

GIDA AMACIYLA İTHALİ İSTENEN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ MISIR ÇEŞİDİ (1507 x 59122) ve ÜRÜNLERİ İÇİN BİLİMSEL RİSK DEĞERLENDİRME RAPORU

1. RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ VE DAYANAKLARI

Bu rapor, Coleoptera takımına (Cry34Ab1, Cry35Ab1) ve Lepidoptera takımına bağlı bazı zararlı türlere (Cry1F) dayanıklılık ve glufosinat amonyum'a (PAT) toleransın sağlanması amacı ile genetiği değiştirilmiş mısır çeşidinin gıda amaçlı ithalatı için, 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ile 13.08.2010 tarih ve 27671 sayılı "Genetik Yapısı Değiştirilmiş Organizmalar ve Ürünlerine Dair Yönetmelik" uyarınca Biyogüvenlik Kurulu'nun 03.03.2011 tarih ve 6 no'lu kararı ile oluşturulan ve bu karar doğrultusunda görevlendirilen "Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi" tarafından hazırlanmıştır.

Rapor, çeşitle ilgili başvuru sahibi ithalatçı firmalar tarafından sunulan belgeler, risk değerlendirmesi yapan muhtelif kuruluşların (EFSA, JRC/CRL-GMFF, WHO, FAO, FDA ve Japonya Çevre Bakanlığı) görüşleri ve bilimsel araştırmaların sonuçlarını içeren makaleler ile farklı ülkelerde kullanım durumları göz önünde bulundurularak hazırlanmıştır. Çeşidin gıda olarak üretim ve tüketiminden kaynaklanan risk değerlendirmesi, gen aktarım yöntemi, aktarılan genlerin ve ürünlerinin moleküler düzeyde tanımlanması, muhtemel alerjik ve toksik etkileri ile çevreye olası riskleri dikkate alınarak yapılmıştır.

Rapordaki bilgiler; ithalatçı kuruluş, ithal edilmek istenen çeşit ve ürünleri ve çeşidi geliştiren kuruluş, çeşidin geliştirilme amacı ve üretimi, risk analizi ve değerlendirmesi, genel sonuç ve öneriler ve risk yönetimi başlıkları altında verilmiştir.

2. İTHALATÇI KURULUŞ

- Türkiye Gıda ve İçecek Dernekleri Federasyonu İktisadi İşletmesi

3. İTHAL EDİLMEK İSTENEN ÇEŞİT VE ÜRÜNLERİ

1507 x 59122; glufosinat amonyum'a toleranslı ve *Bacillus thuringiensis* var. *aizawa*'ye ait *cry1F* ve *B. thuringiensis* PS149B1'e ait *cry34Ab1*, *cry35Ab1* genlerinin ürettiği toksinlerin Lepidoptera ve Coleoptera takımlarında yer alan zararlı hedef türlere dayanıklı olarak tanımlanan melez mısır çeşidi.

4. ÇEŞİDİ GELİŞTİREN KURULUŞ

Pioneer Overseas Corporation Avenue des Arts 44B-1040 Brussels – BELGIUM
On behalf of Pioneer Hi-Bred International, Inc.7100 NW 62nd Avenue – P.O. Box 1014
Johnston, IA 50131–1014 – USA

5. ÇEŞİDİN GELİŞTİRİLME AMACI VE ÜRETİMİ

Pioneer firması, 1507 x 59122 mısır çeşidini glifosinat amonyum'a toleranslı ve Lepidoptera ve Coleoptera takımlarında yer alan zararlı hedef türlere dayanıklılık amacıyla geliştirmiştir.

6. RİSK ANALİZİ VE DEĞERLENDİRMESİ

1507 x 59122 mısır çeşidine ve bundan üretilen gıda ürünlerine ait bilimsel risk analiz ve değerlendirmesi; bu çeşidin geliştirilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi, aktarılan genlerin ve ürünlerinin moleküler düzeyde tanımlanması, çeşidin muhtemel alerjik ve toksik etkileri ile çevre ve biyolojik çeşitlilik üzerine olası riskleri dikkate alınarak yapılmıştır. Bu

çeşitle ilgili bilimsel risk değerlendirmesi yapılırken, çeşitle ilgili ithalatçı firma(lar) tarafından sunulan dosyadaki belgeler, risk değerlendirmesi yapan kuruluşların (EFSA, JRC/CRL-GMFF, WHO, FAO, FDA ve Japonya Çevre Bakanlığı) görüşleri ve bilimsel araştırmaların sonuçlarını içeren makaleler (alerjik ve toksik etki analizleri, genetik modifikasyonun stabilitesi, hedef dışı organizmalara etkisi vb.) ile farklı ülkelerde kullanım durumları göz önünde bulundurulmuştur. Bu genetiği değiştirilmiş çeşitle yapılan hayvan besleme çalışmaları incelenerek, gıda olarak kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler değerlendirilmiştir. Ayrıca, bu çeşide ait tohumların istem dışı doğaya yayılması halinde ortaya çıkabilecek tarımsal ve çevresel riskler de dikkate alınmıştır.

6.1. Moleküler Genetik Yapının Tanımlanması ve Değerlendirilmesi

6.1.1. Aktarılan genleri taşıyan vektörlerin yapısı ve gen aktarım yöntemi

1507 x 59122 çeşidinde Çizelge 1’de belirtilen genetik elementler bulunmaktadır. Gen aktarımı amacıyla 59122 çeşidinde PHP17662 ve 1507 çeşidinde ise PHP8999 plazmitleri kullanılmıştır (EFSA 2009a).

Çizelge 1. 1507 x 59122 çeşidine aktarılan genler ve kaynakları.

Aktarılan genler (1507):	
<i>cry1F</i>	Kaynak: <i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i>
<i>pat</i>	Kaynak: <i>Streptomyces viridochromogenes</i>
Aktarılan genler (59122):	
<i>pat</i>	Kaynak: <i>Streptomyces viridochromogenes</i>
<i>cry34Ab1, cry35Ab1</i>	Kaynak: <i>B. thuringiensis</i> ssp. <i>kumamotoensis</i>

Bu çeşidin geliştirilmesinde Coleoptera takımında yer alan bazı zararlı türlere (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, *Diabrotica barberi* Smith & Lawrence, *Diabrotica undecimpunctata howardi* Barber) dayanıklılık sağlayacak Cry34Ab1 ve Cry35Ab1 proteinleri ve glifosinat amonyuma tolerans sağlayacak PAT proteinini üreten 59122 çeşit ile Lepidoptera takımına bağlı zararlı türlere (örn. *Ostrinia nubilalis*, *Sesamia* spp.) dayanıklılık sağlayacak Cry1F proteinini ve glufosinat amonyuma tolerans sağlayacak PAT proteinini ifade eden 1507 çeşidi kullanılmıştır.

1507 x 59122 transgenik genler içeren melez çeşit; *Agrobacterium tumefaciens* yöntemiyle gen aktarılan 59122 (Coleoptera takımına bağlı zararlılara dayanıklı, glifosinat amonyuma toleranslı) ve partikül bombardımanı yöntemiyle gen aktarılmış 1507’ün (Lepidoptera takımına bağlı zararlılara dayanıklı, glufosinat amonyuma toleranslı) klasik yöntemle melezlenmesi ile elde edilmiştir.

6.1.2. Aktarılan genlerin moleküler yapısı, anlatımı ve stabilitesi

Bu melez çeşit, daha önce elde edilen iki transgenik çeşidin (1507 ve 59122) klasik olarak melezlenmesinden elde edilmiş olup, herhangi bir genetik değişiklik yapılmamıştır. Bu nedenle, anaçların genetik yapısı melez çeşidin genetik yapısını oluşturmaktadır.

Yapılan moleküler analizler 1507 mısır çeşidinin tek kopya DNA parçası taşıdığını göstermektedir ve çekirdek genomunda tek lokusta bir kopya içerdiği belirtilmiştir. Aktarılan genin yapısı Southern blot analizi ve DNA analizi kullanılarak bulunmuştur. Biyoenformatik analizler, bilinen toksin ve alerjenlerle dizi benzerliğine sahip yeni aday protein olmadığını göstermektedir. Northern analizi ve RT-PCR sonuçları *cry1F* ve *pat* genleri dışında yeni mRNA transkripsiyonu olmadığını göstermektedir. Aktarılan genlerin her iki ucunda uzanan DNA dizilerinin mısır genomik DNA’sına ait olduğu belirtilmektedir. Southern blot analizi ve

fenotipin korunması transgenik hattın ve döllerinin birçok nesil boyunca genetik ve fenotipik kararlılığını koruduğunu göstermektedir (EFSA 2009a). 59122 mısır çeşidinin moleküler karakterizasyonu tek kopya T-DNA içerdiğini göstermektedir. Aktarılan genin yapısı Southern blot ve DNA dizi analizi ile incelenmiş ve vektör iskeleti bulunmadığı tespit edilmiştir. BLAST dizi analizi, aktarılan genin her iki ucunda uzanan DNA dizilerinin mısır genomik DNA'sına ait olduğu belirtmektedir. BLASTn ve BLASTx analizleri DNA'nın pentatricopeptid tekrar proteininin kodlama bölgesinin 1032 baz çifti aşağısına yerleştiğini göstermiştir. Bu protein tohum gelişiminde önemlidir. 59122 çeşidinde tohum gelişimi etkilenmediği için bu proteinin ifadesinin değişmediği öne sürülmektedir. Biyoenformatik analizler, bilinen toksin ve alerjenlerle dizi benzerliği olmadığını göstermektedir. Southern blot analizi ve fenotipin korunması transgenik hattın ve döllerinin dört nesil boyunca genetik ve fenotipik kararlılığını koruduğunu göstermektedir (EFSA 2009a). Her iki çeşidin klasik yöntemle melezlenmesi sonucu elde edilen 1507 x 59122 mısır çeşidinde yapılan Southern blot dizi analizleri hibrit çeşide yeni bir genetik modifikasyon eklenmediğini ve aktarılan genlerin bütün olarak bulunduğunu belirtmektedir (EFSA 2009a). 1507 x 59122 çeşidinde Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F ve PAT proteinlerinin ifade seviyeleri tohumda analiz edilmiştir ve anaçları ile kıyaslandığında bu proteinlerin ifade seviyelerinin karşılaştırılabilir olduğu belirtilmiştir (EFSA 2009a).

Yabancı bir DNA'nın, aktarıldığı organizmaya kendi DNA'sı gibi entegre olup stabil bir biçimde etkinliğini sürdürebilmesi tartışmalı bir konudur. Transgenlerin stabil olmadıklarına ilişkin doğrudan ve dolaylı kanıtlar ileri sürülmekte ve bunlardan elde edilen çeşitlerin gerçek ıslah çeşitleri olmadıkları vurgulanmaktadır (Pawloski ve Somers 1996). Transgenik bitkinin döllerinde, rekombinant DNA'nın stabilitesi ile ilgili olarak; moleküler yapıya, aktarılan genin genomdaki yerine ve aktarımdan sonra genlerin yeniden düzenlenmesine ilişkin bilgilerin yetersiz olması, bu konuda belirsizlik yaratmaktadır. Aktarılan genler, transgenik bitkinin gelecek kuşaklarında ilgili genin protein sentezini durdurabilmekte ya da gen tümüyle kaybolabilmektedir (Srivastava ve Anderson 1999). *Arabidopsis*'e vektör aracılığı ile aktarılan ve herbisit toleransı sağlayan genlerin ileri kuşaklarda kaybolma olasılığının, aynı genin mutagenез ile elde edilenine oranla, 30 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir (Bergelson ve ark. 1998). Transgenik bitkilerde stabilite; bitkinin fizyolojik durumuna, ışık kalitesine, su ve besin maddelerinin durumuna, sıcaklık, hastalık, zararlılar gibi stres faktörlerine bağlı olarak değişim gösterebilmektedir (Craig ve ark. 2008).

6.2. Kimyasal Bileşim ve Tarımsal Özelliklerin Değerlendirilmesi

1507 x 59122 melez mısır çeşidinin elde edilme amacı temelde tarımsal performansın artırılmasıdır. Tarımsal verimlilik artırılırken melez mısırın gıda amaçlı kullanım özelliklerinin değiştirilmesi amaçlanmamıştır. Kimyasal kompozisyon ve tarımsal özelliklerin risk analizi bu mantık üzerinden yapılmıştır. 1507 mısır çeşidi genetik yapısı benzer olan klasik yöntemle elde edilmiş transgenik olmayan kontrol ile üç sezon boyunca farklı bölgelerde (Şili'de 6 lokasyonda (1998-1999), Fransa ve İtalya'da 3 lokasyonda (1999), Fransa, İtalya ve Bulgaristan'da 6 lokasyonda (2000)) ekim yapılmıştır. Şili'de yapılan denemelerde, Cry1F ve PAT proteinlerinin varlığı dışında klasik kontrol ile içerik olarak aynı olduğu belirtilmiştir. Buna ek olarak, farklı alanlarda (1999 yılında ABD'de, 2000 yılında Fransa, İtalya ve Bulgaristan'da, 2002 yılında ise İspanya'da) yapılan denemelerde tarımsal özellik ve performans açısından bir farklılık olmadığı belirtilmektedir (EFSA 2009a).

59122 mısır çeşidi genetik yapısı benzer olan klasik tür ile farklı lokasyonlarda (Şili'de 6 lokasyon (2002-2003), ABD'de 3 lokasyon (2003), Kanada'da 2 lokasyon (2003), Bulgaristan'da 3 lokasyon (2003 ve 2004), ve İspanya'da 3 lokasyonda (2004)) deneme yapılmıştır. Farklı mevsimlerde yapılan tarla denemelerinden elde edilen verilere göre glifosinat içeren herbisit uygulaması yapılmış ve yapılmamış bitkiler ve transgenik olmayan

çeşitler arasında, 59122 çeşidindeki Cry1F ve PAT proteinlerinin varlığı dışında içerik açısından bir farklılık olmadığı belirtilmiştir (EFSA 2009a).

Buna ek olarak, farklı mevsimlerde farklı alanlarda yapılan tarla denemelerinde (Şili'de 6 (2002-2003), ABD'de 3 (2003), Kanada'da 2 (2003), Bulgaristan'da 3 (2003), İspanya'da 3 (2004), ve Bulgaristan'da 3 lokasyonda (2004)) tarımsal özellikler ve performans açısından da bir farklılık tespit edilmediği belirtilmiştir (EFSA 2009a).

6.2.1. Kimyasal bileşim

Bileşim analizi için 2003 yılında Kuzey Amerika'da yapılan tarla denemelerinde 1507 x 59122 mısır çeşidi genetik yapısı benzer klasik yöntemlerle elde edilen çeşit ile karşılaştırılmıştır. Hem bireysel hem de birleşik alan denemelerinde elde edilen mısır materyalindeki veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve bileşimlerin seçimi OECD (2002) tavsiyelerine göre yapılmıştır.

1507 x 59122 mısır çeşidinin bileşim analizinde tanelerde protein, kül, nem, karbonhidrat, nişasta, yağ asitleri (palmitik, stearik, oleik, linoleik, linolenik asit), amino asitler (18 amino asit, aromatik amino asitler), mineraller (kalsiyum, bakır, demir, mangan, magnezyum, potasyum, fosfor, sodyum, selenyum ve çinko), vitaminler (B1, B2, β-karoten, niasin ve folik asit), vitamin öncülleri, fitik asit, rafinoz, tripsin inhibitörü, ve diğer bileşenler (inositol, furfural, ferulik asit, p-kumarik asit) literatürde ticari mısır için belirtilen sınırlarla karşılaştırılmıştır (ILSI 2006; OECD 2002). 1507 x 59122 mısır çeşidi ile kontrolü karşılaştırıldığında, yeşil kısımların analizinde anlamlı bir değişikliğe rastlanmadığı, elde edilen verilerin literatürdeki ticari mısır sınırlarının içinde olduğu belirtilmiştir. Glifosinat içeren herbisit uygulanmış ve uygulanmamış 1507 x 59122 mısır çeşidi ile kontrolünün tanelerinin bileşim analizinde kül, demir, potasyum, p-kumarik asit içeriklerinde istatistiksel olarak anlamlı değişikliğe rastlandığı belirtilmiştir. Ancak, bu değişiklik her lokasyonda belirlenmemiştir. Buna ek olarak değerleri kontrolden farklı olan bu maddelerin seviyelerinin ticari mısır çeşitleri için belirtilen değerlerin sınırları içinde olduğu bildirilmiştir (EFSA 2009a).

Avrupa'nın farklı mısır yetiştirme bölgelerinde ekolojik lokasyonlarda 2004 yılında diğer bir transgenik melez mısır çeşidi 59122 x 1507 x NK603 ile yapılan tarla denemelerinde yemlik ve gıda ile ilgili özellikler ve tane ile ilgili veriler üzerinden, OECD (2002)'nin önerilerine uyumlu olarak, bileşim analizleri yapılmıştır. 59122 x 1507 x NK603 kontrol olarak kullanılan genetiği değiştirilmemiş ticari mısır çeşidi ile karşılaştırılmıştır. Bu karşılaştırmalar; yağ, protein, kül, nem, toplam karbonhidrat ve lif özellikleri; palmitik, stearik, oleik, linoleik yağ asitleri; amino asitler; kalsiyum, bakır, demir, magnezyum, manganez, fosfor, potasyum, sodyum, selenyum ve çinko gibi mineraller; E, B1, B2, folik asit, β-karoten gibi vitaminler ile fitik asit, rafinoz, tripsin inhibitör, inositol, furfural, p-kumarik asit, ferulik asit gibi parametreler üzerinden yapılmıştır. 59122 x 1507 x NK603 ile kontrol olarak kullanılan genetiği değiştirilmemiş ticari mısır çeşidi arasında söz konusu parametreler bakımından, herbisit uygulama rejimlerine bağlı olarak lokasyonlar arasında önemli farklılıklar saptanmıştır. Buna karşılık, her bir lokasyonda genetiği değiştirilmiş üçlü melez mısır çeşidi parametreleri ile genetiği değiştirilmemiş ticari mısır çeşidi parametreleri arasında farklılıklar gözlenmemiştir (OECD 2003; ILSI 2006). Genetik yapısı değiştirilmiş üçlü melez 59122 x 1507 x NK603'ün besin değerlerinin klasik melez mısırın besin değerlerinden farklı olmadığı rapor edilmiştir (EFSA 2009b).

Diğer bir transgenik melez mısır çeşidi olan MON 88017 x MON 810 ile yapılan çalışmalarda silaj ve tanelerine ilişkin kimyasal analizler, 2002 yılında ABD'de deneme tarlalarında yetiştirilen materyal üzerinde yapılmıştır. Sonuçlar, klasik olarak geliştirilmiş ve aktarılan genler dışında genetik temeli melez mısır ile benzer olan kontrol çeşitleri ile karşılaştırılmıştır (OECD 2002; EFSA 2009c). Silaj örneklerinde yağ, protein, kül, nem, toplam karbonhidrat, asit deterjan lifi, nötr deterjan lifi, fosfor ve kalsiyum; tane örneklerinde

ise, asit deterjan lifi, nötr deterjan lifi, toplam diyet lifi, amino asit, yağ asidi, mineraller (kalsiyum, demir, bakır, magnezyum, manganez, fosfor, potasyum, sodyum ve çinko) gibi maddeler analiz edilmiştir. Melez mısır ve kontrol çeşitlerinde, tüm lokasyonlardan elde edilen veriler analiz edilip sonuçları karşılaştırıldığında, silaj ve taneler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır. Kontrol çeşidi ile karşılaştırıldığında MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidinin tanelerinde, alanin, linoleik asit, araşidik asit ve ferulik asitte önemli artışlar; eikosanoik asit, bakır, potasyum ve B2 vitamininde ise önemli azalmalar belirlenmiştir (EFSA 2009c). Bitki genomlarına yeni bir genetik materyal aktarıldığında, aktarılan bölgedeki değişiklik nedeniyle bitkinin fenotipinde ya da kimyasal yapısında beklenmeyen değişiklikler görülebilmektedir (Cellini ve ark. 2004; Latham ve ark. 2006; Rischer ve Oksman-Caldentey 2006). MON 88017 x MON 810 melez mısır çeşidi, silaj ve tane olarak içerdikleri kimyasal maddeler bakımından anaçları ile karşılaştırıldıklarında da, artışlar ya da azalışlar şeklinde istatistiksel olarak önemli farklılıklar belirlenmiştir (EFSA 2009c).

6.2.2. Tarımsal özellikler

1507 x 59122 çeşidinde tane verimi, çimlenen bitki sayısı, koçan uzunluğu, bitki uzunluğu, erken populasyon, son populasyon sayımı gibi tarımsal özellikler incelenmiş ve bazı tarla deneme alanlarında erken ve son populasyon sayımı ve bitki uzunluğu gibi bazı özellikler açısından ilgili transgenik olmayan kontrol çeşide göre anlamlı değişiklik içerdiği belirlendiği ancak bu değişikliklere deneme yapılan bütün alanlarda rastlanmadığı bildirilmiştir (EFSA 2009a).

6.3. Toksikite Değerlendirmesi

Toksikolojik yönden yapılan değerlendirmeler sonucunda 1507, 59122 anaçları ile 1507 x 59122 melez çeşidi arasında önemli farklar bulunmadığı gösterilmiştir. 1507 x 59122 mısır çeşidinde Cry1F, CryRY34Ab1, Cry35Ab1 ve PAT proteinleri dışında yeni mısır bileşiminde kayda değer değişim saptanmadığı bildirilmiştir (EFSA 2009a). 1507 x 59122 mısır çeşidinin sıçan üzerinde yapılan 90 günlük besleme denemesi sonucunda, 1507 x 59122 çeşidi ile beslenen ve transgenik olmayan çeşit ile beslenen sıçanlar arasında bazı parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu belirtilmiştir. Eritrosit ve hematokrit değerleri 1507 x 59122 çeşidi ile beslenen dişi sıçanlarda daha yüksek iken ortalama hücre hemoglobinin daha düşük olduğu bildirilmiştir. Serumda klor ve sodyum derişimlerinin de 1507 x 59122 mısır çeşidi ile beslenen sıçanlarda transgenik olmayan kontrol çeşit ile beslenen dişi sıçanlara göre daha düşük olduğu belirtilmiştir (EFSA 2009a). Yapılan toksikolojik analizler sonucunda test grupları arasında herhangi bir sorun saptanmadığından deney hayvanları ile ilave çalışmalara gerek görülmediği belirtilmiştir. Anaç 59122 mısır çeşidinde ifade edilen Cry34Ab1, Cry35Ab1 ve PAT proteinleri sorun oluşturu bir unsur olarak değerlendirilmemektedir (EFSA, 2004a; 2005a,b; 2007b).

MacKenzie ve ark. (2007) 1507 mısır çeşidini kullanarak Sprague–Dawley sıçanlarında 90 günlük besleme çalışması yapmışlardır. Uygulama gruplarının hiçbirinde besin performans değişkenleri klinik ve sinirsel davranış bulguları, oftalmoloji, klinik patoloji (hematoloji, klinik kimya, koagülasyon ve idrar analizi), organ ağırlıkları, makroskobik ve mikroskobik patoloji bulgularında anlamlı farklılıklar bulunmadığı belirtilmektedir. Malley ve ark. (2007), kontrol grupları ile karşılaştırıldığında sıçanlar 59122 mısır çeşidi ile beslendiğinde vücut ağırlığı, mortalite, oftalmoloji, klinik olarak toksisite bulguları, sinirsel davranış bulguları, klinik patoloji bulgularında beslenmeye bağlı farklılıklar bulunmadığını belirtmişlerdir.

Söz edilen çalışmalarda 1507 ve 59122 mısır çeşidinin tohumları klasik (transgenik olmayan) mısır çeşitlerinin tohumları ile aynı besin değerinde ve güvenli olduğu

belirtilmektedir (MacKenzie ve ark. 2007; Malley ve ark. 2007). Sprague–Dawley sıçanlarında, Appenzeller ve ark. (2009) 1507 x 59122 mısır çeşidini, yakın izogenik kontrolü (091) ile karşılaştırarak uzun süreli (92 gün) besleme çalışması yapmışlardır. Çalışmanın sonucunda 091 mısır çeşidi ile 1507 x 59122 uygulama grubu arasında besin performans değişkenleri, klinik ve sinirsel davranış bulguları, oftalmoloji, klinik patoloji (hematoloji, klinik kimya, koagülasyon ve idrar analizi), organ ağırlıkları, makroskobik ve mikroskobik patoloji bulgularında anlamlı farklılıklar bulunmadığı belirtilmiştir.

Genetik yapısı değiştirilmiş mısır çeşidi 59122 ve genetik yapısı değiştirilmemiş eşdeğer mısır çeşidi ile sıçanlarda yapılan 90 gün süreli besleme çalışması sonucunda, belirli hematoloji ve serum kimyası değişkenlerinde önemli farklılıklar gözlenmiştir. Ancak, araştırmacılar böyle bir sonucun diyetle yoğun ve kaynağı belirsiz mısır unu kullanılması olmasından kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir (He ve ark. 2008, 2009).

ABD'de yapılan bir araştırmada, kök kurduna dayanıklılığı sağlayan *cry3Bb1* genini içeren transgenik mısır çeşidi ile sıçanlara 90 günlük besleme testi uygulanmıştır. 400 sıçan cinsiyetlerine göre ayrılarak klasik mısır ile beslenenlerle karşılaştırmalı olarak deneme yürütülmüştür. Parametre olarak, genel sağlık, ağırlık kazanımı, gıda tüketimi, klinik patoloji özellikleri (hematoloji, kan kimyası vb.), organ ağırlıkları ve dokuların mikroskobik görünüşleri gibi verilerden yararlanılmıştır. Araştırma sonucunda, transgenik mısır çeşidinin, besleyiciliği ve güvenliği bakımından, klasik mısır çeşitleri ile benzer olduğu vurgulanmıştır (Hammond ve ark. 2006).

Fransa'da yapılan bir araştırmada ise, *cry3Bb1* geni aktarılmış, kök kurduna dayanıklı genetik yapısı değiştirilmiş mısır çeşidi ve klasik mısır çeşidinden oluşan kontrol çeşidi ile beslenen sıçanlara 90 günlük besleme denemesi yapılmıştır. Karaciğer, böbrek, pankreas ve beyin gibi organlarda hepatorenal toksisite parametreleri ve vücut ağırlıkları cinsiyetlere göre iki grup halinde irdelenmiştir. Veriler cinsiyete göre önemli farklılık göstermiştir. Trigliserit değerlerinin dişilerde % 24-40 oranında arttığı; erkeklerin ise böbreklerinde idrar fosfor ve sodyum değerlerinin % 31-35 oranında azaldığı belirlenmiştir. Araştırmacılar çalışmalarının sonunda, inceledikleri transgenik mısır çeşidinin güvenli bir ürün olmadığını vurgulamışlardır (Seralini ve ark. 2007).

Farelerde üç temel transgenik mısır çeşidi (NK 603, MON 810 ve MON 863) ile yapılan karşılaştırmalı besleme denemelerinde kan ve organlara ilişkin veriler değerlendirilmiştir. NK 603, glifosata toleranslıdır. MON 810 ve MON 863 ise, iki farklı Bt toksini sentezlemek üzere geliştirilmiştir. ABD'de, 2 farklı laboratuvarında ve 2 farklı tarihte 3 besleme denemesi yapılmıştır. Genetik yapısı değiştirilmiş her mısır için 400 ve her eşey için 200 sıçan rastgele vücut ağırlıklarına göre rastgele seçilmiştir. Ayrıca, genetik yapısı değiştirilmemiş yakın izogenik ya da anaç eşdeğer mısır çeşidi kontrol olarak kullanılmış ve bu diyetle sıçan grupları beslenmiştir. Beş ve 14 hafta sonra serum ve idrarda yaklaşık 80 farklı biyokimyasal ve ağırlık parametreleri değerlendirilmiştir. Deneme sonunda bezler, gonadlar, kalp, böbrek, karaciğer ve dalak ile birlikte tüm vücut tartılmıştır. Ayrıca, kemik iliği (kan hücreleri) ve pankreas (glukoz) fonksiyonları da değerlendirilmiştir. Genetik yapısı değiştirilmiş mısırlarla yapılan besleme denemelerine bağlı olarak yan etkiler belirlenmiştir. Yan etkiler özellikle karaciğer (albuminde %7 ve albumin/globulin oranında ise %10 azalma) ve böbrek (idrar kreatininde %42, potasyumda ise %13 artma) gibi toksisite ile doğrudan ilgili organlarda belirlenmiştir. Bunların dışında, kalp, adrenal salgı bezleri, dalak ve hematolojik sistemde de bazı önemli etkiler görülmüştür. Araştırma sonunda, karaciğer ve böbreğe yönelik (hepatorenal) toksisitenin, genetik yapısı değiştirilmiş mısırlardaki glifosata ve böceklerle dayanıklılığı sağlayan genlerden (CP4 epsps, cry1Ab ve cry3Bb1) kaynaklandığı vurgulanmıştır (de Vendomois ve ark. 2009).

Genetik yapısı değiştirilmiş mısırla yapılan 90 günlük besleme denemesi sonucunda ortaya çıkan yan etkilerin toksisitenin işareti olduğu açıklanmıştır. Ayrıca, genetik yapısı

değiştirilmiş mısırla besleme sonucunda subkronik ya da kronik biyolojik etkilerin ortaya çıkışının nedeni olarak ya memeli beslenmesindeki bu yeni rejim ya da mutagenез gösterilmiştir (Seralini ve ark. 2009).

Genetik yapısı değiştirilmiş mısır NK603 ile beslenen sıçanların genel sağlık, organ ağırlıkları, gıda tüketimi, dokuların mikroskopik görünümü açısından genetik yapısı değiştirilmemiş klasik mısır ile beslenen sıçanlardan farksız olduğu belirlenmiştir. Makroskopik ve mikroskopik incelemeler genetik yapısı değiştirilmiş mısır NK603'ün ticari klasik melez mısır kadar güvenli ve besleyici olduğu gösterilmiştir (Hammond ve ark. 2004).

PAT proteini ile ilgili olarak toksikoloji çalışmalarında ters bir etkiye rastlanmadığından 1507 x 59122 çeşidindeki artan PAT ifadesinin insan ve hayvan sağlığına bir etkisi olmayacağı belirtilmektedir (EFSA 2009a). Genetiği değiştirilmiş ürünlerle beslenen hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalara ait bazı araştırma verileri Çizelge 2 de verilmiştir.

Dona ve Arvanitoyannis (2009) tarafından yapılan çalışmada GD gıdalar ile ilgili yapılan pek çok çalışmadan elde edilen sonuçların aslında bu gıdaların bazı belirli toksik etkilere sebep olduğunu ortaya koymaktadır. "GD gıda güvenliği değerlendirmesini" ilgilendiren temel konulardan birinin bu gıdaların bazı potansiyel toksik etkileri olduğuna dair hiçbir şüphe bulunmamaktadır. Bu durum ise genetik modifikasyonun istenmeyen etkilerini tetikleyebilmektedir (Tyshko ve ark. 2007, 2008). GD gıdaların mutagenез ve karsinogenezi ne şekilde etkilediğini belirlemek için benzer testlerin yapılması gerekmektedir. Her ne kadar devam etmekte olan yoğun bilimsel çalışmalar GDO'nun insanlar, hayvanlar ve çevre üzerindeki olası etkilerini anlamak ve öngörmek yönünde sürdürülse de, oldukça uzun yıllar alabilecek son derece dikkatli ve bağımsız çalışmaların hayvanlar ve klinik alanlarda yürütülmesi bu keşfin tamamlanması için gerekmektedir. GDO'lu gıda ve yemlerin hayvanlar ve insanlar üzerindeki olası zararları arasında pleiotropik ve gen eklemesinden, anti-besleme artışından, bitkilerde viral DNA'nın kullanımından, mide barsak sistemindeki bakterilere direnç gösteren antibiyotik direnç genlerinin transferinden, ve GD gıdaların alerjik yanıtlar üzerindeki olası etkilerinden kaynaklanan ciddi sorunlar yer almaktadır.

6.4. Alerjenite Değerlendirmesi

1507 x 59122 mısır çeşidindeki proteinler daha önce analiz edilmiş ve alerjik olmasının olası olduğu belirtilmiştir (EFSA 2004a; 2005a,b; 2007b). İfade edilen proteinlerin alerjenik özelliğini değiştirecek potansiyel etkileşimlerin meydana gelme olasılığının bulunmadığı belirlenmiştir. Bu nedenle, alerjenik olduğu bilinmeyen herhangi bir endojen proteinin aşırı üretiminin, bitkinin alerjenik özelliği veya tüketicinin alerji riski üzerinde etkisi olmayacağı belirtilmektedir (EFSA 2009a). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda onaylanan genetiği değiştirilmiş gıdalarda genetiği değiştirilmemişlere göre alerjenik özelliğinin arttığına dair deneysel kanıt bulunmadığı belirtilmektedir (Batista ve Oliveira 2009).

Rekombinant proteinler, kaynağı ve yapısına bağlı olarak değişmekle birlikte, genellikle potansiyel alerjenler olarak değerlendirilmektedir. Her yeni gıda için ayrı değerlendirme yapılmalıdır. Diğer bir genetik yapısı değiştirilmiş melez mısır çeşidi MON 88017 x MON 810 üç yeni gen (CP4 *epsps*, *cry1Ab* ve *cry3Bb1*) içermekte olup, yapılan analizler sonucunda bu genlerin alerji ile ilgili olarak herhangi bir sorun oluşturmadıkları ifade edilmektedir (EFSA 2009a).

Çizelge 2. Genetiği değiştirilmiş ürünlerle beslenen hayvanlarda yapılan deneysel çalışmalara ait bazı sonuçlar

Bitki	Hayvan türleri	Çalışma süresi	Etkiler	Kaynaklar
MISIR				
MON863	Sıçanlar	90 gün	Hem erkek (%3.3 azalma) hem de dişilerde (% 3.7 artış) değişik oranda doza dayalı ağırlık değişimleri. Hepoteronal toksisite belirtileri, dişilerde trigliserit artışı (% 24-40) ve erkeklerde idrarda fosfor ve sodyum atılımında azalma (%31-35)	Seralini ve ark (2007,2009)
NK603, MON810 ve MON863	Sıçanlar	14 hafta	3 GDO tüketimi ile ilişkilendirilen cinsiyet ve doz bağımlı, çoğunlukla hepatorenal toksisite ile ilgili yan etkiler. Kalp, dalak, böbrek üstü bezleri ve hemapoietik sistemde diğer yan etkilerde belirlenmiştir.	de Vendomois ve ark (2009)
Mısır 1507	Dawley sıçanları	90 gün	Deneme grupları arasında besinsel performans değişkenleri, klinik ve nörodavranışsal belirtiler, oftalmoloji ile birlikte klinik patoloji, organ ağırlıkları, makro ve mikroskopik patoloji bakımından anlamlı bir fark gözlenmemiştir	MacKenzie ve ark (2007)
Mısır 59122	Sıçanlar	90 gün	Vücut ağırlığı, besin tüketimi, klinik toksisite belirtileri, ölüm, oftalmoloji, nörodavranışsal değerlendirmeler, klinik patoloji ve patoloji bakımından beslenme ile ilgili yan etki saptanmamıştır	Malley ve ark (2007)
Mısır 1507 x 59122	Sıçanlar	92 gün	Deneme grupları arasında besinsel performans değişkenleri, klinik ve nörodavranışsal belirtiler, oftalmoloji ile birlikte klinik patoloji, organ ağırlıkları, makro ve mikroskopik patoloji bakımından anlamlı bir fark gözlenmemiştir	Appenzeller ve ark. (2009)
DAS-59122-7	Dawley sıçanları	90 gün	Bazı hematoloji ve serum kimyası ile ilgili değişkenlerde anlamlı farklılıklar gözlemlenmiş ve bu durum yüksek konsantrasyonda mısır unu içeren besinlerle beslenmelerine bağlanmıştır	He ve ark. (2008)

Çizelge 2 devamı

Y642 (lizin bakımından zengin)	Dawley sıçanları	90 gün	Vücut ağırlığı, yem tüketimi, klinik kimya, hemotoloji, ve organ ağırlıkları bakımından beslenme ile ilgili yan etki saptanmamıştır	He ve ark. (2009)
MR 604, MON 88107	----	-----	Hemotolojik, morfolojik, biyokimyasal parametreler ve sistem hassas biyomarörlerin analizi neticesinde herhangi bir yan etki tespit edilmemiştir	Tutel'ian ve ark. (2008, 2009)
MR 604, MON 88107	----	-----	DNA hasar ve yapısal kromozom sapma analizleri ile potansiyel alerjik ve immunoreaktif özelliklerin değerlendirilmesine ait çalışmalar herhangi bir genotoksik, alerjik ve immunoreaktif etkiler göstermemiştir	Tyshko ve ark. (2007,2008)
NK603	Sıçanlar		Genel sağlık, organ ağırlıkları, gıda tüketimi, dokuların mikroskopik görünümü açısından genetik yapısı değiştirilmemiş klasik mısır ile beslenen sıçanlardan farksız olduğu belirlenmiştir. Makroskopik ve mikroskopik incelemeler genetik yapısı değiştirilmiş mısır NK603'ün ticari klasik melez mısır kadar güvenli ve besleyici olduğu gösterilmiştir	Hammond ve ark. (2004)
MON 863	Sıçanlar	90 gün	Genel sağlık, ağırlık kazanımı, gıda tüketimi, klinik patoloji özellikleri (hematoloji, kan kimyası vb.), organ ağırlıkları ve dokuların mikroskopik görünüşleri incelenmiş ve araştırma sonucunda, transgenik mısır çeşidinin, besleyiciliği ve güvenliği bakımından, klasik mısır çeşitleri ile benzer olduğu vurgulanmıştır.	Hammond ve ark. (2006)

Genetik yapısı değiştirilmiş ürünlerin potansiyel alerjen olması iki şekilde açıklanmaktadır. Birincisi, transgenik üründe sentezlenen yeni protein, yeni bir alerji kaynağı olabileceği gibi, diğer alerjenlerle etkileşime girerek duyarlı kişilerde etkili olabilir. İkinci olasılık ise, genetik yapısı değiştirilmiş ürünün aslında var olan alerjenitesi, bu genetik değişiklikle farklı biçime dönüşebilir (Kleter ve Peijnenburg 2006; Prescott ve Hogan 2006). Her yeni proteinde olduğu gibi genetik yapısı değiştirilmiş ürünlerde de ayrıntılı biçimde alerjenite testleri yapılmalıdır. Aktarılan yeni genin kaynağının alerji ile ilgili geçmişi irdelenmeli, bu genin oluşturduğu proteinin biyokimyasal yapısı bilinen alerjenlerle karşılaştırılmalıdır. Ürünü kullanacak olanın alerji ile ilgili sorunu biliniyorsa, genetik yapısı değiştirilmiş ürünün tüketilmesi durumunda, potansiyel alerjenite mutlaka dikkate alınmalıdır (Kleter ve Kok 2010).

6.5. Genetik Değişiklikten Kaynaklanabilecek Beklenmeyen Etkiler

Genetik yapısı değiştirilmiş bitkilerde, aktarılan hedef genlerin oluşturduğu özellikler dışında, geliştirildiği anacından farklı olarak meydana gelen fenotipik, tepkisel ve yapısal değişikliklere beklenmeyen etkiler denilmektedir. Beklenmeyen etkilerin bazıları tahmin edilebilmekle birlikte, genellikle önceden tahmin etmek mümkün değildir (Cellini ve ark. 2004; Kleter ve Kok 2010). Beklenmeyen etkiler, genetik yapısı değiştirilmiş ürünün güvenliğini yakından ilgilendiren bir olaydır. Önceden tahmin edebilmek için, gen aktarılacak bitkinin genomik yapısının bilinmesi kadar, aktarılan DNA'nın moleküler yapısının bilinmesi de büyük önem taşımaktadır (Craig ve ark. 2008). Bu etkiler sonucu ortaya çıkan yeni özelliklerin insan ve hayvan sağlığı bakımından risk oluşturmadığı bildirilmektedir (OECD 2000; FAO/WHO 2000; Jonas ve ark. 2001; van den Eede 2004). Genetik yapısı değiştirilmiş bitkilerde modifikasyonlar arttıkça beklenmeyen etkilerin oranı da artmaktadır. Yapılan genetik değişikliğin karmaşıklığı beklenmeyen etkileri teşvik etmektedir (Kleter ve Kok 2010).

Wahl ve ark. (1984), transgenik organizmanın genomuna eklenmiş olan DNA'nın kromozomun yapısını bozacağını, kromozomların yeni bir düzenlemeye gitmelerine neden olabileceğini ve gen fonksiyonlarının etkilenebileceğini açıklamışlardır. Bu açıklama, bir organizmaya başka bir organizmadan aktarılan genetik materyalin mevcut genetik materyallerle allelik olmayan gen interaksiyonlarına girmesi durumunda önceden kestirilmeyen birtakım sonuçların da zaman içinde ortaya çıkabileceğine işaret etmektedir. Ancak, diğer bir genetiği değiştirilmiş melez mısır çeşidi MON 88017 x MON 810 tanelerinde, alanin, linoleik asit, araşidik asit ve ferulik asit bakımından önemli artışlar; eikosanoik asit, bakır, potasyum ve B2 vitamini yönünden ise önemli azalmalar belirlenmiştir (EFSA 2009c). Allelik olmayan gen interaksiyonları ve çevre ile olabilecek interaksiyonlar nedeniyle yeni genotipin patojenlerle ilişkileri ve çeşitli kimyasal savaşım araçlarına olan tepkimelerinde de değişiklik arz edebilecektir.

1507 x 59122 mısır çeşidinin yeşil kısımlarının kimyasal bileşim analizinde anlamlı bir değişikliğe rastlanmadığı, elde edilen verilerin literatürdeki klasik mısır çeşidi ile aynı sınırlar içinde olduğu belirtilmiştir (EFSA 2009a). 1507 x 59122 mısır çeşidinin tanelerinin bileşim analizinde kül, demir, potasyum, p-kumarik asit içeriklerinde istatistiksel olarak anlamlı değişikliğe rastlandığı belirtilmiştir. Ancak, bu değişiklik her lokasyonda belirlenmemiştir. Buna ek olarak değerleri kontrolden farklı olan bu maddelerin seviyelerinin klasik mısır çeşitleri için belirtilen değerlerin sınırları içinde olduğu bildirilmiştir (EFSA 2009a). Bitki genomlarına yeni bir genetik materyal aktarıldığında, aktarılan bölgedeki değişiklik nedeniyle bitkinin fenotipinde ya da kimyasal yapısında beklenmeyen değişikliklerin oluşabileceği bilinmektedir (Cellini 2004; Latham ve ark. 2006; Rischer ve Oksman-Caldentey 2006). Çiftlik hayvanlarına yabancı DNA parçalarının transferine ait bazı çalışmalar Çizelge 3' de özetlenmiştir.

Çizelge 3 Çiftlik hayvanlarına yabancı DNA parçalarının transferine ait çalışmalar

Bitki	Hayvan Türleri	Transgenik DNA durumu	Non Transgenik DNA durumu	Kaynaklar
Bt Mısır (Silaj ve Dane)	Et ve yumurta tipi tavuklar,	Hayvan dokularında transgenik DNA ya rastlanmamıştır	Kas, karaciğer, dalak ve böbrekte bitkisel DNA lara rastlanmış, dışkı ve yumurtalarda rastlanmamıştır.	Einspanier ve ark. (2001)
Bt Mısır (Silaj ve Dane)	Besi sığırları ve süt inekleri	Hayvan dokularında transgenik DNA ya rastlanmamıştır	Besi sığırlarında kan, kas karaciğer ve böbreklerde süt ineklerinin dışkılarında rastlanmamıştır.	Einspanier et al. (2001)
Bt Mısır (Dane)	Domuzlar	Rektumda 48 saate kadar transgenik DNA ya rastlanmış, kan organ ve dokularda rastlanmamıştır	Kan organ ve dokularda ve sindirim sisteminde bitkisel DNA ya rastlanmıştır.	Reuter and Aulrich (2003)
Bt Mısır (Dane)	Broiler	Sindirim sisteminde transgenik DNA ya rastlanmış, kan organ ve dokularda rastlanmamıştır.	Kan organ ve dokularda ve sindirim sisteminde bitkisel DNA ya rastlanmıştır.	Tony ve ark. (2003)
Bt Mısır (Dane)	Bıldırcın (10 nesil çalışılmış)	Mide ve tüm sindirim sisteminde Transgenik DNA ya rastlanmış. Kas karaciğer, mide, dalak, böbrek, kalp ve yumurtada rastlanmamıştır.	Sindirim sisteminde bitkisel DNA ya rastlanmıştır.	Flachowsky ve ark. (2005)
Bt Mısır (Silaj)	Süt İneği		Sindirim Sisteminde Bt toksini bulunmuştur	Einspanier ve ark. 2004
Mon 810 (Dane ve silaj)	Süt İneği	Kan süt ve idrarda trans genik DNA dizinlerine rastlanmıştır	Cry1Ab protein immunoreaktif parçaları dışkıda tespit edilmiştir.	Guertler ve ark. (2010)
Bt Mısır Mon 810 (Dane)	Domuz	Kan, karaciğer, dalak ve böbrekte Cry1Ab transgene rastlanmıştır.		Mazza ve ark. (2005)
Bt Mısır Mon 810 (Dane)	Süt İneği	Kan plazmasında Cry1Ab proteinine rastlanmamıştır.		Paul ve ark. (2008)

6.6. Çevresel Risk Değerlendirmesi:

1507 x 59122 mısır çeşidiyle ilgili başvuru, gıda amaçlı ithalat için yapılmıştır. Dolayısıyla çevre ve biyoçeşitliliğe ilişkin risk analizleri, taşıma ve gıda amaçlı işleme sürecinde çevreye çeşitli yollarla istem dışı yayılma ile sınırlı tutulmuştur. Gen geçişinin potansiyel kaynakları tohum ve çiçektozu olarak bilinmektedir. Mısır tohumlarının doğaya istem dışı taşınmalarının depolama, gıda işleme ve nakliye gibi süreçlerde ya da hayvanlar aracılığıyla gerçekleşebileceği düşünülmektedir.

1507 x 59122 melez mısır çeşidinin çevresel risk değerlendirmesi, hedef dışı organizmalara etkisi ve istenmeyen gen geçişleri olmak üzere iki başlık altında gerçekleştirilmiştir.

6.6.1. Hedef dışı organizmalara etkisi

Böceklerle karşı Cry proteinini içeren tüm transgenik bitkiler, çevrelerinde bir başka organizmayı da etkileyebilirler. Bu nedenle, transgenin hedefi, bir zararlı ya da patojen olabileceği gibi, hedef dışı organizmalar da olabilmektedir. Böceklerle dayanıklı çeşitlerin etkilediği hedef dışı organizmalar 5 grupta toplanmaktadır (OECD 2007; Sanvido ve ark. 2007).

- yararlı türler (zararlıların doğal düşmanları ve tozlayıcılar)
- toprak organizmaları
- hedef dışı otçul böcekler
- tehlikesiz ve nötr türler
- lokal çeşitliliğe katkıda bulunan diğer türler

1507 x 59122 mısır çeşidinde ekim söz konusu olmadığından sadece tane olarak çevresel etkisi irdelenmiştir. Bu durumda, etkilenen hedef dışı organizmalar olarak tane ve tane ürünleriyle beslenebilen böcekler ön plana çıkmaktadır. Transgenik bitkilerde *cry* genleri tarafından üretilen aktif toksinler hedef organizmaların barsağındaki epitel hücrelerinin plazma zarında bulunan özel reseptörlere bağlanırlar (Bravo ve ark. 2007; OECD 2007). Toksin, plazma zarına girerek önce zar içinde gözenekler daha sonra iyon kanalları oluşturarak tahribat yapar. Bu zar girişi işleminin biyokimyasal yapısı tam olarak anlaşılamamıştır. Bazı Cry proteinlerinin çoklu reseptörlere sahip olduğu, tek reseptör üzerinde birden çok bağlantı yaptığı ya da toksisite için reseptör bağlantısının gerekli fakat yeterli olmadığı gibi konularda değişik görüşler bulunmaktadır (Aronson ve Shai 2001; OECD 2007). Ayrıca, Cry proteinleri ile hedef organizmalar arasında etkileşim olduğu da bilinmektedir (Aronson ve Shai 2001; Zhang ve ark. 2006). Hedef dışı organizmaların larvaları ve erginleri ile yapılan testler sonucunda; *Apis mellifera* (bal arısı) larvaları, Coleoptera takımından *Hippodamia convergens* ve Neuroptera takımından *Chrysoperla carnea* predatörleri, Hymenoptera takımından *Nasonia vitripennis* paraziti gibi birçok böcek türünde Cry proteininin önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (OECD 2007).

Hedef dışı organizmaların olumsuz etkilerine ilişkin de birçok araştırma yapılmış ve sonuçları tartışılmıştır. Cry proteini, transgenik bitkileri tüketen hedef organizmalar için doğrudan bu proteinin bulaştığı diğer ürünleri tüketen hedef dışı organizmalar için dolaylı etki göstermektedir. ABD'nin önemli böcek türlerinden olan kral kelebekleri üzerine yapılan bir çalışmada, üzeri transgenik mısır çeşitlerinin çiçek tozları ile kaplı yapraklarını yiyen larvaların zarar gördüğü belirtilmiştir (Losey ve ark. 1999). Ayrıca, *H. convergens* ve *C. carnea* gibi böcek türlerinin öldüğünü bildiren araştırmalar da bulunmaktadır (Hilbeck ve ark. 1998). Bu araştırmalar, Cry proteinlerinin dolaylı toksik etkisini göstermesi bakımından önemlidir. Hedef dışı böceklerin genetik yapısı değiştirilmiş organizmalardan etkilenmesine ilişkin kapsamlı bir çalışma yapan Naranjo (2009), toplam 360 araştırma makalesini laboratuvar ve tarla denemeleri olarak

irdelemiştir. Bu konuda yapılan tüm laboratuvar çalışmaları değerlendirildiğinde, hedef dışı böceklerin Cry proteinleri ile karşılaştıklarında, bir kısmının dayanıklı bir kısmının ise dayanıksız olduğu belirlenmiştir. Zararlıların doğal düşmanları olan böceklerin, Cry proteinlerinin etkisinde kalmaları halinde, özellikle predatörlerin gelişim oranlarında istatistiksel açıdan önemli düzeyde azalma olduğu belirlenmiştir. Ancak, Cry proteinlerinin bu böceklerin canlılıklarına herhangi bir olumsuz etkisi belirlenmemiştir. Üreme oranında belirlenen azalmalar ise istatistiksel olarak önemli düzeyde bulunmamıştır. Önemli artropodlardan olan arılar, kral kelebekleri ve ipek böcekleri gibi canlıların ve hedef dışı otçul böcekler ve tozlayıcı böceklerin de Cry proteinlerine farklı tepki gösterdikleri belirlenmiştir. Otçul zararlıların gelişmelerinde ve canlılıklarında önemli düzeyde azalma görülmesine karşın, tozlayıcılar bu öğeler bakımından Cry proteinlerinden etkilenmemişlerdir. Bu konuda yapılan tüm alan denemeleri irdelendiğinde ise, zararlılarla mücadelede önemli bir yeri olan doğal düşmanların Cry proteinlerinden istatistiksel açıdan önemli ölçüde olumsuz yönde etkilendiği; transgenik mısır alanlarında doğal düşmanların belli oranda azalmasına karşın bu azalmanın istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir. Araştırmalar, çalışmanın yapıldığı laboratuvar ya da alan denemelerine göre de hedef olmayan organizmaların tepkilerinin farklı olduğunu göstermektedir. Ayrıca, kontrolü daha iyi sağlandığından, laboratuvar çalışmalarının tarla denemelerine oranla güvenilirliğinin yüksek olduğu bildirilmiştir.

6.6.2. Bitkiden bitkiye gen geçişleri

1507 x 59122 melez mısır çeşidi tarım amaçlı kullanılmayacağından, bitkiden-bitkiye gen geçişleri riski, taşıma ve gıda amaçlı işleme esnasında kazayla çevreye yayılma ile sınırlı tutulmuştur. Bitkiden bitkiye gen geçişlerinin potansiyel kaynaklarının tohum ve çiçektozu olduğu bilinmektedir. Mısır tohumlarının doğaya yayılması gıda işleme ve nakliye süreçleri sırasında da gerçekleşebilir.

Taşıma ve işleme sırasında istem dışı bir şekilde genetiği değiştirilmiş mısır bitkilerinin polenlerinin diğer mısır bitkilerine kayda değer miktarda dağılması pek mümkün değildir. İspanya'da genetiği değiştirilmiş mısır üzerinde yapılan tarla gözlemleri, bunlarda canlılığın az olduğunu, nadiren koçanları olduğunu ve çevresindeki bitkilere çapraz tozlaşma ile bulaşabilen çok düşük düzeyde polen ürettiklerini göstermiştir (Palaudelmàs ve ark. 2009).

Mısır tohumlarının doğaya yayılması hayvanlar aracılığı ile olabileceği gibi, yem işleme ve nakliye süreçleri sırasında da gerçekleşebilir. 1507 x 59122 melez mısır çeşidi glifosat etkili herbisitlere ve/veya hedef zararlı böceklerle dayanıklılık dışında hayatta kalma, çoğalma veya yayılma özelliklerini değiştirmemiştir. Bu mısır çeşidinin genlerinin yayılması sonucunda istenmeyen çevresel etkilerin görülme olasılığının 1507 x 59122 melez mısırı ya da klasik mısır çeşitlerinden farklı olmayacağı belirlenmiştir (EFSA 2009a).

Ancak, sorun sadece yabancı gen kaynakları ile sınırlı değildir. Mısır bitkileri yabancı döllenilen ve çiçek tozlarını canlı olarak çok uzak mesafelere gönderebilen bitki türlerindedir. Bu nedenle, transgenik çeşitlerden klasik kültür çeşitlerine de gen geçiş olasılığı çok yüksektir. Mısırın ana vatanı olmayan ülkemizde transgenik mısırlardan yabancı mısırlara gen kaçışından söz etmek mümkün değildir, ancak kültürü yapılabilen mısır çeşitlerine gen kaçışı söz konusu olabilir.

6.6.3. Bitkiden bakteriye gen geçişi

Genetik olarak değiştirilmiş 1507 x 59122 mısır çeşidinde bulunan transgenlerin, insan ve hayvanların sindirim sistemlerinde bulunan mikroorganizmalarla karşılaşma riski bulunmaktadır. Genetiği değiştirilmiş bitkilerden mikroorganizmalara gen geçişinin temel olarak doğal koşullarda olağan olmadığı (EFSA 2004b; EFSA 2007a) ve mikroorganizmalarda yerleşiminin temel olarak homolog rekombinasyon yoluyla olduğu belirtilmektedir (Keese 2008).

Bitkilerde özellikle virüs ya da bakteri kaynaklı genlerin varlığı tartişılmaktadır. Bu tip yabancı DNA'nın alınımı her zaman mümkün olmaktadır. Çünkü bakteri ve virüsler daima gıdalarla birlikte alınabilmektedir. Buna ek olarak bütün DNA lar kimyasal olarak eşitir bu nedenle DNA nın türün kaynağına bağlı değil dizisine bağlı olduğu belirtilmektedir (Jonas ve ark. 2001). CaMV35S promotörü 19 baz çiftlik palindromik dizi içermektedir. Bu nedenle rekombinasyon için uygun bir bölgedir (Ho ve ark. 1999). Böylece baskın endojen virüslerle rekombinasyon yapabilirler. Retrovirüsler insanlarda dahil olmak üzere bir çok organizmanın genomunda bulunmaktadır (Lander ve ark. 2001). CaMV35S promotörünün insan DNA'sı ile karşılaşmasını engelleyen bir çok bariyer bulunmaktadır. Ayrıca bir bitki retrovirüsü olan CaMV insanlar tarafından binlerce yıldır az miktarlarda karnabahar ve lahana ile birlikte alınmaktadır (Hull ve ark. 2000).

Transgenik mısır bitkisinin, taşıma ve yem amaçlı işleme esnasında istem dışı, ya da bu ürün ile beslenen hayvanların sindirim sisteminden dışkı ile çevreye doğrudan ya da dolaylı olarak yayılan Cry proteinlerinin toprak organizmalarına olan etkisi irdelendiğinde, transgenlerin antibiyotiklere dirençlilik ve toksik özellikleri dikkat çekmektedir. Antibiyotiğe dirençli bir çok bakterinin, transgenik gıdalar tüketilmediği zaman da ortaya çıkabildiği bilinmektedir (Salysers 1997; Smalla ve ark. 1997). Hastanelerde, çevrede ve gıdalarda birden fazla antibiyotiğe dirençli bakterilerin bulunması (Perreten ve ark. 1997), transgenik bitkilerin antibiyotiğe dirençli bakteri geliştirmede yeni bir gen havuzu oluşturmadığını göstermektedir (Anonim 2009).

ABD ve Fransa'da 1994 ve 1995 yıllarında yapılan tarla araştırmalarında ise, transgenik bitkilerin hedef dışı organizmalara olumsuz etkilerinin olmadığı ve popülasyondaki miktarlarının klasik çeşitlere oranla farklılık göstermediği belirlenmiştir (Anonim 2009). Bu proteinlerin sindirim sisteminde enzimlerle parçalanması, transgen özelliğinin kaybolmasının (Anonim 1988) yanında hayvan dışkılarında miktarlarının da düşük olmasını sağlamaktadır. Ayrıca, dışkılardaki mikrobiyel işlemler de bu proteinlerin çevreye yayılmalarını önlemede etkili olmaktadır. Topraktaki kil mineralleri tarafından Cry proteinlerinin tutulması da yayılmayı önleyen bir başka faktör olarak bilinmektedir. Bu nedenlerden dolayı, transgenik bitkilerden geçen Cry proteinlerinin toprakta birikmesi mümkün görülmemektedir (EFSA 2009a).

cry1F, *cry34Ab1* ve *cry35Ab1* genleri ökaryotik promotörlerin kontrolü altındadır ve prokaryotlara yatay gen geçişinin olası olmadığı belirtilmektedir. Mikrobiyel kökenleri ve yapıları göz önüne alındığında *cry1F*, *cry34Ab1*, *cry35Ab1* ve *pat* genlerinin doğada ve sindirim sisteminde sürekli seleksiyon baskısı yapmaması nedeniyle bakterilere yatay geçiş olasılığının son derece düşük olduğu belirtilmektedir. Transgenin, son derece olağan dışı bir şekilde aktarılması durumunda bile, insan ve hayvanlara zararlı olması beklenmemektedir (EFSA 2009a).

Ancak, bu verilerin aksini gösteren araştırmalar da bulunmaktadır. Örneğin, genetik yapısı değiştirilmiş organizmalardaki Cry proteininin, topraktaki kil mineralleri tarafından tutularak mikrobiyel işlemlerden korunmakla birlikte, tutulduğu sürece insektisidal aktivitesini sürdürdüğü (Koskella and Stotsky 1997; Crecchio ve Stotsky 1998; OECD 2007) ve tarlada yarılanma ömrünün 9-40 gün arasında olduğu (Marchetti ve ark. 2007;

Accinelli ve ark. 2008) bildirilmiştir. DNA'nın ölü bitki dokularında, hücre duvarları aracılığı ile, en az birkaç gün, geçiş özelliğini koruyacak biçimde kalabildiği bilinmektedir (Nielsen ve ark. 2000). Bu süre içerisinde topraktaki transgenik bitki parçalarından toprak mikroorganizmalarına transgenler geçebilmektedir (Paget ve Simonet 1997). Araştırmalar, bitki DNA'sının, toprağın yapısına, pH değerine, nemine ve mikrobiyel aktivitesine bağlı olarak, birkaç saatle birkaç gün içerisinde toprak bakterilerine geçebileceğini göstermektedir (Anonim 2009).

Chowdhury ve ark. (2003a) ise, genetik yapısı değiştirilmiş StarLink CBH351 mısır çeşidi ile 8 domuzda ve genetik yapısı değiştirilmemiş mısır çeşidi ile de 8 domuzda yaptıkları besleme denemesi sonucunda; domuzların sindirim sisteminde rekombinant *cry9C* ve *zein* genlerini rektal bölgede, sırasıyla, %25.0-37.5 (242 ya da 329 baz çifti) ve %31.3 (242 ya da 329 baz çifti) olarak saptadıklarını açıklamışlardır. Duggan ve ark. (2003), böcekler dayanıklılık geni, *cryIA(b)*, aktarılmış mısır taneleri ve mısır silajı kullanılarak yapılan koyun besleme denemelerinde; genetik yapısı değiştirilmiş mısır taneleri ile beslenen koyunlardan 5 saat sonra alınan rumen sıvısında, *cryIA(b)* geninin etkin olarak bulunduğunu saptamışlardır. Deaville ve Maddison (2005), etlik piliçlerin kanında, dokularında ve sindirim sistemlerinde transgenik ve endojen DNA parçalarını araştırmışlardır. Bu amaçla kurdukları besleme denemesinde, materyal olarak genetik yapısı değiştirilmemiş mısır tanelerini ve *cry1a(b)* geni taşıyan genetik yapısı değiştirilmiş mısır tanelerini kullanmışlardır. Transgenik mısır diyeti ile yapılan son beslemeden 96 saat sonra yapılan incelemelerde, taşlıkda transgenik DNA saptamışlardır. Buna karşılık, bağırsaklarda böyle bir duruma rastlamamışlardır. Agodi ve ark. (2006), 12 farklı markaya ait 60 süt örneği üzerinde yaptıkları araştırma sonucunda 15 örnekte genetik yapısı değiştirilmiş mısıra ait DNA dizilerinin varlığını saptamışlardır.

Japonya'da, PCR ve immünolojik testlerden yararlanılarak yapılan bir araştırmada, Bt11 transgenik mısır çeşidi ile beslenen domuzlarda Cry1Ab proteininin sindirim sisteminde tam olarak parçalanmadığı belirlenmiştir (Chowdhury ve ark. 2003b). Transgenik DNA'nın, tarla koşullarında çiçek tozu aracılığı ile arı larvalarının bağırsaklarındaki bakterilere (Bergelson ve ark. 1998); laboratuvar koşullarında ise toprak bakteri ve mantarlarına geçtiğine (Schluter ve ark. 1995) ilişkin çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Dizi benzerliği olmayan veya az miktarda dizi benzerliği olan yabancı DNA'nın bakteri genomuna eklenmesinin doğal koşullarda çok düşük bir olasılık olduğu belirtilmektedir (Schlüter ve ark. 1995). Herhangi bir heterolog DNA'nın entegrasyonunun alıcı genomuna homolog bir diziye bağlı ise artabileceği belirtilmektedir (de Vries ve ark. 2002). Ancak böyle bir entegrasyon bitki genomundan olan DNA'larda meydana geldiği hiç gösterilmemiştir ve gıda tüketimi sonucunda sindirim sistemindeki bakterilere geçtiğine dair kanıt bulunmamaktadır (Batista ve Oliveira 2009). Görüldüğü gibi, yatay gen geçişlerinin olabileceği birçok araştırmacı tarafından kabul edilmektedir. Ancak bunların etkileri konusunda farklı görüşler söz konusudur. Ayrıca, transgenik gıdanın henüz ağızda çiğneme aşamasındayken bile yatay gen geçişlerinin olabileceği ileri sürülmektedir. Mercer ve ark. (1999), insan tükürüklerinde 60 dakika süre ile bekletilen transgenik plazmidlerin %6-%25 oranında canlı kaldıklarını, çiğneme ile kısmi olarak parçalanan bu plazmidlerin insanların ağız ve yutaklarında bulunan *Streptococcus gordonii*'ye kolaylıkla geçebileceklerini ifade etmektedirler. Bitki ve bakteri arasındaki yatay gen geçişleri, transgenik bitkilerdeki antibiyotiğe dayanıklılık geninin bakterilere geçme olasılığı nedeniyle önemli bir risk oluşturmaktadır (Bergmans 1993; Rissler ve Mellon 1993). Antibiyotiğe dayanıklı markör genlerin, transgenik bitki yaprağından toprak bakterisi *Acinetobacter*'e kolaylıkla geçebildiği bilinmektedir (de Vries ve Wackernagel 1998; Gebhard ve Smalla 1999). Bu nedenlerle, transgenik bitkilerde antibiyotiğe dayanıklılığı sağlayan bazı markör genlerin kullanımı birçok AB üyesi ülkede yasaklanmıştır.

7. GENEL SONUÇ ve ÖNERİLER

Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi, Coleoptera ve Lepidoptera takımlarına bağlı bazı zararlı türlere dayanıklılığın (Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry1F) ve glifosinat amonyum içeren herbisitlere toleransın (PAT, CP4 EPSPS) sağlanması amacı ile genetiği değiştirilmiş **1507 x 59122** mısır çeşidinin gıda amaçlı ithal edilmesinin risklerini değerlendirmiştir. 1507 x 59122 çeşidine biyoteknolojik yöntemlerle aktarılan genlerin yapısı, DNA dizisi, promotör ve terminatör bölgeleri, gen anlatım düzeyleri, ekstra DNA dizileri ve gen aktarım yöntemi ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Bu mısır çeşidi ile ilgili değerlendirme; başvuru dosyasında yer alan dökümanlar, risk değerlendirmesi yapan çeşitli kuruluşların (EFSA, JRC/CRL-GMFF, WHO, FAO, FDA ve Japonya Çevre Bakanlığı) görüşleri ve bilimsel araştırmaların sonuçlarını içeren makaleler (alerjik ve toksik etki analizleri, genetik modifikasyonun stabilitesi, hedef dışı organizmalara etkisi vb.) ile farklı ülkelerde kullanım durumları göz önünde bulundurularak yapılmıştır. Yine bu genetiği değiştirilmiş çeşitle yapılan hayvan besleme çalışmaları incelenerek gıda olarak kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler değerlendirilmiştir. Ek olarak bu mısır çeşidinin ülkemizde istem dışı yayılması durumunda ortaya çıkabilecek biyoçeşitliliği tehdit etmesi olası çevresel riskler göz önünde bulundurulmuştur.

Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi;

- Coleoptera takımına bağlı zararlılara dayanıklı ve glifosinat amonyuma toleranslı 59122, Lepidoptera takımına bağlı zararlılara dayanıklı ve glifosata toleranslı 1507'in melezlenmesi ile elde edilen ve bu özelliklerin tümünü içeren melez mısır çeşidinde (1507 x 59122), her bir gen için gerçekleştirilen transformasyon ve sonrasında integrasyonun stabil olduğu aktarılan DNA parçalarının yapılarının bozulmadan genomda yer aldığı, ancak GD ürünlerin insan gıdası olarak tüketime sunulmadan önce moleküler seviyede gen insersiyonunun yaratacağı olası etkilerin daha etraflıca ve detaylı olarak çalışılması gerektiği
- bir organizmaya başka bir organizmadan aktarılan genetik materyalin mevcut genetik materyallerle allelik olmayan gen interaksiyonlarına girmesi durumunda, önceden kestirilmeyen birtakım sonuçları da zaman içinde ortaya çıkabileceği; allelik olmayan gen interaksiyonları ve çevre ile olabilecek interaksiyonlar nedeniyle yeni genotipin patojenlerle ilişkileri ve çeşitli kimyasal ilaçlarla etkileşime neden olabileceğinin göz önünde tutulması gerektiği,
- 1507 x 59122 melez mısır çeşidinin genetiği değiştirilmemiş ticari mısır çeşidi ile benzer tarımsal özellikler ve bileşime sahip olduğu, ancak herbisit uygulama rejimlerine bağlı olarak farklı çevre koşullarının etkili olabileceğinin göz ardı edilmemesi gerektiği,
- aktarılan genlerin moleküler yapı ve anlatım analizlerinden, 1507 ve 59122 mısır anaçları arasında yapılacak melezleme çalışmaları sırasında söz konusu genlerin birbirleriyle etkileşim içine girerek tarımsal değişikliklere neden olabilecek yeni proteinlerin sentezlenmesine yol açmayacakları;
- 1507 x 59122 melez mısır çeşidi ile ilgili ürünlerin toksik etkileri ve sağlıkla ilgili endişelere neden olan yönleri yapılan çalışmalarda kesin sonuca ulaşmadığı, zira bazı çalışmalar olumsuz etkilerin gözlemlendiğini belirtirken bazıları da hiçbir olumsuz etkinin olmadığını gösteren sonuçlara vardığı, olası toksik etkilerin belirlenerek bir sonuca varılabilmesi için çokdaha fazla araştırmanın yapılmasının gerektiği, GD gıdaların mutajenik ve karsinojenik etkilerini belirlemek için detaylı testlerin yapılması gerektiği,

- 1507 x 59122 melez mısır çeşidinin alerjenite yönünden genetik olarak değiştirilmemiş eşdeğeriyle benzer olduğu, ancak potansiyel alerjenitenin göz ardı edilmemesi gerektiği,
- bu alanda yapılan araştırmalar bilimsel olarak irdelendiğinde hem olumlu hemde olumsuz sonuç rapor eden çalışmaların bilimsel yönden eleştirilebilecek yönlerinin bulunması, bu nedenle bu konudaki bilimsel sonuçlar değerlendirilirken bu hususların da dikkate alınması gerektiği,

sonucuna varılmıştır.

Yukarıdaki açıklamaların ışığında genetiği değiştirilmiş 1507 x 59122 mısır melez çeşidinin ‘gıda olarak’ kullanılmasının **UYGUN OLMADIĞINA OY ÇOKLUĞU İLE** karar verilmiştir.

8. RİSK YÖNETİMİ

Risk yönetiminin planlanması ve bu planının uygulanması “Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi”nin sorumluluğu dışındadır. 1507 x 59122 mısır çeşidinin taşınma ve işlenmesi sırasında kazayla çevreye yayılması sonucu olası çevre ve biyoçeşitliliğe ilişkin riskler ortaya çıkabilir. Bu durumda, 5977 sayılı “Biyogüvenlik Kanunu”, ilgili yönetmelikleri ve Biyogüvenlik Kurulu kararları uyarınca;

- a) geçerlilik süresi
- b) ithalatta uygulanacak işlemler
- c) kullanım amacı
- ç) risk yönetimi ve piyasa denetimi için gerekli veriler
- d) izleme koşulları
- e) belgeleme ve etiketleme koşulları
- f) ambalajlama, taşıma, muhafaza ve nakil kuralları
- g) işleme, atık ve artık arıtım ve imha koşulları
- ğ) güvenlik ve acil durum tedbirleri
- h) yıllık raporlamanın nasıl yapılacağı

hususunda belirtilen konulara titizlikle uyulmalıdır.

KAYNAKLAR

- Accinelli C, Koskinen WC, Becker JM and Sadowsky MJ (2008) Mineralization of the *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac endotoxins in soil. J Agr Food Chem 56: 1025-1028.
- Agodi A, Barchitta M, Grillo A and Sciacca S (2006) Detection of genetically modified DNA sequences in milk from the Italian market. Int J Hyg Environ Health 209: 81-88.
- Anonim (1988) Guidance for the registration of pesticide products containing *Bacillus thuringiensis* as an active ingredient. NTIS PB 89-164198.
- Anonim (2009) MON 810 Environmental risk assessment case study. www.agbios.com/cstudies.
- Appenzeller LM, Malley L, MacKenzie SA, Hoban D and Delaney B (2009) Subchronic feeding study with genetically modified stacked trait lepidopteran and coleopteran resistant (DAS-Ø15Ø7-1×DAS-59122-7) maize grain in Sprague–Dawley rats. Food Chem Toxicol 47: 1512-1520.
- Aronson AI and Shai Y (2001) Why *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxins are so effective: unique features of their mode of action. FEMS Microbiol Lett 195: 1-8.

- Batista R and Oliveira MM (2009) Facts and fiction of genetically engineered food. *Trends Biotech* 27: 5277-5286
- Bergelson, J, Purrington CB and Wichmann G (1998) Promiscuity in transgenic plants. *Nature* 395: 25.
- Bergmans H (1993) Acceptability of the use of antibiotic resistance genes as marker genes in transgenic plants. pp106-108. *In: OECD Report on the Scientific Approaches for the Assessment of Research Trials with Genetically Modified Plants*. April 6-7, 1992.
- Bravo A, Gill SS and Soberon M (2007) Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxicol* 49(4): 423-435.
- Cellini F, Chesson A, Colquhoun I, Constable A, Davies HV, Engel K, Gatehouse AMR, Karenlampi S, Kok EJ, Leguay JJ, Lehesranta S, Noteborn HPJM, Pedersen J and Smith M (2004) Unintended effects and their detection in genetically modified crops. *Food Chem Toxicol* 42: 1089-1125.
- Chowdhury EH, Mikami O, Nakajima Y, Kuribara H, Hino A, Suga K, Hanazumi M and Yomemochi C (2003a) Detection of Genetically Modified Maize DNA Fragments in the intestinal contents of pigs fed starLinkCBH351. *Vet Hum Toxicol* 45: 95-96.
- Chowdhury EH, Kuribara H, Hino A, Sultana P, Mikami O, Shimada N, Gruge KS, Saito M and Nakajima Y (2003b) Detection of corn intrinsic and recombinant DNA fragments and Cry1Ab protein in the gastrointestinal contents of pigs fed genetically modified corn Bt11. *J Anim Sci* 81: 2546-2551.
- Craig W, Tepfer M, Degrassi G and Ripandelli D (2008) An overview of general features of risk assessments of genetically modified crops. *Euphytica* 164: 853-880.
- Crecchio C and Stotsky G (1998) Insecticidal activity and biodegradation of the toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* bound to humic acids from soil. *Soil Biol Biochem* 30 (4): 463-470.
- Deville ER and Maddison BC (2005) Detection of transgenic and endogenous plant DNA fragments, in the blood, tissues, and digesta of broilers. *J Agric Food Chem* 53: 10268-10275.
- de Vendômois JS, Roullier F, Cellier D and Séralini G (2009) A comparison of the effects of three GM corn varieties on mammalian health. *Int J Biol Sci* 7: 706-726.
- de Vries J and Wackernagel W (1998) Detection of *nptII* (kanamycin resistance) genes in genomes of transgenic plants by marker-rescue transformation. *Mol Gen Genet* 257: 606-613.
- de Vries J and Wackernagel W (2002) Integration of foreign DNA during natural transformation of *Acinetobacter* sp. by homology-facilitated illegitimate recombination. *Proc Natl Acad Sci USA* 99, 2094-2099.
- Dona A and Arvanitoyannis IS (2009) Health risks of genetically modified foods. *Crit Rev Food Sci Nutr* 49: 164-175.
- Duggan PS, Chambers PA, Heritage J, Forbes JM (2003) Fate of genetically modified maize DNA in the oral cavity and rumen of sheep. *Br J Nutr* 89 (2): 159-166.
- EFSA (2004a) Opinion of the scientific panel on genetically modified organisms on a request from the commission related to the notification (Reference C/NL/00/10) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified 1507 maize, for import and processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds. *The EFSA Journal* 124: 1-18.
- EFSA (2004b) Opinion of the scientific panel on genetically modified organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. *The EFSA Journal* 48: 1-18.
- EFSA (2005a) Opinion of the scientific panel on genetically modified organisms on an application for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified 1507 maize, for food use, under regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds. *The EFSA Journal* 182: 1-22.

- EFSA (2005b) Opinion of the scientific panel on genetically modified organisms on a request from the commission related to the notification (Reference C/ES/01/01) for the placing on the market of insect-tolerant genetically modified maize 1507, for import, feed and industrial processing and cultivation, under Part C of directive 2001/18/EC from Pioneer Hi-Bred International/Mycogen Seeds. The EFSA Journal 181: 1-33.
- EFSA (2007a) Guidance document of the scientific panel on genetically Modified Organisms for the risk assessment of genetically modified plants containing stacked transformation events The EFSA Journal 512: 1-5.
- EFSA (2007b) Opinion of the scientific panel on genetically modified organisms on an application (Reference EFSA-GMO-NL-2005-12) for the placing on the market of insect-resistant genetically modified maize 59122, for food and feed uses, import and processing under regulation (EC) No 1829/2003, from Pioneer Hi-Bred International, Inc. and Mycogen Seeds, c/o Dow Agrosciences LLC. The EFSA Journal 470: 1-25.
- EFSA (2009a) SCIENTIFIC OPINION Application (Reference EFSA-GMO-NL-2005-15) for the placing on the market of the insect-resistant and herbicide-tolerant genetically modified maize 1507 x 59122, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Mycogen Seeds, c/o Dow AgroSciences LLC and Pioneer Hi-Bred International, Inc. as represented by Pioneer Overseas Corporation. The EFSA Journal 1074: 1-28.
- EFSA (2009b) Scientific opinion of the panel on genetically modified organisms on an application (Reference EFSA-GMO-UK-2005-21) for the placing on the market of insect-resistant and herbicide-tolerant genetically modified maize 59122 x 1507 x NK603 for food and feed uses, and import and processing under regulation (EC) No 1829/2003 from Pioneer Hi-Bred International, Inc.. The EFSA Journal 1050: 1-32.
- EFSA (2009c) Scientific Opinion: Application (Reference EFSA-GMO-CZ-2006-33) for the placing on the market of the insect-resistant and glyphosate-tolerant genetically modified maize MON 88017 x MON 810, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. The EFSA Journal 1192: 1-27.
- Einspanier R, Andreas K, Jana K, Karen A, Rita P, Fredi S, Gerhard J and Gerhard F (2001) The fate of forage plant DNA in farm animals: a collaborative case-study investigating cattle and chicken fed recombinant plant material. *Eur Food Res Technol* 212(2): 129-134.
- Einspanier R, Lutz B, Rief S, Berezina O, Zverlov V, Schwarz W and Mayer J (2004) Tracing residual recombinant feed molecules during digestion and rumen bacterial diversity in cattle fed transgene maize. *Eur Food Res Technol* 218(3): 269-273.
- FAO/WHO (2000) Safety aspects of genetically modified foods of plant origin. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology, World Health Organisation (WHO), Geneva, Switzerland, p 35.
- Flachowsky G, Halle I and Aulrich K (2005) Long term feeding of Bt-corn – a ten generation study with quails. *Arch Anim Nutr* 59(6): 449-451.
- Gebhard F and Smalla K. (1999) Monitoring field releases of genetically modified sugar beets for persistence of transgenic plant DNA and horizontal gene transfer. *FEMS Microbiol Ecol* 28: 261-272.
- Habustova O, Turanli F, Dolezal P, Ruzicka V, Spitzer L, Hussein H (2006) Environmental impact of Bt maize-three years of experience. GMOs in integrated plant protection, ecological impacts of genetically modified organisms, IOBC wprs Bulletin/ Bulletin OILB srop 29 (5): 57-63.
- Hammond B, Dudek R, Lemen J and Nemeth M (2004) Results of a 13 week safety assurance study with rats fed grain from glyphosate tolerant corn. *Food Chem Toxicol* 42: 1003-1014.

- Hammond B, Lemen J, Dudek R, Ward D, Jiang C, Nemeth M and Burns J (2006) Results of 90-day safety assurance study with rats fed grain from corn rootworm-protected corn. *Food Chem Toxicol* 44: 147-160.
- He XY, Huang KL, Li X, Qin W, Delaney B and Luo YB (2008) Comparison of grain from corn rootworm resistant transgenic DAS-59122-7 maize with non-transgenic maize grain in a 90-day feeding study in Sprague Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 46: 1994-2002.
- He XY, Tang MZ, Luo YB, Li X, Cao SS, Yu JJ, Delaney B and Huang KL (2009) A 90-day toxicology study of transgenic lysine-rich maize grain (Y642) in Sprague Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 47: 425-432.
- Hilbeck A, Baumgartner M, Fried PM and Bigler F (1998) Effect of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environ Entomol* 27: 480-487.
- Ho M-W, Ryan A and Cummins J (1999) Cauliflower mosaic viral promoter – a recipe for disaster? *Microb Ecol Health Dis* 11: 194-197
- Hull R, Covey SN and Dale P (2000) Genetically modified plants and the 35S promoter: assessing the risks and enhancing the debate. *Microb Ecol Health Dis* 12: 1-5.
- ILSI (2006) ILSI Crop Composition Database Web site. Version 3.0 <http://www.cropcomposition.org/>Jonas, D.A. et al. 2001 Safety considerations of DNA in food. *Ann Nutr Metab* 45: 235-254.
- Jonas DA, Elmadfa I, Engel KH, Heller KJ, Kozianowski G, Konig A, Muller D, Narbonne JF, Wackernagel W and Kleiner J (2001). Safety considerations of DNA in food. *Ann Nutr Metab* 45: 235–254.
- Keese P (2008) Risks from GMOs due to horizontal gene transfer. *Environmental Biosafety Research* 7: 123-149.
- Kleter GA and Kok EJ (2010) Safety assessment of biotechnology used in animal production, including genetically modified (GM) feed and GM animals, a review. *Animal Sci Pap and Rep* 2: 105-114.
- Kleter GA and Peijnenburg AACM (2006) Prediction of the potential allergenicity of novel proteins, Chapter 10. In: Gilissen LJEJ, Wichers HJ, Savelkoul HFJ, Bogers RJ (eds) *Allergy matters. New Approaches to Allergy Prevention and Management Series: Wageningen UR Frontis Series*, vol 10, p 205.
- Koskella J and Stotzky G (1997) Microbial utilization of free and clay-bound insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* and their retention of insecticidal activity after incubation with microbes. *Appl Environ Microbiol* 63 (9): 3561-3568.
- Lander ES et al. (2001) Initial sequencing and analysis of the human. *Nature* 409: 860-921.
- Latham JR, Wilson AK and Steinbrecher RA (2006) The mutational consequences of plant transformation. *J Biomed Biotechnol* 2006:25376.1-25376.7.
- Losey JE, Rayor LS and Carter ME (1999) Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature* 399: 214.
- Mackenzie SA, Lamb I, Schmidt J, Deege L, Morrisey MJ, Harper M, Layton RJ, Prochaska LM, Sanders C, Locke M, Mattsson JL, Fuentes A, Delaney B. (2007) Thirteen week feeding study with transgenic maize grain containing event DAS-Ø15Ø7-1 in Sprague Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 45: 551-562.
- Malley LA, Everds NE, Reynolds J, Mann PC, Lamb I, Rood T, Schmidt J, Layton RJ, Prochaska LM, Hinds M, Locke M, Chui C-F, Claussen F, Mattsson JL and Delaney B (2007) Subchronic feeding study of DAS-59122-7 maize grain in Sprague Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 45: 1277-1292.
- Marchetti E, Accinelli C, Talame V and Epifani R (2007) Persistence of Cry toxins and cry genes from genetically modified plants in two agricultural soils. *Agronomy for Sustainable Development* 27 (3): 231-236.
- Mercer DK, Scott KP, Bruce-Johnson WA, Glover LA and Flint HJ (1999) Fate of free DNA and transformation of the oral bacterium *Streptococcus gordonii* DL1 by plasmid DNA in human saliva. *Appl Environ Microbiol* 65: 6-10.

- Naranjo SE (2009) Impact of *Bt* crops on non-target invertebrates and insecticide use patterns. *CAB Rev. Perspectives Agric Vet Sci Nutrit Nat Resour* 4 (11): 23
- Nielsen KM, Smalla K., van Elsas JD (2000) Natural transformation of *Acinetobacter* sp. strain BD413 with cell lysates of *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas fluorescens* and *Burkholderia cepacia* in soil microcosms. *Appl Environ Microbiol* 66: 206-212.
- OECD (2000) Report of the task force for the safety of novel foods and feeds, May 2000. C(2000)86/ADD1. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Paris, 72.
- OECD (2002) Consensus Document on compositional consideration for new varieties of Maiz (*Zea mays*): key food and feed nutrients, anti-nutrients and secondary plant metabolites. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds (ENV/JM/MONO(2002)25) 6: 1-42.
- OECD (2007) Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis* – derived insect control proteins. Series on Harmonisation Regulatory Oversight in Biotechnology, Number 42 Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Paris, 109 pp.
- Paget E and Simonet P (1997) Development of engineered genomic DNA to monitor the natural transformation of *Pseudomonas stutzeri* in soil-like microcosms. *Can J Microbiol* 43: 78-84.
- Palauelmas M, Penas G, Mele E, Serra J, Salvia J, Pla M, Nadal A and Messeguer J (2009) Effect of volunteers on maize gene flow. *Transgenic Research* 18: 583-594.
- Pawlowski WP and Somers DA (1996) Transgene inheritance in plants genetically engineered by microprojectile bombardment. *Molecular Biotechnology* 6: 17-30.
- Perreten V, Schwarz F, Cresta L, Boeglin M, Dasen G and Teuber M (1997) Antibiotic resistance spread in food. *Nature* 389: 801-802.
- Prescott VE and Hogan SP (2006) Genetically modified plants and food hypersensitivity diseases: usage and implications of experimental models for risk assessment. *Pharmacol Ther* 111: 374–383.
- Reuter T and Aulrich K (2003) Investigations on genetically modified maize (Bt-maize) in pig nutrition: fate of feed-ingested foreign DNA in pig bodies. *Eur Food Res Technol* 216: 185-192.
- Rischer H and Oksman-Caldentey KM (2006) Unintended effects in genetically modified crops: revealed by metabolomics? *Trends Biotechnol* 24 (3) :102-104.
- Rissler J and Mellon M (1993) Perils amidst the promise. Ecological risks of transgenic crops in a global market. Union of Concerned Scientists, Cambridge, MA.
- Salyers A (1997) Horizontal gene transfer between prokaryotes. *Nordic Seminar on Antibiotic Resistance Marker Genes and Transgenic Plants*, p. 8-16. June 12-13, 1997, Oslo, Norway. The Norwegian Biotechnology Advisory Board.
- Sanvido O, Romeis J and Bigler F (2007) Ecological impacts of genetically modified crops: ten years of field research and commercialcultivation. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 107: 235-278.
- Schluter K, Futterer J and Potrykus I (1995) Horizontal gene-transfer from a transgenic potato line to a bacterial pathogen (*Erwinia-chrysanthem*) occurs, if at all, at an extremely low-frequency. *BioTechnology* 13: 1094-1098.
- Séralini G, Cellier D and de Vendomois JS (2007) New analysis of a rat feeding study with a genetically modified maize reveals signs of hepatorenal toxicity. *Arch Environ Contam Toxicol* 52: 596-602.
- Séralini G, de Vendômois JS, Cellier D, Sultan C, Buiatti M and Gallagher L (2009) How subchronic and chronic health effects can be neglected for GMOs, pesticides or chemicals. *Int J Biol Sci* 5: 438-443.
- Smalla K, Wellington E and van Elsas JD (1997) Natural background of bacterial antibiotic resistance genes in the environment. *Nordic Seminar on Antibiotic Resistance Marker Genes and Transgenic Plants*, p. 8-16. June 12-13, 1997, Oslo, Norway. The Norwegian Biotechnology Advisory Board. Stewart, K.K., Food Composition

- and Analysis in the Assessment of the Safety of Food Produced by Biotechnology, Food Technology, March 1992, pp. 103-107.
- Srivastava V and Anderson OD (1999) Single-copy transgenic wheat generated through the resolution of complex integration patterns. *Proc Nat Acad Sci USA* 96: 11117-11121.
- Tony MA, Butschke A, Broll A, Zagon J, Halle I, Danicke S, Schauzu M, Hafes HM and Flachowsky G (2003) Safety assessment of Bt 176 maize on broiler nutrition: degradation of maize-DNA and its metabolic fate. *Arch Anim Nutr* 57: 235-252.
- Tutel'ian VA, Gapparov MMG, Avrenieva LI, Aksyuk IN, Guseva GB, Kravchenko LV, et al. (2008) Medical and biological safety assessment of genetically modified maize event MON 88017. Report 1. Toxicologo-hygienic examinations. *Vopr Pitan* 77: 4-12 (in Russian).
- Tutel'ian VA, Gapparov MMG, Avrenyeva LI, Aksyuk IN, Guseva GV, Kravchenko LV, et al. (2009) Medical and biological safety assessment of genetically modified maize event MIR604: Report 1. Toxicologo-hygienic examinations. *Vopr Pitan* 78: 24-32 (in Russian).
- Tyshko NV, Aksyuk IN and Tutel'ian VA (2007) Safety assessment of genetically modified organisms of plant origin in the Russian Federation. *Biotechnol J* 2: 826-832.
- Tyshko NV, Britsina MV, Gmoshinsky IV, Zhanataev AK, Zakharova NS, Zorin SN, et al. (2008) Medical and biological safety assessment of genetically modified maize event MON 88017. Report 2. Genotoxicologic, immunologic and allergologic examinations. *Vopr Pitan* 77: 13-17 (in Russian).
- Van den Eede G, Aarts H, Buhk HJ, Corthier G, Flint HJ, Hammes W, Jacobsen B, Midvedt T, Van der Vossen J, von Wright A, Wackernagel W and Wilcks A (2004) The relevance of gene transfer to the safety of food and feed derived from GM plants. *Food Chem Toxicol* 42: 1127-1156.
- Wahl GM, de Saint Vincent BR and de Rose ML (1984) Effect of chromosomal position on amplification of transfected genes in animal cells. *Nature* 307: 516-520.
- Zhang X, Candas M, Griko NB, Taussig R and Bulla LA (2006) A mechanism of cell death involving an adenylyl cyclase/PKA signaling pathway is induced by the Cry1Ab toxin of *Bacillus thuringiensis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 103 (26): 9897-9902.