Frühere Ausgabe: 12.07 Entwurf Former edition: 12/07 Draft

Zu beziehen durch / Available at Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin – Alle Rechte vorbehalten / All rights reserved © Verein Deutscher Ingenieure e.V., Düsseldorf 2010

# VEREIN DEUTSCHER INGENIEURE

Monitoring der Wirkungen gentechnisch veränderter Organismen (GVO)

Standardisierte Erfassung von Schmetterlingen (Lepidoptera)

Transektmethode, Lichtfang und Larvalerfassung

Monitoring the effects of genetically modified organisms (GMO)
Standardised monitoring of butterflies and moths (Lepidoptera)

Transect method, light trap, and larval survey

**VDI 4330** 

Blatt 13 / Part 13

Ausg. deutsch/englisch Issue German/English

Die deutsche Version dieser Richtlinie ist verbindlich.

The German version of this guideline shall be taken as authoritative. No guarantee can be given with respect to the English translation.

Inhalt	eite <b>Contents</b> Page
Vorbemerkung	2 Preliminary note
Einleitung	2 Introduction
1 Anwendungsbereich	4 <b>1 Scope</b>
2 Begriffe	7 <b>2</b> Terms and definitions
3 Grundüberlegungen, Aufbau und Struktur der Erhebung	3.1 Monitoring of imagines (pillar I) 12
4 Erfassungszeitraum und Erfassungshäufigkeit	4 Monitoring period and frequency
5 Erfassungsmethoden	5.1 Surveys of species inventory and abundance of imagines (pillar I) 22
6.1 Flächenauswahl	27 6.1 Choice of monitoring sites 27
7 Auswertung und Berichterstattung	31       7.1 Basic principles, difference tests
8 Qualitätssicherung	36 <b>8 Quality assurance</b>
Anhang A Sammelarten Transektmethode	38 Annex A Species complexes: transect method 38
Anhang B Artenkomplexe Lichtfang	39 Annex B Species complexes: light trap 40

VDI-Gesellschaft Technologies of Life Scieneces (TLS)

Fachbereich Gentechnik

	Seite			Page
Anhang C	Aufnahmebogen: Erstaufnahme/Deckblatt 41	Annex C	Field data sheet: Initial report/cover sheet	. 42
Anhang D	Aufnahmebogen zur Transektmethode 43	Annex D	Field data sheet for transect method	. 44
Anhang E	Aufnahmebogen Lichtfang 45	Annex E	Field data sheet light trap	46
Anhang F	$Aufnahmebogen-Laveraler fassung\ .\ 47$	Annex F	Field data sheet – Larval survey	48
Schrifttum		Bibliogra	phy	. 49

#### Vorbemerkung

Der Inhalt dieser Richtlinie ist entstanden unter Beachtung der Vorgaben und Empfehlungen der Richtlinie VDI 1000.

Alle Rechte, insbesondere die des Nachdrucks, der Fotokopie, der elektronischen Verwendung und der Übersetzung, jeweils auszugsweise oder vollständig, sind vorbehalten.

Die Nutzung dieser VDI-Richtlinie ist unter Wahrung des Urheberrechts und unter Beachtung der Lizenzbedingungen (www.vdi-richtlinien.de), die in den VDI-Merkblättern geregelt sind, möglich.

Allen, die ehrenamtlich an der Erarbeitung dieser VDI-Richtlinie mitgewirkt haben, sei gedankt.

Eine Liste der aktuell verfügbaren Blätter dieser Richtlinienreihe ist im Internet abrufbar unter www.vdi.de/4330.

### **Einleitung**

Mit der europäischen Richtlinie 2001/18/EG über die absichtliche Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen (GVO) in die Umwelt wird ein Überwachungsplan (hier: Monitoringplan) vorgeschrieben, um etwaige schädliche Auswirkungen von GVO auf die menschliche Gesundheit und Umwelt aufspüren und feststellen zu können (Europäisches Parlament und Rat der Europäischen Union 2001, Entscheidung des Rates 2002). Die Methodik zur Überwachung der Monitoring-Parameter sowie die Probennahme- und Analyseverfahren sollen festgelegt und klar definiert werden und die Überwachungsmethoden wissenschaftlich fundiert und für die jeweiligen Versuchsbedingungen geeignet sein (Entscheidung des Rates 2002). Dies ist explizit in der Ratsentscheidung 2002/ 811/EG festgelegt, in der weiterführende Richtlinien zu einem Monitoring gegeben werden. Weiterführende Rahmenbedingungen und Inhalte eines GVO-Monitorings werden von der European Food Safety

# **Preliminary note**

The content of this guideline has been developed in strict accordance with the requirements and recommendations of the guideline VDI 1000.

All rights are reserved, including those of reprinting, reproduction (photocopying, micro copying), storage in data processing systems and translation, either of the full text or of extracts.

The use of this guideline without infringement of copyright is permitted subject to the licensing conditions specified in the VDI notices (www.vdi-richtlinien.de).

We wish to express our gratitude to all honorary contributors to this guideline.

A catalogue of all available parts of this guideline series can be accessed on the internet at www.vdi.de/4330.

#### Introduction

The EU Directive 2001/18/EC on the Deliberate Release into the Environment of Genetically Modified Organisms (GMOs) stipulates a monitoring plan in order to trace and identify any harmful effects on human health or the environment of GMOs after they have been placed on the market (European Parliament and Council 2001, Council Decision 2002). The methodology to subsequently monitor the monitoring parameters should be clearly identified and outlined, including techniques for sampling and analysis, and methods used for monitoring should be scientifically sound and appropriate for the applicable experimental conditions (Council Decision 2002). This is explicitly defined in Council Decision 2002/811/EC, which contains further monitoring guidelines. Further guidance on general requirements and contents of GMO monitoring is provided by the European Food Safety Authority (EFSA) [121]. A set of guidelines describing specific methods to be used for GMO

Authority (EFSA) [121] ausgeführt. Im Rahmen der Richtlinienreihe VDI 4330 werden entsprechende methodenspezifische Richtlinienblätter für den Einsatz im GVO-Monitoring veröffentlicht.

Im vorliegenden Blatt 13 werden standardisierte Monitoring-Verfahren zur Erfassung von Schmetterlingen (Lepidoptera)<sup>1)</sup> nach dem neuesten Erkenntnisstand der Wissenschaft beschrieben [2; 122]; diese stehen im Einklang mit den gesetzlichen Vorgaben und behördlichen Empfehlungen (u.a. EFSA, Entscheidung des Rates 2002/811/EG). In der Richtlinienreihe VDI 4330 werden die Schmetterlinge als erste Tiergruppe bearbeitet, da sie eine besonders geeignete Gruppe für ein Umweltmonitoring ist.

# Schmetterlinge

- können negativ von GVO beeinflusst werden, z.B. [3 bis 5],
- sind relativ leicht und sicher bestimm- und nachweisbar,
- sind in Europa mit vielen Arten vertreten,
- haben unterschiedlichste ökologische Ansprüche und können daher vielfältige Änderungen im Ökosystem anzeigen,
- weisen einen vergleichsweise guten Bearbeitungsund Kenntnisstand zu Faunistik, Ökologie und Gefährdungssituation der einzelnen Arten auf [6 bis 18],
- bilden aufgrund ihrer Mobilität und ihrer oft komplexen Habitatansprüche räumlich-funktionale Eigenschaften der Umwelt ab [19],
- sind demzufolge auch für eine Bewertung auf Landschaftsebene gut geeignet [20] und
- genießen in Öffentlichkeit und Fachwelt eine hohe Akzeptanz als Schutzgut [21].

Schmetterlinge können auf verschiedenen räumlichen und zeitlichen Ebenen Einflüsse auf Natur und Landschaft anzeigen:

- über Veränderungen in der Verfügbarkeit der Raupen-Wirtspflanzen [22],
- über das Blütenangebot (Nahrungsaufnahme) der Imagines,
- über strukturelle und damit oft mikroklimatische Veränderungen ihrer Lebensräume,
- über direkte und indirekte Effekte von veränderten Nutzungsregimen, z.B. [23 bis 25], und

monitoring is published as part of the VDI 4330 guideline series.

The present Part 13 describes standardised monitoring methods for recording butterflies and moths (Lepidoptera)<sup>1)</sup> in accordance with the latest scientific results and practices [2; 122] which are consistent with statutory provisions and official recommendations (including the EFSA, Council Decision 2002/811/EC). Since butterflies and moths are particularly suitable for environmental monitoring, they are the first animal group to be covered by the VDI 4330 guideline series.

## Butterflies and moths

- can be adversely affected by GMOs, e.g. [3 to 5],
- can be identified and monitored relatively easily and reliably,
- have many different species found throughout Europe,
- have different ecological requirements and can therefore indicate diverse changes in the ecosystem.
- are comparatively well-studied and documented in terms of faunistics, ecology and the endangered status of individual species [6 to 18],
- illustrate spatio-functional environmental features due to their mobility and often complex habitat requirements [19],
- are therefore particularly suitable for landscapelevel monitoring as well [20] and
- enjoy a high level of acceptance amongst the general public and experts as targets of protection [21].

Butterflies and moths can indicate effects on nature and landscape at different spatial and temporal levels:

- via changes in the availability of larval host plants [22],
- via flower availability (food intake) of the imagines,
- via structural, and therefore often microclimatic, changes to their habitats,
- via direct and indirect effects of changes in land management practices, e.g. [23 to 25], and

Die Anwendung der Richtlinie befreit nicht von der Beachtung rechtlicher Vorgaben z.B. BNatSchG, Bundesartenschutzverordnung.

Use of this guideline does not exempt the user from complying with legal requirements, e.g. the German Federal Nature Conservation Act (BNatSchG) or the Federal Ordinance on the Conservation of Species (BArtSchV).

• über die raumzeitliche Verfügbarkeit von Teilhabitaten [26].

Ihre ökologisch vielseitige Bedeutung als Pflanzenfresser, Beuteorganismen und Blütenbestäuber weist ihnen eine Schlüsselrolle im Nahrungsnetz zu. Schmetterlinge können Umweltwirkungen sehr gut anzeigen, zugleich aber z.B. aktuelle Rückgänge anderer Tiergruppen und Pflanzen stellvertretend abbilden, u.a. [27; 28].

Es existieren jahrzehntelange wissenschaftliche Erfahrungen, die zur Entwicklung von allgemein anerkannten Erfassungsmethoden geführt haben, z.B. Transektmethode für Tagfalter<sup>2)</sup> [29 bis 34], Lichtfang und Lichtfallen bei Nachtfaltern [35; 36] und Larvalerfassung [37 bis 39]. Diese Erfassungsmethoden werden bereits in vielen europäischen Ländern, auch in Deutschland, für ein langjähriges Monitoring von Lepidoptera eingesetzt [40 bis 45]. Das Tagfaltermonitoring Deutschland (TMD) kann z.B. allgemeine Trends zur Bestandsentwicklung von Tagfaltern liefern [123].

Änderungen von Bewirtschaftungs- und Pflanzenschutzmaßnahmen werden oft auch durch Auswirkungen auf die Schmetterlingsfauna indiziert, z.B. Einsatz von Bacillus-thuringiensis-Spritzpräparaten oder anderen Insektiziden [46 bis 48] oder eine intensivierte landwirtschaftliche Bearbeitungspraxis, z.B. [49 bis 51]. Gentechnisch veränderte Pflanzen (GVP) können Schmetterlingsarten und -populationen auf direkte und indirekte Weise negativ beeinflussen. Ein direkter Effekt ist gegeben, wenn Larven oder Imagines toxische Produkte der GVP aufnehmen, z.B. über Fraß von Pflanzengewebe oder Konsumierung von Pollen und Nektar. Indirekte Effekte können durch den Einsatz von GVP-bedingten Veränderungen in der Bewirtschaftungspraxis verursacht werden. Ein Beispiel ist der Einsatz von Breitbandherbiziden bei herbizidresistenten GVP. Eine Reduzierung der Segetalflora durch Herbizide könnte in der Folge zu einer Schädigung der Schmetterlingspopulationen führen, falls die Futterpflanzen für Raupen und Imagines dezimiert würden. Für beide potenziellen Wirkungswege von GVP sind Beispiele bei Schmetterlingen belegt [3 bis 5; 52 bis 68].

## 1 Anwendungsbereich

Diese Richtlinie soll beim Monitoring der Umweltwirkungen von gentechnisch veränderten Organismen entsprechend den Maßgaben der EU-Richtlinie 2001/18/EG und die Vorgaben der Ratsentscheidung 2002/811/EG erfüllend zur Erfassung der Schmetter-

• via the spatio-temporal availability of subhabitats [26].

Their wide-ranging ecological significance as herbivores, prey organisms and pollinators illustrates their key role in the food web. Butterflies and moths are very good indicators of environmental effects, but they are also representative of biodiversity and can be used to indicate current declines in other animal groups and plants, see also [27; 28].

Longtime scientific research has led to the development of generally accepted monitoring methods, for example the transect method for day-active species<sup>2)</sup> [29 to 34], light trapping for night-active species [35; 36] and larval surveys [37 to 39]. These monitoring methods are already used in many European countries, including Germany, for the long-term monitoring of Lepidoptera [40 to 45]. For example, the Tagfaltermonitoring Deutschland (Butterfly Monitoring Germany – TMD) can potentially provide information about general trends in the population development of butterflies and day-active moths [123].

Changes to land management and plant protection measures are often indicated by effects on butterfly fauna, for example the use of Bacillus-thuringiensis sprays or other insecticides, e.g. [46 to 48], or intensive farming practices, e.g. [49 to 51]. Genetically modified plants (GMPs) can have adverse effects on butterfly and moth species and populations both directly and indirectly. The intake of toxic products from GMPs by larvae or imagines, e.g. by consuming plant tissue, pollen and nectar, constitutes a direct effect. Indirect effects can be caused by changes in land management practices caused by the cultivation of GMPs; for example, the use of broad-spectrum herbicides with herbicide-resistant GMPs. The use of herbicides to control segetal flora could have a harmful effect on butterfly and moth populations if it results in the decimation of larval and imaginal food plants. Examples of both potential paths of action of GMPs are documented for butterflies and moths [3 to 5; 52 to 68].

#### 1 Scope

This guideline should be used to monitor butterfly and moth fauna when monitoring the environmental effects of genetically modified organisms in accordance with the specifications of the European Directive 2001/18/EC and Council Decision 2002/811/EC.

<sup>2)</sup> im Sinn von tagaktiven Schmetterlingen

<sup>2)</sup> in the sense of butterflies and moths which are active during the day

lingsfauna eingesetzt werden. Hauptziel ist die Beobachtung möglicher signifikanter Veränderungen in Inventar oder Abundanz von Schmetterlingsgesellschaften über einen längeren Zeitraum. Die VDI-Richtlinie legt methodische Standards bezüglich der Erhebung des Arteninventars sowie der Individuen-Abundanzen von Schmetterlings-Imagines und Raupen fest. Ob ein Monitoring der Schmetterlingsfauna notwendig ist, muss in Abhängigkeit des zu überwachenden GVO entschieden werden. Die Standardisierung der Erfassungsmethoden gewährleistet ein hohes Maß an Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit der aufgenommenen Daten. Die Methoden müssen praktikabel und effizient sowie mit vertretbarem Aufwand durchführbar sein und geeignete Daten für eine statistische Analyse generieren. Soweit möglich sollen Probennahme und Flächenauswahl zudem den kausalen Beleg für einen GVO-Effekt ermöglichen oder, falls dies nicht möglich ist, die Ableitung von Hypothesen zu Einflüssen der GVO auf die Lepidopterenfauna erlauben, welche in der Folge dann speziell geprüft werden können. Das hier beschriebene Probennahmedesign ist prinzipiell auch auf andere Organismengruppen übertragbar.

Diese Richtlinie behandelt Schmetterlinge (Lepidoptera) in ihrer Gesamtheit. Sie beschreibt die erforderlichen Erfassungszeiträume und die im Gelände anzuwendenden Erfassungsmethoden und berücksichtigt dabei die speziellen Anforderungen der unterschiedlichen Erfassung tag- und nachtaktiver Lepidopteren und ihrer Imaginal- und Larvalstadien. Es werden Empfehlungen zu Flächenauswahl und Design sowie zur Ermittlung der statistischen Power gegeben. Die Anwendung der Richtlinie soll sicherstellen, dass über eine repräsentative Beprobung regionale und überregionale Effekte in verschiedenen, relevanten Lebensräumen erfasst werden.

Die Anbaupraxis und die mögliche Verteilung von GVO- und Nicht-GVO-Flächen bringt einige grundsätzliche Schwierigkeiten mit sich. Im Rahmen des Monitorings kann nicht wie in einem geplanten wissenschaftlichen Freiland-Experiment eine Auswahl allein auf Basis der Vergleichbarkeit der Varianten erfolgen, sondern es müssen die von den Landwirten realisierten GVO-Anbauflächen als Ausgangsbasis genutzt werden. Laborähnliche Rahmenbedingungen werden sich auf dieser Grundlage kaum erreichen lassen und sind für ein an der Realität orientiertes Monitoring auch nicht umsetzbar.

Die Handhabung dieser prinzipiellen Problematik ist ein wesentliches Grundelement der vorliegenden Richtlinie. Eine Minimierung der (Umwelt-)Variabilität und eine Verbesserung der Aussagekraft wird bei Anwendung der Richtlinie durch folgende Vorgaben unter Berücksichtigung des Aufwands erreicht: The main objective is to identify potentially significant changes in the inventory or abundance of butterfly and moth communities over an extended period of time. This VDI guideline defines methodological standards for monitoring the species inventory and the individual abundances of butterfly and moth imagines and larvae. The need to monitor butterfly and moth fauna will depend on the GMO being monitored. The standardisation of monitoring methods ensures a high level of reproducibility and comparability of the recorded data. The methods must be practical and efficient, require a justifiable level of effort and costs, and generate data suitable for statistical analysis. If possible, the chosen approach to sampling and site selection should enable conclusions to be drawn about the potential cause-effect relationship of a GMO effect, or failing that, should enable the deduction of specific hypotheses about the effects of GMOs on the lepidopteran fauna, which can then be tested subsequently. The sampling design described here can also be transferred to other groups of organisms

This guideline deals with butterflies and moths (Lepidoptera) as a whole. It describes the required monitoring periods and methods to be applied to the respective areas, whilst taking into account the different monitoring requirements of diurnal and nocturnal Lepidoptera and their imaginal and larval stages. It makes recommendations about site selection and design, including statistical power analysis. The use of this guideline should ensure that regional and transregional effects in different, relevant habitats are recorded by using representative sampling procedure.

A number of fundamental difficulties are associated with farming practices and the possible distribution of GM and GM-free areas. In contrast to a planned scientific field trial, site selection for a monitoring programme cannot be made on the basis of the comparability of variants alone; the fields chosen by farmers for the cultivation of GM crops are the starting points. On this basis, laboratory-like conditions are very difficult to achieve and unfeasible for realistic monitoring strategies.

A key component of this guideline is to address this fundamental problem. When using this guideline, (environmental) variability can be reduced and the explanatory power improved by applying the following recommendations, with due consideration to the effort involved:

- Es werden Paarvergleiche zwischen ähnlichen GVO- und Nicht-GVO-Flächen durchgeführt, um den störenden Einfluss variabler Umweltfaktoren zu minimieren.
- Für die gepaarten Flächen ist eine Überprüfung der Rahmenbedingungen mit Dokumentation vorgeschrieben.
- Es werden verschiedene Erfassungsmethoden (Lichtfang, Transektmethode, optische Larvensuche, Klopfmethode) angewandt, um verschiedene relevante Aspekte der Datenlage umfassend abzubilden.
- Es wird eine ausreichend genaue und effiziente Erfassung angestrebt (Anzahl Begehungen/Lichtfangtage, z.B. zweiwöchiger Erfassungsrhythmus gegenüber einem wöchentlichen, der z.B. im Tagfaltermonitoring Deutschland (TMD) angestrebt wird).
- Bei den Tagfaltertransekten werden Graszünsler miterfasst. Dies ergibt eine für Agrarlandschaften spezifische Erweiterung des Artenspektrums ohne deutlichen Mehraufwand.
- Es erfolgt eine kombinierte Erfassung von Artengemeinschaften und ihren Abundanzen als breit angelegte Methode mit Larvalerfassungen ausgewählter Zielarten als detaillierter angelegter Methode.
- Die Aussagekraft der möglichen Anzahl von Wiederholungen (Anzahl Paarvergleiche) wird über eine Poweranalyse abgeschätzt, sodass klare Angaben vorliegen, welche Sicherheit der betriebene Aufwand erbringt.
- Es werden verschiedene statistische Methoden zur Verbesserung der Aussagekraft vorgeschlagen, sodass je nach Datenstruktur das jeweils Optimale an Information aus den vorliegenden Daten entschlüsselt werden kann.

Insgesamt ergibt sich damit die derzeit bestmögliche Behandlung des Themas unter Optimierung der Aussagekraft der Ergebnisse bei überschaubarem Aufwand sowie unter Berücksichtigung der Vorgaben der Realität.

#### Nomenklatur

Schmetterlinge nach *Karsholt* und *Razowski* [78]. Blütenpflanzen nach *Haeupler* und *Muer* [79].

- Paired comparisons between similar GM and GMfree areas are conducted to minimise interference from heterogeneous environmental factors.
- The general setting of the paired areas must be checked including a documentation of this assessment.
- A variety of monitoring methods (light trap, transect method, visual larvae search, beating method) are applied to obtain a comprehensive illustration of the various relevant aspects of the data recorded.
- A sufficiently accurate and efficient monitoring strategy is aimed for (number of visits/light trap days, e.g. two-week monitoring cycle compared with a weekly cycle as used by Butterfly Monitoring Germany (TMD), for example).
- Crambid snout moths will also be recorded when performing butterfly transects. This increases the recorded species spectrum specifically in agricultural areas without significant additional effort and expense.
- Monitoring of species communities and their abundances as a broad-based method is combined with larval surveys of selected focus species for a more detailed approach.
- The explanatory power of the number of replications (number of paired comparisons) is estimated by means of a prospective power analysis to provide transparent information on the statistical confidence generated by the invested effort.
- Various different statistical methods to improve the explanatory power are put forward to ensure that the best possible information is obtained from the data collected, depending on the data structure

Compliance with these recommendations will result in the best possible treatment of the subject currently available by employing a reasonable level of effort and expenditure to optimise the explanatory power of the results whilst taking into account the practical constraints of field monitoring.

#### **Nomenclature**

Lepidoptera according to *Karsholt* and *Razowski* [78]. Flowering plants according to *Haeupler* and *Muer* [79].