

ANNA DOBROWOLSKA

*Zakład Cytogenetyki i Biologii Molekularnej Roślin*

*Uniwersytet Łódzki*

*Banacha 12/16, 90–237 Łódź*

*e-mail: dobrowol@taxus.biol.uni.lodz.pl*

## ODMIANY ROŚLIN TRANSGENICZNYCH *Bt* A PESTYCYDY – ASPEKTY ŚRODOWISKOWE I ZDROWOTNE

### WPROWADZENIE

Roślinożerne owady są jedną z głównych przyczyn obniżania plonów roślin uprawnych. Obecnie stosowane metody mające na celu ograniczenie strat to przede wszystkim stosowanie środków owadobójczych, co wiąże się z wysokimi kosztami ekonomicznymi oraz zanieczyszczeniem środowiska. Wobec takich skutków ubocznych, nie jest zaskakującym faktem podjęcie przez naukowców prób uzyskania i wprowadzenia do produkcji roślin transgenicznych opornych na insekty. Pierwsze doniesienie dotyczące uzyskania roślin transgenicznych opornych na szkodliwe owady opublikowano w 1987 r. (GRIMSLEY i współaut. 1987).

Jednymi z pierwszych roślin transgenicznych, które pojawiły się na rynku, były rośliny zawierające geny kodujące owadobójcze toksyny izolowane z powszechnie występującej bakterii *Bacillus thuringiensis* (*Bt*). Wśród genetycznie zmodyfikowanych odmian roślin uprawnych wykazujących ekspresję toksyn *Bt*, dopuszczonych do sprzedaży w latach 1995–1996, znalazły się kukurydza, bawełna oraz ziemniak. W 1999 r. blisko 24% światowej uprawy kukurydzy oraz 5% światowej uprawy bawełny zawierało transgen toksyny *Bt* (GOULD 2000). Zyski finansowe wynikające z uprawy odmian roślin transgenicznych są znaczące. W USA, dla przykładu, kukurydza wykazująca ekspresję toksyn *Bt* dawała o 7% wyższy plon w skali roku z jednego akra, co stano-

wiło zysk netto 16,88 dolarów. Odmiany transgenicznej kukurydzy oraz bawełny, wykazujące odporność na szkodniki owadzie, okazały się atrakcyjne zarówno dla rolników, jak i dla firm zajmujących się produkcją i sprzedażą nasion siewnych. Biorąc pod uwagę prognozy ISAAA (ang. International Service for the Acquisition for Agri-Biotech Applications), wskazujące na wzrost zysków wynikających z uprawy roślin transgenicznych z 3 mld dolarów w 2000 r. do 8 mld i 25 mld dolarów odpowiednio w latach 2005 i 2010, należy sądzić, że w nadchodzącym dziesięcioleciu odmiany transgeniczne zdominują największe rynki nasion roślin uprawnych i będą uprawiane na około 60 mln hektarów rocznie, głównie w USA.

Wykorzystanie transgenicznych odmian roślin wykazujących ekspresję toksyn owadobójczych *Bt* niesie za sobą niewątpliwe korzyści ekonomiczne. Jednakże zwraca się uwagę na ryzyko ekologiczne. Jednym z potencjalnych zagrożeń wynikających z ich uprawy jest nieznaną efekt działania toksyny na owady nie będące bezpośrednimi szkodnikami roślin uprawnych, zwłaszcza, jeżeli organizmy te żywią się szkodnikami i są pożyteczne z rolniczego punktu widzenia.

W artykule podjęto próbę przeglądu zagadnień dotyczących korzyści i zagrożeń wynikających ze stosowania jednego z do niedawna powszechnie stosowanych pestycydów-rote-

nonu oraz wpływu roślin transgenicznych zawierających gen *Bt* i ich wydzielin na żerujące

na nich owady, jak i owady przyjazne środowisku.

## ROTENON

### ROTENON JAKO NATURALNY, BIOLOGICZNY PESTYCYD

Rotenon jest selektywnym biologicznym zoocydem, który nie jest dopuszczony do używania w Polsce. Wykorzystywany jest w ogrodach domowych oraz jako środek stosowany do zabijania ryb w sztucznych zbiornikach wodnych przed ponownym zarybieniem wybrnymi gatunkami. Jest to ekstrakt uzyskiwany z roślin tropikalnych należących do rodziny Leguminosae (strączkowe). Ekstrakty rotenonu otrzymuje się z korzeni, nasion oraz liści różnych gatunków roślin. Sprzedawany jest jako preparat w postaci kryształów (95% ekstrakt), roztworu emulsyjnego (50% ekstrakt) oraz proszku (0, 75–5% ekstrakt) stanowiącego dodatek do nawozów stosowanych do nawożenia m.in. pomidorów i jabłoni jabłoni ([www.rotenone.com/indez.html](http://www.rotenone.com/indez.html)).

Rotenon jest składnikiem około 680 organicznych insektycydów ogrodowych. Z uwagi na swoje naturalne pochodzenie rotenon wydaje się być bezpieczniejszy niż syntetyczne pestycydy. W przeciwieństwie do nich, ulega naturalnemu rozkładowi w glebie oraz wodzie, tracąc swą toksyczność pod wpływem działania światła słonecznego w ciągu 5–6 dni latem oraz w ciągu 2–3 dni wiosną (AUGUSTIN-BECKER i współaut. 1994).

W wyniku bezpośredniego spożycia lub wdychania związków zawierających rotenon, u zwierząt i człowieka może dojść do zapalenia skóry, zapalenia gardła, krwotoku, wymiotów. U szczurów i psów poddanych ekspozycji form pylistych rotenonu dawka śmiertelna w przypadku inhalacji była znacznie niższa niż w przypadku dawki śmiertelnej podawanej z pokarmem (LAWS i HAYES 1991). Zatem rotenon jest bardziej toksyczny kiedy dostaje się do organizmu na drodze inhalacji niż doustnie, zwłaszcza, gdy rozmiary drobin pyłku są bardzo małe i dostają się do pęcherzyków płucnych.

### ZWIĄZEK ROTENONU Z CHOROBA PARKINSONA

Choroba Parkinsona jest jedną z najczęściej występujących chorób neurodegeneracyjnych.

Dotknięty nią jest około 1% ludności powyżej 60 roku życia. Charakteryzuje się zeszywnieniem stawów, ograniczoną ruchliwością oraz drżeniem rąk, co spowodowane jest degeneracją neuronów zawierających dopaminę w substancji czarnej mózgu. Inną charakterystyczną cechą tej choroby jest obecność w mózgu pacjentów mikroskopijnych depozytów białkowych zwanych ciałkami Lewy'ego. Choć pewne przypadki choroby mogą być determinowane obciążeniami genetycznymi, etiologia tej choroby pozostaje wciąż niewyjaśniona. Proponuje się, że pewne sporadyczne przypadki mogą być rezultatem oddziaływań środowiskowych (<http://agioviev.listbot.com>).

Wykazano (BETERBET i współaut. 2000), że rotenon może indukować w mózgu zmiany prowadzące do choroby Parkinsona u szczurów. Wyniki tych badań pozwoliły na zwrócenie uwagi badaczy na nowy, zwierzęcy model do testowania potencjalnych leków. Potwierdzają również tezę, iż ciągła ekspozycja na pestycydy środowiskowe może mieć związek z pojawieniem się choroby Parkinsona u ludzi. Przed opublikowaniem wyników powyższych badań, modelem zwierzęcym wykorzystywanym do badań choroby Parkinsona, była mysz traktowana MPTP (MPTP- 1, 2, 3, 4 - tetrahydropirydyna) (BETARBET i współaut. 2000). Model ten wykorzystywano we wczesnych latach 80., kiedy u wielu narkomanów wystąpiły nagle, nieodwracalne objawy choroby Parkinsona po wstrzyknięciu heroiny zanieczyszczonej MPTP. Przyczyną efektu toksycznego była inhibicja przez MPTP (a właściwie jej pochodną MPP<sup>+</sup>) enzymów mitochondrialnych.

Rotenon, jak wiele innych pestycydów, hamuje aktywność tego samego enzymu mitochondrialnego (tj. kompleksu I), co MPP<sup>+</sup>. Na podstawie tych zależności BATERBET i współpracownicy w 2000 r. wysunęli hipotezę zakładającą, że długotrwałe podawanie szczurom rotenonu w niskich dawkach mogłoby wywoływać chorobę Parkinsona. Rotenon podawano dożylnie przez kilka tygodni i obserwowano postępującą degenerację neuronów dopaminowych połączoną z objawami choroby Parkinsona oraz formowaniem struktur przypominających ciałka Lewy'ego. Inną hipo-

też, do tej pory nie zweryfikowana jest to, że rotenon powoduje wytwarzanie wolnych rod-

ników w mitochondriach (BETARBET i współaut. 2000).

#### ROŚLINY TRANSGENICZNE *Bt* A SZKODNIKI OWADZIE

*Bacillus thuringiensis* jest gram-dodatnią bakterią zdolną do wytwarzania spor. Bytuje w wielu środowiskach, takich jak np. gleba czy rośliny i w odróżnieniu od innych gatunków *Bacillus*, podczas sporulacji wytwarza parasporalne kryształy. Kryształy te składają się z jednej lub kilku  $\delta$ -endotoksyn lub białek kryształowych (CRY) o masie około 130 kDa. Toksyny te należą do dużej i wciąż nie w pełni poznanej rodziny białek homologicznych – dotychczas zidentyfikowano ponad 130 genów kodujących te białka (CRICKMORE i współaut. 1998, [http://epunix.biols.susx.ac.uk/Home/Neil\\_Crickmore/Btindex.html](http://epunix.biols.susx.ac.uk/Home/Neil_Crickmore/Btindex.html)).

Toksyny *Bt* zabijają dorosłe owady i ich gąsienice należące do rzędów: Motyle (Lepidoptera), Dwuskrzydłe (Diptera), Chrząszcze (Coleoptera). Owady wrażliwe mają receptor w błonach komórkowych, pośredniczący w transporcie toksyny do wnętrza komórek. W alkalicznym środowisku ich przewodu pokarmowego, wytwarzana przez bakterie protoksyna (130 kDa) ulega proteolizie, z wytworzeniem produktu (70 kDa) paraliżującego owada (patrz: WĘGLEŃSKI 1995).

Różne szczepy *Bt* wytwarzają odmienne toksyny owadobójcze o zróżnicowanym zakresie gospodarzy. Do roślin wprowadzono co najmniej 10 genów kodujących różne toksyny *Bt*. Były to: *cry1A(a)*, *cry1A(b)*, *cry1A(c)*,

*cry1B(a)*, *cry1C(a)*, *cry1H*, *cry2A(a)*, *cry3A*, *cry6A*, *Cry9C*. Powodowały one toksyczność w stosunku do owadów z rzędów: Lepidoptera i Diptera (RUUD i współaut. 1999). Większość białek CRY, nawet w obrębie podrodziny CRY1A wykazuje różne, unikalne spektrum owadobójcze. Geny *cry1A* i *cry1C* kodują białka odpowiednio CRY1A i CRY1C, wykazujące specyficzność w stosunku do larw owadów z rodziny Lepidoptera takich jak np. owocówka jabłkóweczka (*Cydia pomonella*). Dla kontrastu, białko CRY3A jest toksyczne dla szkodliwych owadów z rodziny Coleoptera włączając stonkę ziemniaczaną (*Leptinotarsa decemlineata*).

Ekspresję toksyn *Bt* obserwowano u kilkunastu gatunków roślin uprawnych (SCHULER i współaut. 1998). Poziom odporności rośliny na owady, w większości przypadków zależy od tego, czy wprowadzono do rośliny natywny gen bakteryjny, skrócony gen bakteryjny czy gen o zoptymalizowanych kodonach, tj. ułatwiający ich ekspresję w genomie rośliny. Geny o zoptymalizowanych kodonach wprowadzono do kilku roślin uprawnych tj. ryżu, bawełny, kukurydzy, ziemniaka, brokuł, kapusty, lucerny czy kawy. W roślinach tych obserwowano obecność toksyn *Bt* w ilościach wystarczających, aby spowodować śmierć owadów będących celem działania toksyny (Tabela 1).

#### ROŚLINY TRANSGENICZNE *Bt* A OWADY PRZYJAZNE ŚRODOWISKU

W przeszłości, nieograniczone stosowanie chemicznych insektycydów, zabijających szkodniki owadzie, jak również ich naturalnych wrogów, doprowadziło do pojawienia się szkodników odpornych na dany związek. Obecnie, przeprowadzanie testów na przyjaznych środowisku stawonogach jest częścią procedury warunkującej uzyskanie atestu i zezwolenia na wprowadzenie na rynek nowego insektycydu (RUUD i współaut. 1999). Zgodnie z opublikowanymi raportami, stosowane od lat 60. biologiczne insektycydy, produkowane na bazie białek krystalicznych *Bt*, nie oddziałują na przyjazne środowisku owady. Jest to spowodowane wysoką specyficznością działania oraz

szybką degradacją i dezaktywacją preparatów pod wpływem światła UV (RUUD i współaut. 1999). Wyniki te nie mogą być przenoszone wprost na transgeniczne rośliny *Bt*, gdyż występują różnice, dotyczące czasu oraz formy ekspozycji owada na toksynę (ciągła ekspozycja w przypadku roślin transgenicznych w odróżnieniu od przejściowej w przypadku opryskiwania, aktywna toksyna w roślinach w odróżnieniu od protoksyny w kryształach opryskiwacza). Ogólnie, transgeniczne rośliny *Bt* wydają się być bardziej specyficzne, gdyż wytwarzają jedną, ściśle określoną toksynę, podczas gdy szczepy *Bt* wykorzystane do opryskiwań zwykle produkują kilka różnych toksyn w

tym relatywnie niespecyficzne  $\delta$ -endotoksyny. Niestety, przeprowadzono niewiele badań mających na celu ustalenie wpływu transge-

turalnym środowisku. Nasunęło się również pytanie, czy śmiertelność motyli w pobliżu pól z nietransgeniczną kukurydzą traktowaną pre-

Tabela 1. Śmiertelność szkodników owadów w biotestach przeprowadzonych z użyciem roślin transgenicznych wykazujących ekspresję toksyn *Bt*

Roślina uprawna	Szkodnik owadzi	Wprowadzony gen	Poziom toksyny powodujący 100% śmiertelność owadów**	Autor
<i>Oryza sativa</i>	<i>Scripophaga incertulas</i>	<i>cry1A(b)*</i> <i>cry1A(c)*</i>	0,23-0,28	CHENG i współaut. 1998
<i>Zea mays</i>	<i>Plodia interpunctella</i>	<i>cry1A(b)</i> <i>cry9(c)</i>	nb	GILES i współaut. 2000
<i>Oryza sativa</i> – odmiana <i>indica</i>	<i>Scripophaga incertulas</i>	<i>cry1Ac</i>	nb	NAYAK i współaut. 1997
<i>Arachis hypogaeal</i>	<i>Perileuoptera coffeella</i>	<i>cry1Ac</i>	0,18	SINGSIT i współaut. 1997
<i>Brassica campestris</i>	<i>Plutella xylostella</i>	<i>cry1A(b)*</i> <i>cry1A(c)*</i>	nb	XIANG i współaut. 2000
<i>Coffee canephora</i>	<i>Perileuoptera coffeella</i>	<i>cry1A(c)*</i>	nb	LEROY i współaut. 2000

\*Gen syntetyczny; \*\*poziom toksyny określony został w % całej puli białek rozpuszczalnych; nb – nie badany

nicznych roślin *Bt* na przyjazne środowisku owady. Wyniki kilku z nich omówione zostały poniżej.

#### PYŁEK KUKURYDZY TRANSGENICZNEJ Z GENAMI *BT* A OWADY NIE SZKODZĄCE UPRAWOM

W 1999 r. opinię publiczną poruszyły wyniki badań Loseya i Rayora dotyczące wpływu pyłku transgenicznej kukurydzy *Bt* na żywotność motyla (*Danaus plexippus*) zasiedlającego sąsiedztwo pól, na których uprawiano transgeniczną kukurydzę. Dowodziły one, że larwy żerujące na roślinach mleczu (*Asclepias curassavica*) pokrytych pyłkiem pochodzącym z transgenicznych roślin wykazywały ograniczoną żywotność. Wyniki tych badań zostały zakwestionowane przez Sears'a (SEARS i współaut. 2001) oraz Environmental Protection Agency (www.epa.gov) (DAVIS 2001). Pojawiły się wątpliwości, czy warunki, w których przeprowadzano doświadczenia odpowiadają tym, w których żyją larwy w ich na-

paratami zawierającymi toksyny *Bt* lub inne insektycydy byłaby porównywalna ze śmiertelnością stwierdzoną w powyższych badaniach (HAILS 2000)? Kwestia ta nie została dotychczas rozstrzygnięta.

Powyższe wyniki badań spotkały się z krytyką innej grupy badaczy (SCHULER i współaut. 1998), którzy kwestionowali generalizowanie wyników badań uwzględniających wpływ pyłku kukurydzy transgenicznej na jeden gatunek owada. Zwrócili oni uwagę, że gatunki populacji owadów z rodziny Lepidoptera mogą być w zróżnicowanym stopniu narażone na ekspozycję endotoksyn znajdujących się w pyłku odmian transgenicznych. Do owadów tych należy motyl *Papilio polyxenes*, który żyje m.in. w rowach znajdujących się między drogami a polami uprawnymi. Badania przeprowadzone w warunkach polowych oraz laboratoryjnych wskazały, że pyłek odmian transgenicznych nie powoduje śmiertelności dzikiej populacji *Papilio polyxene* (SCHULER i współaut. 1998).

TOKSYNY OWADOBÓJCZE *Bt* W GLEBIE

Tematem badań innej grupy badaczy (SAXENA i współaut. 1999) była toksyczność wydzielin korzeni transgenicznej kukurydzy. Uzyskane wyniki wskazują na aktywność toksyn *Bt* znajdujących się w glebie, gdzie szybko wiążą się one do cząstek gliniastych. Dzięki związaniu z cząstkami gleby toksyna utrzymuje swoje właściwości owadobójcze i jest chroniona przed degradacją mikrobiologiczną przez co najmniej 234 dni.

Obiektami badań była gleba, na której uprawiano transgeniczną kukurydzę oraz gleba uzyskana z pól, gdzie uprawiano odmiany nietransgeniczne. Analiza gleby po 7 oraz 15 dniach uprawy, przy wykorzystaniu SDS-PAGE oraz testów immunologicznych, wykazała obecność toksyny CRY1A(b). Pozytywny wynik biotestu, z wykorzystaniem larw motyla *Manduca sexta*, wskazał na aktywność toksyny. Larwy, umieszczone na podłożu zawierającym wydzieliny z korzeni transgenicznej kukurydzy, ginęły po 2–3 dniach, zaś po 5 dniach śmiertelność sięgała 90–95%. W przy-

padku wydzielin z korzeni roślin nie transformowanych nie obserwowano śmierci larw oraz pozytywnej reakcji immunologicznej (SAXENA i współaut. 1999). Po 25 dniach wyniki testu immunologicznego oraz biotestu były negatywne zarówno w przypadku gleby roślin transgenicznych, jak i nietransgenicznych, co według autorów może wskazywać na hydrolizę i dezaktywację toksyny przez enzymy roślinne lub pochodzące z mikroorganizmów.

Do tej pory nie ma dostępnych danych literaturowych wskazujących, że obecność toksyn owadobójczych wpływa negatywnie na organizmy glebowe. Mogą one kontrolować liczbę szkodliwych owadów lub selekcjonować owady szkodliwe wykazujące odporność na te toksyny. Receptory toksyn występują u owadów szkodliwych jak i pożytecznych, tak więc istnieje ryzyko negatywnego wpływu toksyn na owady pożyteczne oraz organizmy wyższych poziomów troficznych. Dalsze badania pozwolą wyjaśnić realność zagrożeń i wątpliwości.

TRANSGENIC *Bt* CROPS AND PESTICIDES – THE IMPACT ON ENVIRONMENT AND HEALTH

## S u m m a r y

Insect pests are a major cause of damage of the world's commercially important agricultural crops. Current strategies aimed at reducing crop losses rely primarily on pesticides. One of the commonly used organic zoocides is rotenone. It is used in gardens for both insect control and fish eradication as part of water management. Chronic exposure to rotenone can be toxic to animals and people. It has been shown that rotenone can induce the major symptoms resembling the Parkinson's disease. The scale of both the economic and environmental costs of insect control in agriculture is high. On the other hand, transgenic crops with intrinsic pest resistance offer a promising alter-

native. The first generation of insect-resistant transgenic plants was based on insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*. *Bt* toxins are part of a large and still growing family of proteins showing insecticidal properties. More than ten *cry* genes have been transformed into different crops. Plants expressing *Bt* toxins were among the first biotechnology products to be approved for commercial use. However, the picture is not altogether positive – there is ecological concern of releasing transgenic *Bt* plants. Are there any unforeseen effects of the toxin on organisms that are not pests of the crop itself? The issue is discussed in the article.

## LITERATURA

- AUGUSTIN-BECKERS P. W. N., HORNBY A. G., WAUCHOPE R. D., 1994. *Pesticide properties database for environmental decisionmaking II. Additional compounds*. Rev. Env. Cont. Tox. 2, 137–181.
- BETARBET R., SHERER T. B., MACKENZIE G., GARCIA-OSUNA M., PANOV A. V., GREENAMYRE T. J., 2000. *Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease*. Nat. Neurosci. 12, 1301–1306.
- BOUCHIE A. J., 2000. *Bt corn kills monarch?* Nature Biotechnol. 18, 1025.
- CHENG X., SARDANA R., KAPLAN H., ALTOSAAR I., 1998. *Agrobacterium transformed rice plants expressing synthetic cryIA(b) and cryIA(c) genes are highly toxic to striped stem borer and yellow stem borer*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 17, 2767–2772.
- CRICKMORE N., ZEIGLER D. R., FEITELSON J., SCHNEPF E., LERECCLUS D., BAUM J., DEAN D. H., 1998. *Revision of the nomenclature for the Bacillus thuringiensis pesticidal crystal proteins*. Microb. Mol. Biol. Rev. 62, 807–813.

- DAVIS M. J., 2001. *No threat to the Monarchy*. Trends Biotechnol. 18, 41.
- GILES K. L., HELLMICH R. L., IVERSON C. T., LEWIS L. C., 2000. *Effects of transgenic Bacillus thuringiensis maize grain on B. thuringiensis susceptible Plo-dia interpunctela (Lepidoptera : Pyralidae)*. J. Econ. Entomol. 93, 1011-1016.
- GOULD F., 2000. *Testing Bt refuge strategies in the field*. Nature Biotechnol. 18, 266-342.
- GRIMSLEY N., HOHN T., DAVIES J. W., HOHN B., 1987. *Agro-bacterium-mediated delivery of infectious maize strea virus into maize plants*. Nature 325, 177-179.
- HAILS R. S., 2000. *Genetically modified plants-the de-bate continues*. Trends Plant Sci. 15, 14-18.
- LAWS E. R., HAYES W. I., 1991. *Handbook of Pesticide Toxicology*. Academic Press, NY.
- LOSEY J. E., RAYOR L. S. CARTER M. E., 1999. *Transgenic pollen harms monarch larvae*. Nature 399, 214.
- NAYAK P., BASU D., DAS S., BASU A., GHOSH D., RAMAKRISHNAN N. A., GHOSH M., SEN S. K., 1997. *Transgenic elite indica rice plants expressing Cry-IAc delta-endotoxin of Bacillus thuringiensis are resistant against yellow stem borer (Scirpophaga incertulas)*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94, 11-16.
- RUUD A. DE MAAGD, BOSCH D., STIEKEMA., 1999. *Bacillus thuringiensis toxin-mediated insect resistance in plants*. Trends in Plant Sci. 4, 9-13.
- SAXENA D., FLOREST S., STOTZKY G., 1999. *Insecticidal toxin in root exudates from Bt corn*. Nature 402, 480.
- SCHULER T. H., POPPY G. M., KERRY B. R., DENHOLM I., 1998. *Insect-resistance transgenic plants*. TIBTECH 16, 168-175.
- SEARS M. K., HELLMICH R. L., STANLEY-HORN D. E., OBERHAUSER K. S., PLEASANT J. M., MATTILA H. R., SIEGFRIED B. D., DIVELY G. P., 2001. *Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations: A risk assessment*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98, 11937-11942.
- SINGSIT C., ADANG M. J., LYNCH R. E., ANDERSON W. F. WANG A., CARDINEAU G., OZIAS-AKINS P., 1997. *Expression of Bacillus thuringiensis cry1A(c) gene in transgenic peanut plants and its efficacy against lesser cornstalk borer*. Transgenic Res. 6, 169-176.
- WĘGLEŃSKI P., 1995. *Genetyka Molekularna*. PWN, Warszawa.
- WRAIGHT C. L., ZANGERI A. R., CARROLL, M. J., BERENBAUM M. R., 2000. *Absence of toxicity of Bacillus thuringiensis pollen to black swallowtails under field conditions*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97, 7700-7701.
- XIANG Y., WONG W. K. R., MA M. C., WONG R. S.C., 2000. *Agrobacterium-mediated transformation of Bras-sica campestris ssp. Parachinensis with synthetic Bacillus thuringiensis cry1Ab and cry1Ac genes*. Plant Cell Rep. 19, 251-256.