vorhabens „Auswirkungen des Pollens von transgenem Bt-Mais auf ausgewählte Schmetterlingslarven“ (BMBF/UBA) durchgeführt. Im Rahmen von Fütterungsversuchen ohne Auswahlmöglichkeit wurden definierte Pollenmengen der transgenen Linie *B.t.*-176 (Sorte: PACTOL CB), die das Cry1Ab  $\delta$  Endotoxin exprimiert, sowie der konventionellen, isogenen Linie (Sorte: PACTOL) an die Raupen verfüttert. Am Ende des einwöchigen Biotests wurden Gewichtszunahme und Mortalitätsrate erfasst. Die Sterblichkeit der getesteten Maiszünslerlarven erhöhte sich mit zunehmender Anzahl der applizierten Pollenkörner von *B.t.*-176 Mais, so dass sich eine Dosis-Wirkungsbeziehung eindeutig nachweisen ließ. Bereits bei der Verfütterung von 10 Pollenkörnern pro Larve war die Mortalitätsrate mit  $28 \pm 10,2$  % deutlich höher als in der unbehandelten Kontrolle ( $10,31 \pm 2,41$  %). Ab einer Zahl von 20 *B.t.*-176 Maispollen (Mortalitätsrate =  $59,56 \pm 12,07$  %) war der Unterschied zur unbehandelten Kontrolle signifikant. Bei der höchsten getesteten Pollendosis (160 Pollenkörner) lag die Sterblichkeit nach einer Woche bei  $80 \pm 8,37$  %. Die Gewichtszunahme der Larven, die mit *B.t.*-176 Maispollen gefüttert worden waren, war stets geringer als in der unbehandelten Kontrolle. Allerdings waren die Unterschiede nicht signifikant. Bei Verfütterung von Pollen der konventionellen Sorte PACTOL ließ sich für keine einzige Variante weder hinsichtlich der Mortalitätsrate, noch bezüglich der Gewichtszunahme ein signifikanter Unterschied zur unbehandelten Kontrolle nachweisen. Der LC<sub>50</sub>-Wert konnte mit 32,43 *B.t.*-176 Maispollen pro Larve ermittelt werden. Der 95%ige Vertrauensbereich lag zwischen 19,38 und 48,8 Pollenkörnern. Damit zeigten sich Maiszünslerlarven des zweiten Larvalstadiums gegenüber *B.t.*-176 Maispollen ähnlich empfindlich wie die Larven weiterer mitteleuropäischer bzw. nordamerikanischer Schmetterlingsarten, die unter anderem auch in der Agrarlandschaft verbreitet sind. Im Gegensatz zu vielen Nicht-Ziel-Lepidopteren, die im Labor nicht gezüchtet werden können, ist der Maiszünsler unter Laborbedingungen problemlos zu vermehren. *Ostrinia nubilalis* könnte somit anstelle dieser Nicht-Ziel-Schmetterlinge als Testorganismus verwendet werden, um im Rahmen der Sicherheitsprüfung (environmental risk assessment) im Vorfeld der Marktzulassung mögliche Auswirkungen des Pollens neu entwickelter *B.t.*-Pflanzen, die das Cry1Ab-Toxin exprimieren, auf die Larven verschiedener Lepidopteren (mit Ausnahme der Noctuidae) zu überprüfen.

**Stichwörter:** *B.t.*-176 Mais, *Ostrinia nubilalis*, Maiszünsler, Nicht-Ziel-Schmetterlinge, transgener Mais, biologische Sicherheitsforschung

### Abstract

Sensitivity of European corn borer larvae (second instar) on pollen of *B.t.*-176 maize was tested during the research project „Impact of pollen from transgenic *B.t.*-maize on non-target-lepidopterans“ that was financially supported by the Federal Ministry of Education and Research (BMBF) and the Federal Environment Agency (UBA). Bioassays were set up as no choice tests and caterpillars were fed with defined amounts of pollen from the transgenic cultivar *B.t.*-176 (PACTOL CB), which expresses the Cry1Ab  $\delta$  endotoxin, as well as the conventional isogenic cultivar PACTOL. After one week larval weight gain and mortality were recorded. Mortality of the tested European corn borer larvae increased with increasing pollen numbers indicating a clear dose-response relationship. Application of even 10 pollen grains *B.t.*-176 maize per larva led to an increased mortality rate of  $28 \pm 10,2$  % as compared to the untreated control ( $10,31 \pm 2,41$  %). Mortality between *B.t.*-176 variants and untreated control differed significantly if 20 (mortality rate =  $59,56 \pm 12,07$  %) or more pollen grains per larva were applied. The highest pollen dose tested (160 pollen grains per individual) caused a mortality rate of  $80 \pm 8,37$  %. Weight gain of larvae fed with pollen from *B.t.*-176 maize was lower as compared to the untreated control, but differences were not significant. Ingestion of conventional maize pollen did not have positive nor negative effects on survival or development of the larvae. The LC<sub>50</sub>-value was calculated with 32,43 *B.t.*-176 maize pollen applied per larva. 95 % confidence limit ranged between 19,38 and 48,8 pollen grains. So susceptibility of 2<sup>nd</sup> instar larvae of the European corn borer to *B.t.*-176 maize pollen is comparable to susceptibility of larvae of some other European or North American butterfly species which are common in agricultural used habitats. It is not possible to establish a laboratory rearing for most non-target-butterflies, which might possibly be affected by cultivation of *B.t.* plants. Therefore we suggest that the European corn borer, which is easy to rear under laboratory conditions, can be used as a test organism in a GMO environmental risk assessment to investigate potential side effects of pollen from newly developed *B.t.* plants, expressing the Cry1Ab  $\delta$  endotoxin, on larvae of non-target-lepidopterans from different groups (without Noctuidae).

**Key words:** *B.t.-176-maize*, *Ostrinia nubilalis*, European corn borer, non target lepidopterans, transgenic maize, GMO environmental risk assessment

## Einleitung

Die hier vorgestellten Untersuchungen zur Empfindlichkeit von Maiszünslerlarven gegenüber *B.t.*-Maispollen wurden im Rahmen des Forschungs- und Entwicklungsvorhabens „Auswirkungen des Pollens von transgenem *B.t.*-Mais auf ausgewählte Schmetterlingslarven“ (Förderkennzeichen 201 67 430/05) durchgeführt. Dieses Forschungsvorhaben wurde vom Umweltbundesamt (Berlin) in Auftrag gegeben und in der Zeit vom 01.06.2000 bis 31.10.2003 im Institut für biologischen Pflanzenschutz der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (BBA) in Darmstadt bearbeitet. In dem Projekt sollte untersucht werden, welche Auswirkungen der Anbau von Maiszünsler-tolerantem *B.t.*-Mais auf die mitteleuropäische Lepidopterenfauna haben könnte. Den Anstoß für diese Untersuchungen lieferte v. a. eine US-amerikanische Studie, in der gezeigt wurde, dass Pollen der transgenen Maislinie *B.t.*-11 Larven des Monarchfalters (*Danaus plexippus*) unter Laborbedingungen schädigt (LOSEY et al., 1999). Die Raupen fraßen weniger, entwickelten sich schlechter und zeigten im Vergleich mit einer unbehandelten Kontrollgruppe eine erhöhte Mortalität. Diese erste Untersuchung wurde anschließend durch weitere Laborstudien bestätigt (HANSEN und OBRYCKI, 2000; FELKE und LANGENBRUCH, 2001; HELLMICH et al., 2001; ZANGERL et al., 2001; LANG und VOJTECH, 2006).

Für die in Darmstadt durchgeführten Untersuchungen wurde mit Pollen der Linie *B.t.*-176 gearbeitet, die von Syngenta Seeds entwickelt und vermarktet wurde. Generell handelt es sich bei Maiszünsler-tolerantem *B.t.*-Mais um einen transgenen Mais, in dessen Genom ein Gen des Bodenbakteriums *Bacillus thuringiensis* eingebaut wurde. Der auf diese Weise gentechnisch veränderte Mais produziert nun in verschiedenen Pflanzenteilen ein Eiweiß, das wirkungsgleich dem Cry1Ab-Toxin sein soll, das auf die Larven zahlreicher Schmetterlingsarten toxisch wirkt, wenn es gefressen wird. Somit ist dieser *B.t.*-Mais in der Lage, sich selbst gegen den Befall durch den

Maiszünsler (*Ostrinia nubilalis*), zu schützen. Auch die Larven anderer, *B.t.*-empfindlicher Schmetterlingsarten können theoretisch das Cry1Ab-Toxin aufnehmen, wenn sich Pollen von diesem *B.t.*-Mais auf ihren Futterpflanzen befindet und mit gefressen wird. Speziell die Linie *B.t.*-176 exprimiert eine vergleichsweise hohe Menge des Toxins im Pollen. Die Linie *B.t.*-176 wurde daher für die Untersuchungen ausgewählt, um ein „worst case scenario“ zu simulieren. Die Markteinführung der Linie *B.t.*-176 fand am 01.01.1997 statt. Die Zulassung erfolgte durch Beschluss der EU-Kommission am 23. Januar 1997 nach der damals gültigen Freisetzung-Richtlinie 90/220 (Saatgut, Verarbeitung), sowie nach *Novel Food-Verordnung* 258/97 (Lebensmittel). Die Zulassung der Linie *B.t.*-176 als Futter- und Lebensmittel wurde am 18.04.2005 verlängert (notifiziert als "existierendes Produkt"). Die Genehmigung zur Inverkehrbringung lief am 18.04.2007 aus, da von Seiten der Firma kein Neuantrag gestellt wurde.

## Material und Methoden

Bei den in Darmstadt durchgeführten Laboruntersuchungen mit Maiszünslerlarven handelte es sich um sogenannte „No choice tests“, also um Fütterungsversuche ohne Auswahlmöglichkeit. Für die Biotests wurden stets solche Larven verwendet, die sich gerade zum ersten Mal gehäutet hatten. Die Larven waren hinsichtlich ihres Gewichts nicht einheitlich und wurden zu Beginn des Biotests einzeln gewogen. Pro Versuch wurden insgesamt 150 Tiere verwendet. Die Larven für die Versuche stammten aus einer im Institut für biologischen Pflanzenschutz in Darmstadt etablierten Laborzucht. Um Tiere verwenden zu können, die an die Aufnahme von Maisblättern gewöhnt waren, erfolgte der Schlupf der Raupen direkt an jungen, ca. 50 bis 60 cm hohen Maispflanzen der konventionellen Sorte PACTOL. Um die Wirkung des *B.t.*-Pollens quantifizieren zu können, wurden definierte Mengen von *B.t.*-Maispollen auf Blattstücke von konventionellem Mais (Sorte: PACTOL) appliziert und diese dann an die Larven verfüttert.

Jeder Biotest enthielt 11 Varianten: unbehandelte Kontrolle, 5 verschiedene Konzentrationen mit Pollen von konventionellem Mais (Sorte: PACTOL) und 5 verschiedene Konzentrationen

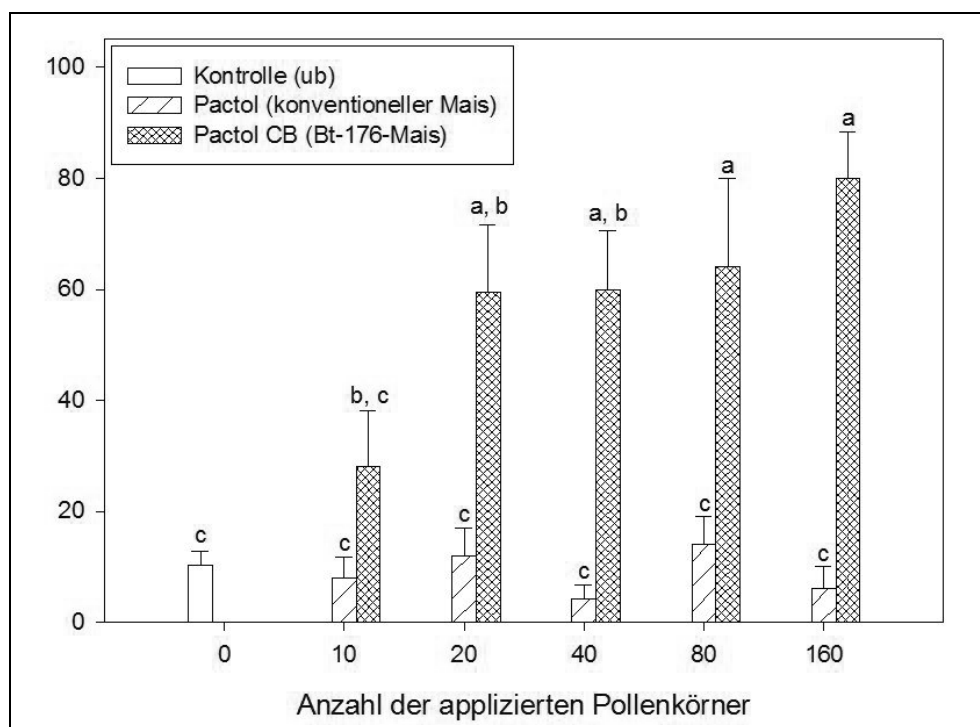


Abb. 1. Durchschnittliche Mortalitätsrate (% ± Standardfehler) von *Ostrinia nubilalis*-Raupen (L<sub>2</sub>) nach einer Woche, bezogen auf die pro Larve applizierte Pollenmenge (empirisch ermittelter Durchschnittswert). Unterschiede zwischen Säulen mit demselben Buchstaben sind statistisch nicht signifikant (F (10 FG) = 12,23; p < 0,0001; Tukey-Test).

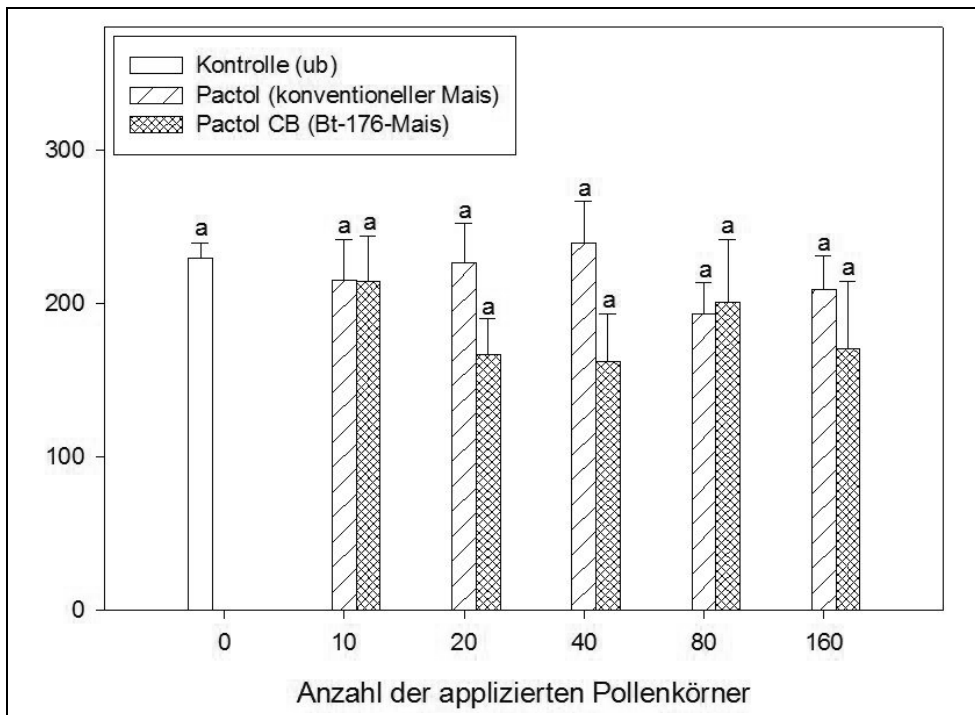


Abb. 2. Gewichtszunahme (%  $\pm$  Standardfehler) von *Ostrinia nubilalis*-Raupen (L<sub>2</sub>) nach einer Woche, bezogen auf die pro Larve applizierte Pollenmenge (empirisch ermittelter Durchschnittswert). Eine Gewichtszunahme von 100% entspricht einer Verdopplung des Ausgangsgewichts (F (10 FG) = 0,95; p = 0,4896; Tukey-Test).

nen mit Pollen von *B.t.*-176 Mais (Sorte: PACTOL CB). Für die unbehandelte Kontrolle wurden pro Versuch 50 und für die restlichen Varianten jeweils 10 Tiere verwendet. In den Pollen-Biotests wurden unterschiedliche Pollenmengen an die Raupen verfüttert. Die erste Variante erhielt im Schnitt 10 Pollenkörner pro Individuum, in der zweiten Variante wurden im Durchschnitt 20, in der dritten 40, in der vierten 80 und in der fünften Variante 160 Pollenkörner pro Larve appliziert. Die Versuche wurden in 2x2x2 cm großen Kunststoffbehältern angesetzt, die mit je 1,5 ml einer 2%igen Agarlösung gefüllt wurden. Nach dem Auskühlen des Agars wurde in jeden Behälter ein Mais-Blattstück der Sorte PACTOL mit einem Durchmesser von 3 mm gelegt. Hierbei wurden die Blattstückchen stets so platziert, dass die Blattoberseite nach oben zeigte. Anschließend wurde die Blattscheibe leicht auf die Unterlage gedrückt und die vorbereitete Pollensuspension appliziert. Nachdem das Wasser komplett verdunstet war, wurde in jeden Würfel eine einzelne Larve gesetzt. Die Kontrolltiere erhielten eine Blattscheibe derselben Größe, allerdings ohne Pollen. Nach 24 Stunden erfolgte die erste Bonitur, und die bis dahin verzehrte Blattfläche wurde festgehalten. Falls die Larven das Blattstückchen bis zu diesem Zeitpunkt komplett verzehrt hatten, erhielten sie unbehandeltes Futter in Form eines ca. zwei Quadratcentimeter großen Blattstücks der Sorte PACTOL. Spätestens nach 48 Stunden wurden alle Tiere mit unbehandeltem Futter nachgefüttert, unabhängig davon, ob sie die erste Blattscheibe inzwischen aufgeessen hatten oder nicht. Insgesamt wurde der Versuch fünfmal bonitiert, wobei die Anzahl der noch lebenden Tiere festgehalten wurde. Außerdem erhielten die Larven bei dieser Gelegenheit frische Blattstücke der konventionellen Sorte PACTOL. Für die gesamte Biotest-Dauer verblieben die Polystyrolbehälter in einem Klimaschrank mit Hell-Dunkel-Rhythmus (16 h hell/ 8 h dunkel). Während der „Nacht“ sank die Temperatur auf 15 °C, während sie am „Tag“ auf 25 °C anstieg. Nach einer Woche wurde der Versuch beendet und das Gewicht jeder einzelnen Larve bestimmt. Da die Larven zu Versuchsbeginn unterschiedlich schwer waren, wurde die Gewichtszunahme in Prozentwerten berechnet. Die Verdopplung des Ausgangsgewichts entspricht einer Gewichtszunahme von 100 Prozent.

Um Unterschiede bezüglich Mortalitätsrate und Gewichtszunahme von *Ostrinia nubilalis*-Raupen (L<sub>2</sub>) der 11 verschiedenen Varianten zu untersuchen, wurden Varianzanalyse (ANOVA, Proc GLM) sowie Tukey-Test zum Vergleich der Mittelwerte, verwendet (SAS-Programm 8.01). Um die Normalverteilung der Werte zu überprüfen, waren Mortalitätsrate und Gewichtszunahme zuvor nach arcsin transformiert worden. Die in den einzelnen Pollenvarianten festgestellten Mortalitätsraten wurden nach ABBOTT (1925) um den Wert in der unbehandelten Kontrollvariante korrigiert. Anschließend wurden mit Hilfe einer Probit-Regressionsanalyse (Programm PROC PROBIT in SAS, 1989) LC<sub>50</sub> und LC<sub>90</sub>-Werte mit den entsprechenden 95%igen Konfidenzintervallen berechnet.

## Ergebnisse

Regelmäßige Beobachtungen unter Verwendung eines Binokulars belegten, dass die auf die Blattstückchen applizierten Pollenkörner von den Larven verzehrt wurden. Die Mortalitätsrate nahm in den *B.t.*-Pollen-Varianten mit zunehmender Anzahl der applizierten Pollenkörner von PACTOL CB-Mais deutlich zu, so dass hier eine eindeutige Dosis-Wirkungs-Beziehung nachweisbar war. Bezüglich der prozentualen Gewichtszunahme ließen sich zwischen den einzelnen Varianten allerdings keine statistisch signifikanten Unterschiede feststellen.

Abb. 1 ist zu entnehmen, dass sich die Sterblichkeit der getesteten Maiszünsler-Larven mit zunehmender Anzahl applizierter Pollenkörner von PACTOL CB-Mais erhöhte. So ließ sich eine Dosis-Wirkungsbeziehung eindeutig nachweisen. Ab einer Zahl von 20 Pollen war der Unterschied zur unbehandelten Kontrolle signifikant. Bis zu einer Menge von 80 Pollenkörnern stieg die Mortalitätsrate dann aber nur noch leicht auf 64% an. Bei der höchsten getesteten Pollendosis (160 Pollenkörner pro Individuum) lag die Sterblichkeit nach einer Woche bei 80%. Bei Verfütterung von Pollen der isogenen Sorte PACTOL ließ sich in keiner Variante ein signifikanter Unterschied zur unbehandelten Kontrolle nachweisen. Bei Applikation von 160 Pollenkörnern war die Mortalitätsrate sogar niedriger als in der unbehandelten Kontrolle.

Tab. 1. LC<sub>50</sub>-Werte für Larven verschiedener Schmetterlingsarten, bezogen auf die Anzahl applizierter Pollenkörner B.t.-176 Mais pro Larve (1) bzw. pro cm<sup>2</sup> (2); 95% VB = 95%iger Vertrauensbereich

Art (Larvalstadium)	LC <sub>50</sub> -Wert (95% VB)	Quelle
<i>Plutella xylostella</i> (L <sub>4</sub> )	19,20 (9,20 – 29,80) <sup>(1)</sup>	FELKE et al. (2002)
<i>Ostrinia nubilalis</i> (L <sub>2</sub> )	32,43 (19,38 – 48,80) <sup>(1)</sup>	
<i>Pieris rapae</i> (L <sub>2</sub> )	39,00 (25,70 – 122,70) <sup>(1)</sup>	FELKE et al. (2002)
<i>Inachis io</i> (L <sub>2</sub> )	61,4 (29,3 – 88,70) <sup>(1)</sup>	FELKE und LANGENBRUCH (2003)
<i>Pieris brassicae</i> (L <sub>2</sub> )	139,20 (54,6 – 846.000) <sup>(1)</sup>	FELKE et al. (2002)
<i>Agrotis segetum</i> (L <sub>1</sub> und L <sub>2</sub> )	Nicht zu ermitteln, da kaum Effekte <sup>(1)</sup>	FELKE und LANGENBRUCH (2002)
<i>Papilio machaon</i> (L <sub>1</sub> )	92,33 (75,17 – 112,28) <sup>(2)</sup>	LANG und VOJTECH (2006)
<i>Danaus plexippus</i> (L <sub>1</sub> )	389 <sup>(2)</sup>	SEARS und STANLEY-HORN (2000)
<i>Papilio polyxenes</i> (L <sub>1</sub> )	613 (299 – 1.151) <sup>(2)</sup>	ZANGERL et al. (2001)

Wie Abb. 2 zeigt, ließen sich zwischen den einzelnen Varianten keine statistisch signifikanten Unterschiede feststellen. Mögliche Ursachen hierfür werden weiter unten diskutiert.

Der LC<sub>50</sub>-Wert für Maiszünslerlarven des zweiten Larvalstadiums wurde, bezogen auf die applizierte Menge an B.t.-176-Maispollen, mit 32,43 Pollenkörnern berechnet. Der 95%ige Vertrauensbereich lag zwischen 19,38 und 48,8 Pollenkörnern. Damit reagieren die Larven des Maiszünslers auf den Pollen von Bt-176-Mais ähnlich empfindlich wie die Raupen von weiteren Schmetterlingsarten (s. Tab. 1).

## Diskussion

Ein Vergleich der Mortalitätsraten nach einer Woche belegt, dass die getesteten Maiszünsler-Raupen durch die Aufnahme von Pollen der transgenen Maissorte PACTOL CB eindeutig geschädigt werden, wobei die Schädigung dosisabhängig ist. Wie Abb. 1 zeigt, trat im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle (Mortalitätsrate: 10,3 %) bereits bei Applikation von 10 Pollenkörnern der Sorte PACTOL CB mit 28 % eine fast dreimal so hohe Mortalitätsrate auf. Allerdings ließ sich dieser Unterschied statistisch nicht absichern. Dies war erst ab einer Dosis von 20 Pollenkörnern möglich. Hier konnte eine Steigerung der Larvalsterblichkeit auf fast 60 % registriert werden. Bis zu einer Erhöhung der Dosis auf 80 Pollenkörner stieg die Mortalitätsrate nur noch leicht auf 64 % an. Eine Applikation von 160 Pollenkörnern hatte eine Larvalsterblichkeit von durchschnittlich 80 % zur Folge. Die prozentuale Gewichtszunahme der überlebenden Larven war in der PACTOL-CB-Gruppe generell etwas niedriger als in der Kontrollgruppe, wobei die Werte zwischen 71 % und 93 % des Vergleichswerts der Kontrolltiere betragen. Eine Dosis-Wirkungsbeziehung war nicht auszumachen. Es ist daher anzunehmen, dass die Larven der PACTOL CB-Varianten, die den Versuch überlebt haben, nur einen Teil des applizierten Pollens verzehrt hatten und bis zur Aufnahme von unbehandeltem Futter hungerten.

Die Larven, die mit Pollen der isogenen Linie PACTOL gefüttert worden waren, zeigten ähnlich niedrige Mortalitätsraten wie die Kontroll-Raupen. Die geringen Abweichungen stellten sich als statistisch nicht signifikant heraus. Auch hinsichtlich der prozentualen Gewichtszunahme gab es keinen signifikanten Unterschied zum Vergleichswert der Kontrollgruppe. Die Verfütterung von Pollen der konventionellen Maissorte PACTOL zeigte bei Maiszünsler-Raupen also weder positive, noch negative Effekte.

Ein Vergleich mit Literaturdaten zeigt, dass Maiszünsler-Raupen des zweiten Larvalstadiums ähnlich empfindlich auf die Aufnahme von Maispollen dieser transgenen Linie reagieren wie Raupen anderer Schmetterlingsarten, an die in Fraßversuchen ohne Auswahlmöglichkeit Pollen von B.t.-176 Mais ver-

füttert wurde. Somit könnte der unter Laborbedingungen gut zu vermehrende Maiszünsler stellvertretend für Nicht-Ziel-Lepidopteren als Testorganismus verwendet werden, um im Rahmen der Sicherheitsprüfung (Environmental Risk Assessment) im Vorfeld der Marktzulassung mögliche Auswirkungen neu entwickelter B.t.-Pflanzen, die das Cry1Ab  $\delta$  Endotoxin exprimieren, auf Schmetterlinge zu überprüfen. Laut KRIEG (1986) und KRIEG und LANGENBRUCH, (1981) weist eine Vielzahl von Lepidopteren-Familien eine hohe Empfindlichkeit gegenüber dem Cry1Ab  $\delta$  Endotoxin auf. Genannt werden u. a. Arten aus den Familien Arctiidae, Geometridae, Hyponomeutidae, Lasiocampidae, Nymphalidae, Pieridae und Tortricidae. Zahlreiche Noctuidenarten sind gegenüber dem Cry1Ab-Toxin allerdings weitgehend unempfindlich, weshalb zur Bekämpfung von Noctuiden andere B.t.-Toxine eingesetzt werden. Zum Beispiel wird zur Bekämpfung der zu den Noctuiden gehörenden Baumwollschädlinge *Heliothis virescens*, *Helicoverpa zea* oder *Helicoverpa armigera* transgene B.t. Baumwolle eingesetzt, die die  $\delta$  Endotoxine Cry1Ac und Cry2Ab exprimiert (IBARGUTXI et al., 2006). Um Auswirkungen von transgenen B.t.-Pflanzen auf Nicht-Ziel-Lepidopteren aus der Familie der Eulenfalter (Noctuidae) festzustellen, eignet sich der Maiszünsler daher in der Regel nicht.

Stellvertretend für zahlreiche andere Arten, die als typische Nicht-Ziel-Schmetterlinge in der Agrarlandschaft vorkommen, könnte der Maiszünsler allerdings im Rahmen einer Sicherheitsprüfung (environmental risk assessment) im Vorfeld der Marktzulassung von transgenen B.t.-Pflanzen als Testorganismus eingesetzt werden.

## Literatur

- ABBOTT, W.S., 1925: A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of economic entomology* **18**, 265-267.
- FELKE, M., G.-A. LANGENBRUCH, 2001: Gefährdet Bt-Pollen Schmetterlinge? *Gesunde Pflanzen* **53**, 24-28.
- FELKE, M., G.-A. LANGENBRUCH, 2002: Gefährdet der Pollen von Bt-Mais unsere Schmetterlinge? – Untersuchungen an Erdeulenraupen (*Agrotis segetum*) und Tagpfauenaugen (*Inachis io*). *Mitt. Biol. Bundesanst. Land- Forstwirtschaft* **390**, 324-325.
- FELKE, M., G.-A. LANGENBRUCH, 2003: Wirkung von Bt-Mais-Pollen auf Raupen des Tagpfauenauges im Laborversuch. *Gesunde Pflanzen* **55** (1), 1-7.
- FELKE, M., N. LORENZ, G.-A. LANGENBRUCH, 2002: Laboratory studies on the effects of pollen from Bt-maize on larvae of some butterfly species. *Journal of applied entomology* **126** (6), 320-325.
- HANSEN L.C.J., J.J. OBRYCKI, 2000: Field deposition of Bt transgenic corn pollen: lethal effects on the monarch butterfly. *Oecologia* **125**, 241-248.
- HELLMICH, R.L., B.D. SIEGFRIED, M.K. SEARS, D.E. STANLEY-HORN, M.J. DANIELS, H.R. MATTILA, T. SPENCER, K.G. BIDNE, L.C. LEWIS, 2001: Monarch larvae sensitivity to *Bacillus thuringiensis*-purified proteins and pollen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 11925-11930.

- IBARGUTXI, M.A., A. ESTELA, J. FERRÉ, P. CABALLERO, 2006: Use of *Bacillus thuringiensis* Toxins for Control of the Cotton Pest *Earias insulana* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Applied and environmental microbiology* **72**, 437-442.
- KRIEG, A., 1986: *Bacillus thuringiensis*, ein mikrobielles Insektizid: Grundlagen und Anwendung. Berlin und Hamburg, P. Parey-Verl. 191 S.
- KRIEG, A., G.-A. LANGENBRUCH, 1981: Susceptibility of Arthropod Species to *Bacillus thuringiensis*. In: H. D. BURGESS (Ed.): *Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980*. London, Academic Press. 836-896.
- LANG, A., E. VOJTECH, 2006: The effects of pollen consumption of transgenic Bt maize on the common swallowtail, *Papilio machaon* L. (Lepidoptera, Papilionidae). *Basic and applied ecology* **7**, 296-306.
- LOSEY, J.E., L.S. RAYOR, M.E. CARTER, 1999: Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature* **339**, 214.
- SEARS, M.K., D. STANLEY-HORN, 2000: Impact of Bt maize pollen on monarch butterfly populations. In: C. FAIRBAIRN, G. SCOLES, A. MCHUGHEN (Eds.): *Proceedings of the Sixth International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified Organisms*, July 2000, Saskatoon, Canada, 120-130.
- ZANGERL, A.R., D. MCKENNA, C.L. WRAIGHT, M. CARROLL, P. FICARELLO, R. WARNER, M.R. BERENBAUM, 2001: Effects of exposure to event 176 *Bacillus thuringiensis* corn pollen on monarch and black swallowtail caterpillars under field conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 11908-11912.

Zur Veröffentlichung angenommen: Juli 2007

Kontaktanschrift: Dr. Martin Felke, Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für biologischen Pflanzenschutz, Heinrichstraße 243, 64287 Darmstadt, E-Mail: m.felke@bba.de