

JULIA GÓRECKA

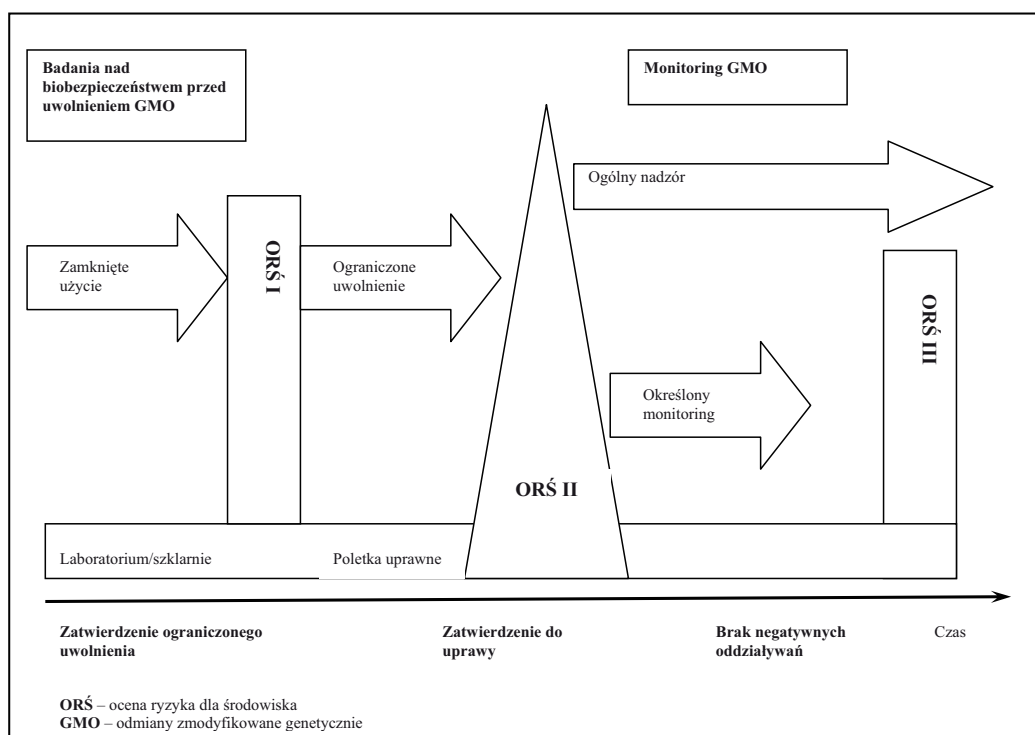
*Katedra Entomologii Stosowanej
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa
E-mail: juliag2@wp.pl*

ZASADY ANALIZY RYZYKA DLA FAUNY POŻYTECZNEJ PRZY WPROWADZANIU ODMIAN ZMODYFIKOWANYCH GENETYCZNIE DO ŚRODOWISKA

WPROWADZENIE

Znowelizowana ustawa o GMO w Polsce, opierająca się na Dyrektywie UE 2001/18/EC, dotycząca warunków wprowadzenia UGM do środowiska, daje tylko ogólne wskazówki o konieczności przeprowadzenia analizy ryzyka i monitoringu przy wprowadzaniu odmian GM do uprawy (Ryc. 1). Brak jednak w ustawie szczegółowych wytycznych. W czasie

międzynarodowych spotkań poświęconych tym zagadnieniom, zorganizowanych w ciągu ostatnich trzech lat, nie udało się uzyskać jednomyślności przy wyborze metod, technik i gatunków, które powinny służyć jako wskaźnikowe. Rozbieżności co do zakresu badań były znaczne, od włączenia wszystkich organizmów ważnych w układach troficznych da-



Ryc. 1. Etapy podejmowania decyzji o uwolnieniu odmian genetycznie zmodyfikowanych do środowiska.

nej uprawy, do badania tylko kilku gatunków jako bio-indykatorów. Jednak coraz częściej pojawia się również postulat, aby brać pod

uwagę ekonomiczny aspekt tych badań tak, aby maksymalizacja ich zakresu była jednak konfrontowana z kosztami tych prac.

WYBÓR METODY OCENY RYZYKA

Wybór gatunku do oceny efektów niezamierzonych powinien uwzględniać różne oddziaływania produktu transgenu na organizmy niedocelowe:

- efekty niezamierzone przewidywalne (ang. predictable unintended effect), np. w przypadku odmian kukurydzy ze względu na specyfikę oddziaływania toksycznego białka Bt na gąsienice innych gatunków Lepidoptera poza omacnicą prosowianką;
- efekty niezamierzone nieprzewidziane (ang. unanticipated adverse effects), m. in. gdy modyfikacja genetyczna wywołuje zmiany w innych procesach metabolicznych w roślinie. Postuluje się, aby dla oceny tych oddziaływań uwzględniać powiązania trójtroficzne: roślina-fitofagi-wrogowie naturalni.

Przed wyborem metodyki oceny ryzyka należy rozważyć następujące zagadnienia:

1. Jakie kryteria należy stosować przy wyborze gatunku organizmu do testów związanych z oceną ryzyka ?

2. Czy należy oceniać tylko bezpośrednie oddziaływanie produktu transgenu (np. toksycznego białka), czy też uwzględniać działania uboczne, np. wynikające z szerszych jakościowych powiązań pomiędzy GMO, docelowym gatunkiem szkodnika a jego wrogami naturalnymi?

3. Czy należy w testach uwzględniać efekty związane z plejotropią (absolutnymi sprzężeniami cech) i innymi niezamierzonymi oddziaływaniami ?

4. Czy należy przeprowadzać testy nad pośrednim oddziaływaniem GMO na parazytoidy i drapieżne stawonogi, pomimo że gatunki te nie są bezpośrednio narażone na działanie produktu transgenu ?

5. Czy ostateczna analiza ryzyka wykonana przed wydaniem zgody na uwolnienie GMO powinna zawsze uwzględniać badania polowe, czy też można ograniczyć się tylko do systemu etapowego (ang. tiered-system), adoptowanego z metodyki oceny chemicznych środków ochrony roślin (ch.ś.o.r.) (ROMEIS 2004, HELLMICH i współaut. 2005, ROSE 2005).

Wybór gatunku uznanego jako właściwy bio-indykator oddziaływań GMO na stawonogi jest nadal przedmiotem dyskusji. Postuluje

się wzięcie pod uwagę następujących kryteriów:

- znaczenie ekonomiczne/ekologiczne gatunku w układach troficznych w danej uprawie. Jednak dla wielu gatunków wrogów naturalnych, nawet ważnych szkodników, nie poznano dobrze ich roli w regulowaniu populacji fitofagów;
- prawdopodobieństwo oddziaływania produktu transgenu poprzez konkretny organ rośliny na dany gatunek stawonoga;
- wybór gatunków z różnych grup i rzędów;
- znajomość fizjologicznego oddziaływania produktu transgenu na różne gatunki;
- łatwość pozyskania i hodowli (ROMEIS i współaut. 2006).

Podkreśla się, że niezbędna jest wiedza o ekspresji toksycznego białka w różnych organach odmian GM ze względu na ich odmienny wpływ poprzez pokarm na gatunki fitofagów i organizmy pożyteczne. Szereg autorów wyraża wątpliwość, czy firmy biotechnologiczne udostępnią innym grupom badawczym szczegółową charakterystykę transgenicznej odmiany, pod kątem rozmieszczenia produktu transgenu w poszczególnych tkankach roślinnych. Wątpliwości wywołuje również wyeliminowanie niedocelowego gatunku stawonoga, przeciwko któremu nie działa toksyczne białko, ale gatunek ten spełnia ważną rolę w agrocenozie. Dotyczy to np. mszyc żerujących na zmodyfikowanej odmianie kukurydzy z genami Bt, będących pokarmem dla licznych wrogów naturalnych, stabilizujących dynamikę populacji innych gatunków fitofagów.

Celem badań prowadzonych w Katedrze Entomologii Stosowanej SGGW w Warszawie jest określenie niezamierzonych wpływów transgenicznej kukurydzy MON 810 na szereg organizmów niedocelowych, w tym stawonogów pożytecznych w trójtroficznych systemach ekologicznych roślina-szkodnik-wróg naturalny. Prowadzone badania dotyczyły wpływu paszy (mąki) pozyskanej z ziarniaków modyfikowanej genetycznie kukurydzy na młki mącznego (*Ephestia kuehniella*), szkodnika mącznych produktów w przechowywaniu oraz jego wroga naturalnego *Ventura*.

ria canescens – parazytoida, którego samice składają jaja do wnętrza larw motyla. Badania prowadzone w warunkach laboratoryjnych i szklarniowych dotyczyły szeroko rozpowszechnionego w Polsce szkodnika zbóż, mszycy czeremchowo-zbożowej (*Rhopalosiphum padi* L.), jako poziomu pierwszego, oraz parazytoida mszycarza szklarniowego (*Aphidius colemani* Viereck), jako wroga naturalnego. Prowadzone są również doświadczenia dotyczące pośredniego wpływu toksyny Bt na innych wrogów naturalnych mszyc: złotooka pospolitego (*Chrysoperla carnea*) i biedronkę dwukropkę (*Adalia bipunctata*),

jak również badany jest wpływ uprawy roślin transgenicznych na przedziorka chmielowca (*Tertranychus urticae* Koch.) i drapieżnego roztocza dobroczynka szklarniowego (*Phytoseiulus persimilis* A. H), a także wpływ spożywania transgenicznego pyłku na gąsienice bielinków (*Pieris spp.*) i resztek roślinnych w glebie na larwy rolnicy zbożówki (*Agrotis segetum*).

W niniejszy artykule przedstawione zostaną wyniki doświadczeń dotyczące dwóch łańcuchów troficznych: mąka kukurydziana-mklik mączny-parazytoid oraz roślina-mszyca zbożowo-czeremchowa-mszycarz szklarniowy.

WPLYW MAKI KUKURYDZIANEJ MON 810 NA MKLIKA MACZNEGO I JEGO PARAZYTOIDA

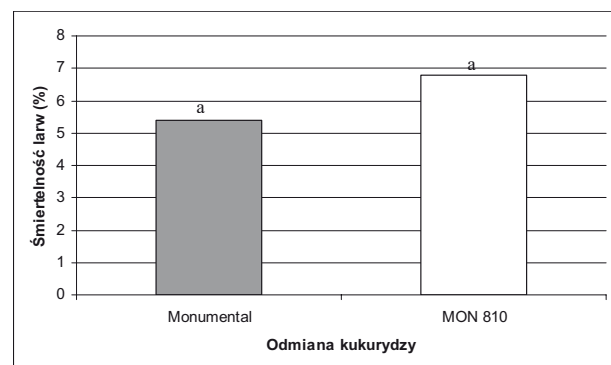
Roślinny materiał badawczy stanowiły dwie odmiany kukurydzy: linia DKc307 (MON 810), jako odmiana genetycznie zmodyfikowana, zawierająca gen warunkujący ekspresję endotoksyny Cry 1Ab, oraz izogeniczna, niezmodyfikowana genetycznie odmiana Monumental, jako kontrola. Nasiona obu odmian udostępnione zostały przez firmę Monsanto.

Owady użyte w doświadczeniu pochodziły z masowej hodowli prowadzonej w Katedrze Entomologii Stosowanej SGGW. Pierwsze stadia larwalne mklika mącznego pozyskane zostały z jaj zebranych w pojemnikach owipozycyjnych w przeciągu 3 dni od wpuszczenia do pojemników owadów dorosłych. Do sterylizowanych szklanych słoików zawierających mąkę uzyskaną przez zmielenie ziarniaków obu odmian wkładano po 20 larw mklika mącznego. Dla każdego typu mąki przeprowadzono doświadczenie z użyciem 1000 larw mklika mącznego. Gąsienice szkodnika były karmione mąką kukurydzianą przez 3 tygodnie, po czym zostały zważone. Określono również liczbę owadów dorosłych uzyskanych z larw używanych w doświadczeniu.

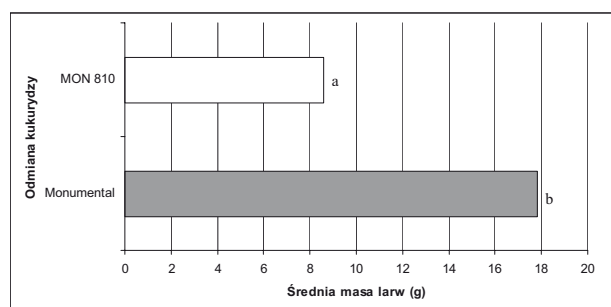
W celu zbadania pośredniego wpływu toksyny Bt na pasożytniczą osę *Venturia canescens*, trzytygodniowe larwy mklika mącznego umieszczono w woreczkach z gazy poliuretanowej, brzegi zabezpieczono klejem silikonowym, zapobiegającym ucieczkom owadów. Do każdego woreczka włożono 50 larw *A. kuhniella* i umieszczono je w insektariach wykonanych z pleksiglasu. Do insektariów wypuszczono po 4 dorosłe samice *V. canescens* na każde 50 gąsienic szkodnika. Gaza poliuretanowa umożliwiała samicom

parazytoida odszukanie gospodarza i złożenie jaj; jako źródło pożywienia dla os w insektariach umieszczono szalki z roztworem wody i miodu. Po tygodniu larwy mklika mącznego przeniesione zostały do szklanych słoików i umieszczone w komorze hodowlanej do uzyskania i policzenia osobników dorosłych parazytoida. Analiza statystyczna wyników (One Way ANOVA) wykonana została przy użyciu pakietu STATGRAPHICS 4.1.

Przeprowadzone doświadczenia nie wykazały statystycznie znaczących różnic w przeżywalności larw na mące z ziarniaków odmiany MON 810 i Monumental (Ryc. 2), lecz średnia masa larw na mące modyfikowanej genetycznie była znacząco niższa. Larwy karmione mąką zawierającą toksynę Bt rozwijały się około 2 tygodni dłużej i miały ponad dwukrotnie niższą masę ciała niż larwy hodowane na mące z odmiany kontrolnej (Ryc. 3). Tylko nieliczne gąsienice karmione genetycznie modyfikowaną mąką osiągnęły stadium poczwarki.

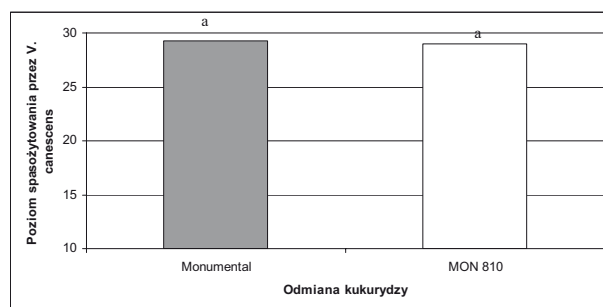


Ryc. 2. Śmiertelność larw mklika mącznego w zależności od rodzaju podawanego pokarmu.



Ryc. 3. Wpływ typu podawanego pokarmu na masę ciała gąsienic młkika mącznego.

Różnice w wadze larw nie miały jednak wpływu na poziom pasożytowania gąsienic przez *V. canescens*. Nie wykazano również wpływu typu pokarmu podawanego gospodarzowi na przeżywalność stadiów larwal-



Ryc. 4. Poziom spasożytowania larw młkika mącznego przez *Venturia canescens* w zależności od rodzaju pokarmu podawanego gąsienicom.

nych pasożytniczej osy wewnątrz larw motyla (Ryc. 4).

WPŁYW KUKURYDZY ODMIANY MON 810 NA UKŁAD TRÓJTROFICZNY ROŚLINA-MSZYCA ZBOŻOWO-CZEREMCHOWA-MSZYCARZ SZKLARNIOWY

W celu uzyskania materiału roślinnego, nasiona kukurydzy odmian MON 810 i Monumental posiane zostały w szklarni w kontrolowanych warunkach. Do przeprowadzenia doświadczeń używane były rośliny w fazie 4–6 liści. Rośliny zostały ustawione w dwóch izolowanych komorach o średniej temperaturze powietrza 25°C i wilgotności powietrza ok. 70%. Stosunek dnia do nocy wynosił 16:8. Pomimo zastosowania systemu wentylacji temperatura w szklarni latem 2006 r. znacznie wzrosła, co miało znaczący wpływ na wyniki doświadczenia. Badania przeprowadzono w dwóch okresach: zimą i latem 2006.

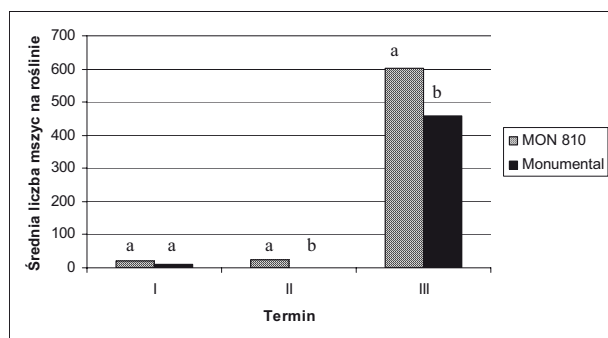
Kolonie mszycy uzyskane zostały w Szklarniach Doświadczalnych Wydziału Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu SGGW w Warszawie. Mumie mszyc zawierające osobniki parazytoidea zakupione zostały w Rol-Eko z siedzibą w Warszawie.

Aby określić wpływ toksyny Bt zawartej w transgenicznej odmianie MON 810, na rośliny obu odmian wprowadzono po 10 dorosłych bezskrzydłych samic mszycy czeremchowo-zbożowej na roślinę, w 3 powtórzeniach po 10 roślin każdej odmiany w powtórzeniu. Liczebność kolonii mszyc uzyskanych na roślinach szacowana była trzykrotnie w dwutygodniowych odstępach.

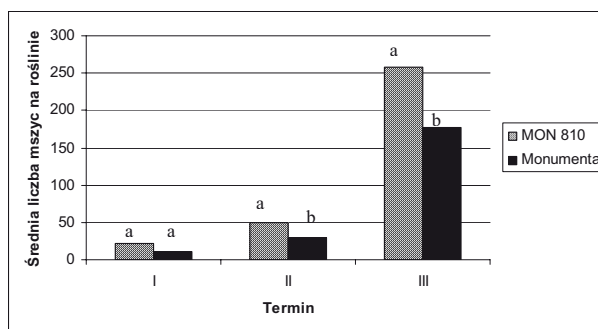
Po ośmiu tygodniach rośliny umieszczone zostały w izolatorach zapobiegających uciecz-

kom i rozprzestrzenianiu się owadów używanych w doświadczeniu. W każdym izolatorze umieszczono po 125 mumii zawierających poczwarki *A. colemani*, zapewniając osobnikom dorosłym źródło pożywienia w postaci roztworu wody z miodem. Po trzech tygodniach określono liczbę zmumifikowanych mszyc z otworami świadczącymi o wykluciu się owada dorosłego parazytoidea na roślinach doświadczalnych. Dane zostały opracowane statystycznie poprzez wykonanie jednoczynnikowej analizy wariancji przy użyciu programu STATGRAPHICS Plus 4.1.

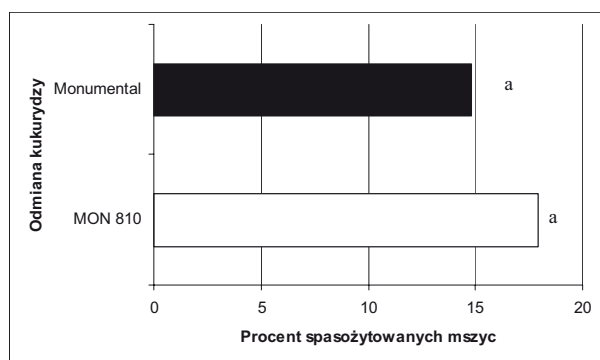
Zarówno w sezonie letnim, jak i zimowym obserwowano różnice w rozwoju populacji mszycy w zależności od odmiany zasiedlanych roślin kukurydzy. W sezonie zimowym liczba potomstwa wprowadzonych mszyc była w każdym terminie wyższa na odmianie MON 810, ale statystycznie istotna różnica zanotowana była tylko w pierwszym terminie liczenia, po dwóch tygodniach od nałożenia na rośliny pierwszych mszyc. Po 8 tygodniach średnia liczebność mszyc na roślinę na odmianie MON 810 wyniosła 258, w porównaniu z 186 mszycami/ rośliną na odmianie kontrolnej (Ryc. 5). Podobne różnice w liczebności populacji *R. padi* obserwowano podczas eksperymentu letniego, jednak z powodu znacznego wzrostu temperatury w szklarni w czasie upalnych letnich dni rozwój owadów został zahamowany i znacznie



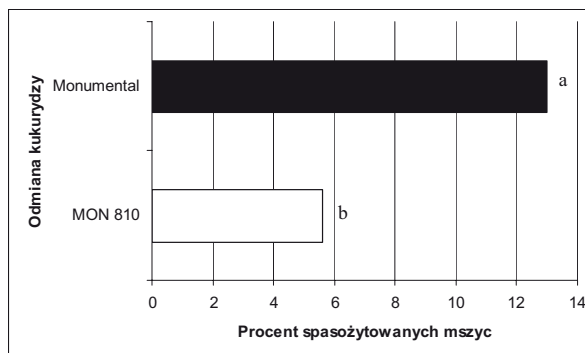
Ryc. 5. Średnia liczebność mszycy czeremchowo zbożowej na roślinach kukurydzy odmiany MON 810 i Monumental – badania w okresie letnim.



Ryc. 6. Średnia liczebność mszycy czeremchowo zbożowej na roślinach kukurydzy odmiany MON 810 i Monumental – badania w okresie zimowym.



Ryc. 7. Poziom spasożytowania mszycy zbożowo czeremchowej przez *A. colemani* na kukurydzy modyfikowanej genetycznie i jej linii izogenicznej – eksperyment letni.



Ryc. 8. Poziom spasożytowania mszycy zbożowo czeremchowej przez *A. colemani* na kukurydzy modyfikowanej genetycznie i jej linii izogenicznej – eksperyment zimowy.

wzrosła ich śmiertelność. Po okresie upałów populacja mszyc na kukurydzy modyfikowanej genetycznie osiągnęła średnią liczebność 600 mszyc/roślinę, podczas gdy na odmianie Monumental zaobserwowano średnio 459 mszyc/roślinę (Ryc. 6).

Podczas doświadczenia prowadzonego w terminie zimowym poziom spasożytowania mszyc przez *A. colemani* był znacznie wyższy na kukurydzy odmian Monumental (Ryc. 7) i spowodował trzykrotny wzrost populacji parazytoidea, podczas gdy na odmianie modyfikowanej wzrost liczebności populacji mszycarza szklarniowego był 1,5 krotny.

Wyniki uzyskane podczas eksperymentu przeprowadzonego w terminie letnim były odwrotne i procent pasożytowania mszyc był wyższy na odmianie transgenicznej. Po trzech tygodniach od introdukcji parazytoidea w izolatorach z roślinami MON 810 liczebność populacji *A. colemani* wzrosła jedenastokrotnie, podczas gdy na odmianie kontrolnej było dziewięciokrotnie więcej osobników dorosłych parazytoidea (Ryc. 8). Analiza statystyczna wyników nie wykazała jednak znaczących różnic w poziomie pasożytowania (GÓRECKA i współaut. 2007, w druku).

DYSKUSJA

Doświadczenia przeprowadzone w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych potwierdziły wstępne obserwacje mniejszego stopnia zainfekowania przez młki mącznego mąki kukurydzianej pozyskanej z odmiany

modyfikowanej genetycznie. Toksyny wytwarzane przez bakterię *Bacillus thuringiensis* są uważane za wysoce specyficzne, jednak nie wyklucza się ich niekorzystnego wpływu na gatunki spokrewnione lub należące

do tego samego rodzaju taksonomicznego. Brak znaczącego statystycznie wpływu pokarmu zawierającego endotoksynę Cry 1Ab na larwy młkika mącznego w porównaniu z linią izogeniczną nie potwierdza, że jakość pokarmu nie miała wpływu na przeżywalność larw. Wskazują na to dodatkowe parametry, takie jak redukcja masy ciała gąsienic o 48,3% w porównaniu do larw karmionych mąką wolną od toksyny Bt lub znikomy rozwój stadiów poczwarki u młkika karmionego mąką GM. Nie wykazano natomiast wpływu opóźnienia rozwoju larw i spadku i wagi na rozwój i przeżywalność pasożytniczej osy *V. canescens*. Parazytoid ten nie powinien być używany jako bioindykator negatywnych wpływów toksyn ze względu na małą wrażliwość na pogorszenie jakości gospodarza na skutek zmiany jakości jego pożywienia. Wyniki wskazują ponadto, że mąką i ziarno kukurydzy zawierającej geny warunkujące produkcję szkodliwej dla niektórych gatunków motyli toksyny powinny być w mniejszym stopniu infekowane przez szkodniki przechowywane z rodzaju *Lepidoptera*.

Wyniki wskazujące lepszy rozwój populacji mszycy na roślinach transgenicznych

mogą być spowodowane cechami charakterystycznymi odmiany. Jak podają SAXENA i STOTZKY (2001), na skutek zmian pleiotropowych będących wynikiem transformacji, biochemiczny skład tkanek odmian modyfikowanych może być nieco inny niż ich odmian macierzystych, różniąc się na przykład zawartością ligniny w tkankach. Obserwacje wskazujące na szybszy rozwój mszyc zbożowych na kukurydzy transgenicznej opublikował LUMBIERRES ze współpracownikami (2004), wykazując w prowadzonych przez okres 3 lat badaniach polowych większe zagęszczenie młodszych stadiów *R. padi* na bardzo młodych roślinach. Rezultaty te nie potwierdziły się jednak w odniesieniu do starszych roślin przy eksperymencie obejmującym cały okres wegetacyjny. Nie wykazano także, aby szybszy wzrost liczebności populacji mszyc utrzymywał się przez kilkanaście pokoleń (LOZZIA i współaut. 1998, LOZZIA 1999).

Nieoczekiwane efekty fenotypowe pojawiające się w roślinach na skutek transformacji są zjawiskiem dość często spotykanym, ale większość z nich nie ma skutków ubocznych dla środowiska (LATHAN i WILSON 2006).

PODSUMOWANIE

Jak pokazują wyniki przeprowadzonych przez nas badań, pasożytnicza osa *V. canescens* nie jest gatunkiem wrażliwym na pogorszenie kondycji gospodarza, w związku z czym nie powinna być używana jako wskaźnik niezamierzonych efektów zarówno toksyn pochodzących z roślin transgenicznych, jak również toksyn pochodzących z innego źródła. Młkik mączny okazał się gatunkiem na tyle wrażliwym, że można przewidywać mniejszy stopień porażenia tym szkodnikiem mącznych produktów przechowywanych w młynach i magazynach.

Toksyna Bt zawarta w tkankach kukurydzy MON 810 nie ma szkodliwego wpływu na rozwój populacji i przeżywalność osobników mszycy czeremchowo-zbożowej, natomiast zwiększenie tempa wzrostu populacji może być wynikiem zmian w składzie biochemicznym tkanek roślinnych, co wymaga dodatkowych testów chemicznych. Wpływ rodzaju pokarmu podawanego szkodnikowi na jego wroga naturalnego, parazytoida *A. colemani*, nie był jasny i zależał od pory roku, w jakiej prowadzone było doświadczenie, potrzebne są zatem dodatkowe testy wy-

kluczające wpływ niekorzystnych warunków pogodowych.

Nie ulega wątpliwości, że ze względu na potencjalny wpływ modyfikacji roślin w kierunku odporności na owady niezbędne jest przeprowadzenie szeroko zakrojonych badań nad efektem uprawy roślin transgenicznych na bioróżnorodność i zależności troficzne w środowisku naturalnym. Pierwszym krokiem powinno być ustalenie, jakie gatunki mogą być narażone na niezamierzony efekt toksyny Bt, oraz przeprowadzenie szeregu badań laboratoryjnych, a następnie polowych. Transformowanie genomu organizmów żywych jako nowa technologia niesie ze sobą ogromne korzyści ekonomiczne, wydając się przy tym relatywnie bezpieczna dla środowiska naturalnego. Jednak, jak każda nowa technologia, wymaga wnikliwego zbadania i oceny wielu niezależnych ośrodków badawczych bazujących na jednakowej, znormalizowanej metodyce.

Składamy wyrazy podziękowania firmie Monsanto za udostępnienie nasion kukurydzy transgenicznej i linii izogenicznej.

Badania są częściowo finansowane przez projekt badawczy nr P06R 05628, zatwier-

dzony przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego Rzeczypospolitej Polskiej.

PRINCIPLES OF RISK ASSESMENT FOR BENEFICIAL FAUNA ON INTRODUCTION OF GM PLANTS

Summary

Greenhouse and laboratory experiments reported have included DKc307 maize cultivar with Cry 1Ab gene (MON 810) as the GM reference crop and cv. Monumental, its isogenic line as representative of the first trophic level and a) *Ephestia kuehniella* Zell. and its parasitoid *Venturia canescens*, b) *Rhopalosiphum padi* L. and parasitic *Aphidius colemani* Viereck as the second and third level relations.

No significant differences in larval survival of *E. kuehniella* on MON 810 flour in comparison to its non – GM isoline was observed, however, the average weight of larvae reared on MON 810 flour was significant lower. This effect did not affect the level of parasitisation by *V. canescens*. The results clearly

showed that grain and flour made of MON 810 during their storage should be less infected by the moth larvae and the role of parasitoid even stronger.

It was confirmed that Cry 1Ab toxin did not showed a toxic effect on *R. padi* aphids feeding on MON 810. In addition they developed higher (but not significantly) populations on the transgenic plants, both in the winter and summer greenhouse tests. Higher aphids' parasitisation level by *A. colemani* was observed on MON 810 in the summer tests and on cv. Monumental in the winter bio-assays, indicating an effect of season on the tri-trophic relations.

LITERATURA

- GÓRECKA J., DĄBROWSKI Z. T., GODZINA M., KUBIS K., 2007. *Validation of some techniques used in the evaluation of GM plant's effect on tri-trophic relations*. IOBC/WPRS Bulletin (w druku).
- HELLMICH R. L., PRASIFKA J. R., WOLT D., SEARS M. K., 2005. *A framework for evaluating possible non-target of transgenic corn in the United States: standardizing laboratory tests*. IOBC/ WPRS Bulletin, Working group "GMOs in Integrated Plant Production" Proceedings of the meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms" Lleida (Spain), 36.
- LATHAN J. R., WILSON A. K., 2006. *Unintended phenotypic consequences in transgenic plants. Abstracts. Workshop "Environmental risk assessment of GM plants: discussion and consensus"*. Rotendalle (Italy), 5–9 June 2006, 16.
- LOZZIA G. G., 1999. *Biodiversity and structure of ground beetle assemblages (Coleoptera: Carabidae) in Bt corn and its effect on non-target insects*. Boll. Zool. Agrar. Bachic. Ser. II 34, 37–58.
- LOZZIA G. G., FURLANIS C., MANACHINIB., RIGAMONTI I. E., 1998. *Effects of Bt corn on Rhopalosiphum padi L. (Rhynchoita: Aphididae) and on predator Chrysoperla carnea Stephen (Neuroptera: Chrysopidae)*. Boll. Zool. Agrar. Bachic. Ser. II 30, 153–164.
- LUMBIERRES B., ALBAJES R., PONS X., 2004. *Transgenic Bt maize and Rhopalosiphum padi (Hom. Aphididae) performance*. Ecol. Entomol. 29, 309–317.
- ROMEIS J., 2004. *Workshop report – Impact of GM crops on natural enemies*. IOBC/WPRS Bulletin 27/3, 193–195.
- ROMEIS J., MEISSELE M., BIGLER F., 2006. *Transgenic crops expressing Bacillus thuringiensis toxins and biological control*. Nature Biotechnol. 24, 63–71.
- ROSE R. I., 2005. *Tier-based testing for potential effects of proteinaceous insecticidal plant-incorporated protectants on non-target invertebrates in the context of regulatory risk assessments*. IOBC/ WPRS Bulletin, Working group "GMOs in Integrated Plant Production" Proceedings of the meeting "Ecological Impact of Genetically Modified Organisms" Lleida (Spain), 32.
- SAXENA D., STOTZKY G., 2001. *Bt corn has a higher lignin content than non – Bt corn*. Am. J. Bot. 88, 1704–1706.