

RAPOR :

GIDA AMACIYLA İTHALİ İSTENEN GENETİĞİ DEĞİŞTİRİLMİŞ A2704-12 SOYA ÇEŞİDİ VE ÜRÜNLERİ İÇİN BİLİMSEL RİSK DEĞERLENDİRME RAPORU

RAPORUN HAZIRLANIŞ GEREKÇESİ ve DAYANAKLARI:

Bu rapor, glifosinat amonyum herbisitine tolerant genetiği değiştirilmiş (GD) A2704-12 soya çeşidinin gıda amaçlı ithalatı için 5977 sayılı Biyogüvenlik Kanunu ve ilgili Yönetmelik uyarınca Biyogüvenlik Kurulunun 03.03.2011 tarih ve 6 nolu kararı ile oluşturulan ve bu karar doğrultusunda görevlendirilen Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi tarafından hazırlanmıştır. Rapor hazırlanırken, söz konusu GD soya çeşidi ile ilgili bağımsız araştırma kurumları ve kişilerce yapılan bilimsel araştırmaların sonuçları, risk değerlendirmesi yapan değişik kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, FDA vb.) raporları ve ithalatçı firmaca dosyada sunulan belgeler incelenerek değerlendirilmiştir. Risk değerlendirmesi; gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler karakterizasyonu ve ürettiği proteinin ifadesi, çeşidin muhtemel alerjik, toksik ve çevresel riskleri ile gıda işleme teknolojileri dikkate alınarak yapılmıştır.

İTHALATÇI KURULUŞ:

Türkiye Gıda ve İçecek Sanayi Dernekleri Federasyonu İktisadi İşletmesi;
ÜNAK Gıda ve Kimyevi Maddeler San. Tic. Ltd. Şirketi.

İTHAL EDİLMEK İSTENEN ÇEŞİT ve ÜRÜNLERİ:

Glifosinat amonyum herbisitine tolerant A2704-12 kodu ile tanımlanan GD Soya dane ve ürünleri

ÇEŞİDİ GELİŞTİREN KURULUŞ:

Bayer Crop Science AG Alfred-Nobel-Strasse 50D - 40789 Monheimam Rhein –
Germany

ÇEŞİDİN GELİŞTİRİLME AMACI ve ÜRETİMİ:

Yabancı otlar, kültür bitkilerinde önemli verim ve kalite kayıplarına neden olan tarımsal üretimde mücadele edilmesi gereken arzu edilmeyen bitkilerdir. Yabancı otlarla kültürel önlemler (çapalama, elle yolma vb.) ve çoğunlukla da yabancı ot öldürücü kimyasallar olan herbisitler kullanılarak mücadele edilmektedir. Bu amaçla rekombinant DNA teknolojisindeki gelişmelere paralel olarak, glifosinat ve glifosat gibi geniş spektrumlu herbisitlere karşı dayanıklılık genleri kültür bitkilerine aktararak, herbisitlere tolerant ticari çeşitler geliştirilmiştir. Herbisite tolerant özellikteki bu çeşitlerin yetiştirildiği alanlarda herhangi bir gelişme döneminde söz konusu herbisit(ler) kullanılarak tüm yabancı otlara karşı etkin bir mücadele yapılabilmektedir.

Bu başvuruda, glifosinat herbisitine tolerant GD A2704-12 soya çeşidi için gıda amaçlı ithal izni talep edilmektedir. GD bitki üretimi 1996 yılında 1,7 milyon hektar alanda yapılırken, bu oran 2011 yılında 160 milyon hektara ulaşmıştır. 2011 yılında da GD soya bu üretimde 75,4 milyon hektarla ilk sırada yer almış ve dünyada bulunan tüm biyoteknolojik ekim alanlarının %47'sini oluşturmuştur. Ayrıca, günümüzde dünya genelinde üretilen soyanın %70'i herbisitlere tolerant GD soya çeşitleridir (James, 2011). Yine, en fazla soya üreticisi ve ihracatçısı olan ABD, Arjantin ve Brezilya gibi ülkelerde üretilen soyanın büyük bir kısmı (sırasıyla %91, %99 ve %71) GD herbisitlere tolerant soya çeşitlerinden oluşmaktadır. Avrupa Birliği, yem ve gıda endüstrisinde kullanmak üzere bu ülkelerden her yıl yaklaşık 30 milyon tonun üzerinde soya ve ürünlerini ithal etmektedir.

RİSK ANALİZİ ve DEĞERLENDİRMESİ:

GD A2704-12 soya ve ürünlerine ait bilimsel risk analiz ve değerlendirilmesi; bu çeşidin geliştirilmesinde kullanılan gen aktarım yöntemi, aktarılan genin moleküler karakterizasyonu ve ürettiği protein, besin değeri, insan için olası alerjik ve toksik etkiler, çevreye gen kaçıışı ve gıda işleme teknolojileri ile oluşabilecek riskler dikkate alınarak yapılmıştır.

Bu çeşitle ilgili bilimsel risk değerlendirilmesi yapılırken; çok sayıda bilimsel araştırma sonucu (alerjik ve toksijenik etki analizleri, genetik modifikasyonun stabilitesi, morfolojik ve agronomik özellikler, hayvan besleme çalışmaları da incelenerek, hedef dışı organizmalara etkisi vb.) risk değerlendirilmesi yapan kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, FDA) raporları ve bu çeşitle ilgili ithalatçı firmaca dosyada sunulan belgeler göz önünde bulundurulmuştur. Bu GD soya çeşidinin gıda olarak kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler değerlendirilmiştir. Ayrıca bu çeşide ait tohumların kaza ile doğaya yayılarak yetişmesi halinde ortaya çıkabilecek tarımsal ve çevresel riskler de dikkate alınmıştır.

Moleküler Genetik Yapı Karakterizasyonu ve Risk Analizi:

- **Aktarılan genleri taşıyan vektörlerin yapısı ve gen aktarım yöntemi**

pUC19 plazmidinden türetilmiş olan pB2/35Sack vektörü ColE1 replikasyon orijini ve bakterilerde ampisilin direncini sağlayan *bla* geni içermektedir. Ek olarak plazmid vektör *Agrobacterium tumefaciens* TiAch5 Ti plazmidinin sağ sınır T-DNA dizisi ile bitkilerin glifosinat amonyum herbisitine karşı tolerant olmasını sağlayan *Streptomyces viridochromogenes* kökenli fosfinotrisin asetil-transferaz (*pat*) geninin ekspresyon (gen ifadesi) kasetini içermektedir. Bitkilerde yüksek oranda ekspresyon için optimize edilmiş sentetik *pat* geni, bu kasette karnabahar mozayik virüsüne ait **35S** promotör ve **35S** terminatör bölgeleri tarafından kontrol edilmektedir. Gen aktarımı için kullanılacak olan pB2/35Sack vektörü, son olarak *bla* geninin bitkilerde ekspresyonunu engellemek için *PvuI* restriksiyon enzimiyle (kesme enzimi) kesilmiştir. Bu kesim sonucunda (1) *pat* gen kaseti ve *bla* geninin 3' ucu ile (2) *bla* geninin 5' ucu ve sağ sınır bölgesi olmak üzere iki fragment (DNA parçası) oluşturulmuştur. Daha sonra *PvuI* restriksiyon enzimi ile kesilmiş olan bu pB2/35Sack vektörü, partikül bombardımanı yöntemiyle soya tohumlarından elde edilen embriyonik sürgün uçlarına aktarılmıştır (EFSA, 2007).

- **Aktarılan genlerin moleküler yapı, ifade ve kararlılık analizleri**

Yapılan analizlere göre, *pat* ekspresyon kaseti, genomik DNA'da tek lokusta iki kopya halinde bulunmuştur. İki *pat* ekspresyon kaseti arasında yer alan *bla* geninin 3' ve 5' parçaları birbirlerine göre ters konumda buldukları için, işlevsel bir *bla* geni oluşturmamaktadır. Genetik olarak değiştirilmiş A2704-12 soya çeşidi genomuna eklenen nükleotid dizilimi, aktarılan pB2/35Sack vektörü ile bire bir aynı olup, 6780 baz çifti uzunluğundadır. Bu nükleotid dizisinin 3' ve 5' uçlarının analizi, parçanın soya genomuyla entegre olduğunu göstermektedir. Ayrıca gen entegrasyonunun soya genomunda 2082 baz çifti uzunluğunda bir bölgenin eksilmesine neden olduğu bulunmuştur. Biyoinformatik analizler, bu eksilmenin, *Arabidopsis thaliana*'da var olan bir transkripsiyon faktörünün homoloğu olduğu düşünülen bir genin içinde bulunduğunu göstermiştir. Ancak bu kısmi eksilmenin, üretim süreçlerinde şekilsel, düzensel veya tarımsal olarak herhangi bir beklenmedik değişikliğe neden olmadığı saptanmıştır (EFSA, 2007).

Northern blot analizlerinde *bla* geninin ifadesi tespit edilemezken, *pat* ekspresyon kasetinin ifadesi, sera ve tarla koşullarında test edilmiştir. Kök, gövde, yapraklar ve tohumlarda tespit edilen *pat* geni ekspresyonu, ABD ve Kanada'da, 12 farklı bölgede 1996-1999 yılları arasında incelenmiş ve ortalama PAT enzim konsantrasyonunun herbisit uygulamasıyla büyük ölçüde değişmediği belirlenmiştir (EFSA, 2007).

GD **A2704-12** soya çeşidine aktarılan genler, Mendel kalıtım kurallarına göre döllere geçiş göstermiştir. En az 3 farklı coğrafik bölgede, 12 kuşak incelenerek aktarılan

genin kararlılığı değerlendirilmiştir. Ek olarak, aktarılan bu genler klasik ıslah yöntemleriyle farklı genetik yapıdaki soya bitkilerine aktararak da kontrol edilmiştir. **A2704-12** soya çeşidine aktarılan transgenlerin moleküler ve genetik açıdan kararlı olduğu, farklı çevresel koşullar ile farklı genotiplerde ve uzun kuşaklar boyunca gösterilmiştir (EFSA, 2007).

Sonuç: Bilimsel Komite, glifosinat amonyum herbisitine karşı tolerant kılan *pat* geniyle birlikte pB2/35Sack vektörüne ait DNA dizisi ile bakterilerde ampisiline direnç geliştirilmesinden sorumlu *bla* geninin GD A2704-12 soya çeşidine geçtiği, ancak bu çeşitte ifade edilmediği ve aktarılan genin izlenen kuşaklar boyunca kararlı olduğu görüşüne varmıştır.

Kimyasal Kompozisyon ve Tarımsal Özelliklerin Risk Analizi:

Karşılaştırmalı analizlerde GD **A2704-12** soya çeşidi, bu çeşidin kaynağı olan genetiği değiştirilmemiş ve ABD’de yaygın olarak üretilen A2704 çeşidi ile karşılaştırılmıştır. Tarla denemeleri 1999 ve 2000 yıllarında ABD’nin farklı eyaletlerinde ve Kanada’da yürütülmüştür.

- **Kimyasal Kompozisyon Analizi**

Kimyasal kompozisyon analizleri, tarla denemeleri sırasında hasat edilen tohumlarda, OECD’nin (2001) tavsiyeleri ile uyumlu olarak, farklı bitki kısımlarında lif bileşenleri, mineraller, vitaminler, amino asit grupları, yağ asitleri, fitik asit, tripsin inhibitörleri, lektinler, stakiyoz, rafinoz ve diğer ikincil metabolitler (isoflavinler) üzerinden yapılmıştır. Bu analizlerde, GD soya ile genetiği değiştirilmemiş eşdeğeri arasında farklılıklar (artma/azalma) gözlenirse de, bu farklılıkların büyük bir bölümü doğal değişim sınırları içinde kalmıştır (Harrigan ve ark., 2010). PAT proteini ifade eden bitkiler ile yapılan diğer bazı çalışmalarda ise, GD ve GD olmayan bitkiler arasında yukarıda belirtilen özellikler açısından önemli farklılıklar bulunmuş ancak bu farklılıklar PAT proteini ifadesi ile ilişkilendirilememiştir. Gerçekleştirilen kompozisyon ve besin analizlerinde ise herhangi bir ikincil metabolit (pamukta gossipol veya kolzada glukosinolat gibi moleküller) veya toksik madde bulunmamıştır (CERA, 2011).

Vitamin E içeriği bakımından incelendiğinde, GD olmayan, GD olup glifosinat amonyum püskürtülmüş ve püskürtülmemiş soya ile gerçekleştirilen çalışmalarda, bitkiler arasında önemli farklılıkların bulunmadığı, ayrıca vitamin E’nin farklı bölgelerde yetişen bitkilerde iklime göre de değişim gösterebileceği ifade edilmiştir. İçerdiği isoflavonlar açısından da GD ve GD olmayan bitkiler arasında farklılıklar gözlenmiş, ancak bu farklılıkların OECD (2001) raporunda belirtilen aralık içinde olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, işlenmiş yiyecek ve yemlerde, saman, kabuk, ham lesitin, protein izolatu vb. açısından genetiği değiştirilmiş ve değiştirilmemiş çeşitlerin benzerlik gösterdiği doğrulanmıştır (EFSA, 2007).

A2704-12 transgenik bitkiler protein içerikleri açısından incelendiğinde, GD bitkilerin GD olmayanlara kıyasla %2.3 gibi önemli bir oranda daha fazla protein içerdikleri gösterilmiştir (FSANZ, 2004).

GD A2704-12 bitkilerdeki 18 amino asit incelenmiş ve kontrole göre önemli değişiklikler bulunmuştur. Bu durum, transgenik tohumlarda total amino asit miktarının kontrol tohumlarından bir miktar yüksek olması ile uyumlu bir bulgudur. GD ve GD olmayan bitkiler, sistein, glutamik asit, glisin, histidin, metionin, triptofan ve valin amino asitleri açısından önemli fark göstermemiştir. Diğerleri ise istatistiksel açıdan önemli farklılıklar göstermiştir ve en önemli farklılık ortalama %8.5 ile tirozin için bulunmuştur (FSANZ, 2004).

GD ve GD olmayan bitkiler kalsiyum, fosfor, potasyum gibi mineraller açısından değerlendirildiğinde, kalsiyum ve potasyum açısından önemli bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir. Fosfor açısından ise iki bölgeden alınan (Illinois ve Iowa) örneklerde bir farklılık bulunmazken, Nebraska'dan alınan örneklerde GD bitkilerde bu mineral daha yüksek bulunmuştur. Tüm örnekler incelendiğinde, iki yönlü analizlerde önemli farklılık bulunmuştur. Ancak sonuçlar, literatürde verilen sınırlar içindedir (FSANZ, 2004).

Transgenik soya hattı A2704-12 ve kontrol hatlarından elde edilen rafine soya yağı ile yapılan kompozisyon analiz sonuçlarına göre, C8:0, C10:0, C11:0, C12:0, C13:0, C14:0, C14:1, C15:0, C15:1, C16:1, C16:2, C16:3, C17:0, C17:1, C18:4, C20:2, C20:3, C20:4, C20:5, C21:5, C22:1-6, C24:0 ve C24:1 gibi yağ asitleri tespit edilebilir sınırların altında (<%0.10) bulunmuştur. Rafine soya yağında bulunan yağ asitleri ile ilgili istatistiksel bir analiz yapılmamıştır. A2704-12 için yapılan analizlerde, GD ve GD olmayan kontrol tohumlarında belirlenen farklılık oranı % 4.3 ile %10 arasında değişmiştir. Örneklerdeki yağ asiti oranı, USFDA'nın soya yağı ile ilgili referans sınır değerlerine benzer tespit edilmiştir (FSANZ, 2004). Rafine transgenik soya yağı profili kontrol soya yağı ile aynı bulunmuştur. Sonuç olarak, GD ve kontrol hatlardan elde edilen yağlar arasında önemli farklılık yoktur.

GD ve GD olmayan bitkilerden elde edilmiş küspenin ham besin madde içeriği (kuru madde, total protein, yağ veya diğer eter özütleri, kül (mineral), (kaba) lif vb.) ve sekonder metabolitler incelenmiş olup, besin değeri açısından farklılık bulunmamıştır. A2704-12 soya izolatlarında, amino asit grupları incelendiğinde besin değeri açısından önemli olmayan bazı farklılıkların olduğu ifade edilmiştir. Ham lesitin fosfolipid profili açısından incelendiğinde, kontrol ile GD bitkilerden elde edilen değerler de birbirine benzerdir ve besin değeri açısından önemli değildir (FSANZ, 2004).

- **Tarımsal Özelliklerin Analizi**

GD ve GD olmayan soya çeşitleri üzerinde, tarımsal performans değerlendirmeleri 1996'da ABD'de, 1998'de ise Kanada'da yapılmıştır. Göz önünde bulundurulan parametreler olan bitki boyu, tohum ve çiçek morfolojisi bakımından çeşitlerde, kazandırılan özellik dışında tarımsal özellik bakımından önemli bir farka rastlanmamıştır (EFSA, 2007).

Sonuç olarak; Bilimsel Komite, GD A2704-12 soya çeşidinin yukarıda belirtilen besin içeriği (PAT proteini dışında) ve tarımsal özelliklerinin ulaşılabilen kaynaklar doğrultusunda genetik olarak değiştirilmemiş çeşitlerle benzer olduğu kanısına varmıştır. Ancak GD ve GD olmayan bitkiler arasında proteinlerde bulunan önemli farklılığın PAT proteini ifadesi ile ilişkili olup olmadığının belirlenememesini dikkat çekici bulmuştur.

Toksisite Değerlendirilmesi:

A-2704 soya bitkisinin PAT proteini dışında herhangi yeni bir içerik bulundurmadığı kompozisyon analizleri ile gösterilmiştir. Bitkide aktarılan vektörden yalnızca PAT proteini ifade edildiği için, toksisite çalışmaları bu protein üzerinde gerçekleştirilmiştir. Dişi farelere, damar içi enjeksiyonlarla 10 mg/kg gibi yüksek dozlarda protein verilmiş ve 15 gün süreyle izlenmiştir. Uygulanan bu yüksek dozda bile akut sistemik toksisiteye rastlanmamıştır. Ayrıca, PAT proteini sindirimi ile ilgili *in vitro* deneyler yapılmıştır. Bu deneylerde 25 kDa'luk PAT proteini mide sıvısı benzeri ortamda tutulmuş, proteinler SDS-PAGE jel elektroforezinde Coomassie blue ile boyanarak incelenmiştir. Sonuçta proteinin hızlı bir şekilde parçalandığı (pH 2'de 30 sn) gösterilmiştir. Ayrıca, bağırsak sıvısı benzeri içinde (pH 7.5) pankreatin varlığında inkübe edilen proteinin saniyeler içerisinde parçalandığı da Western Blot analizi ile tespit edilmiştir. Parçalanma esnasında 5 ile 14 kDa ağırlığında geçici parçalar oluşmuş ve inkübasyondan sonra 5 dakika içinde bu parçalar kaybolmuşlardır (EFSA, 2007). Yapılan diğer çalışmalarda da PAT proteininin insanlara veya hayvanlara toksik olabileceğine dair herhangi bir kanıt bulunamamıştır (Herouet, 2002(b); Herouet ve ark., 2005). Diğer yandan biyoinformatik analiz sonuçlarına göre de, PAT proteini amino asit dizisinin bilinen toksik proteinlerle herhangi bir benzerlik göstermediği saptanmıştır (Herouet, 2002(a), Herouet ve ark., 2005).

Sonuç olarak; Bilimsel Komite, GD A2704-12 soya çeşidinin yukarıda belirtilen toksikolojik özelliklerinin ulaşılabilen kaynaklar doğrultusunda genetik olarak değiştirilmemiş çeşitlerle benzer ancak insanlara etkisini değerlendirmek için daha fazla çalışmaya gerek olduğu sonucuna varmıştır.

Alerjenite Değerlendirmesi:

Potansiyel alerji riskleri değerlendirilirken kullanılan stratejiler; rekombinant proteinin kaynağının karakterizasyonu, yeni ifade edilen proteinin herhangi bir duyarlılığa neden olup olmadığı veya duyarlı bireylerde alerjik reaksiyona neden olup olmadığı ve modifiye edilen gıdanın alerjik özelliklerinin değişip değişmediğidir. Ayrıca, değerlendirmenin tek bir deneye göre değil, birçok veri ve kanıta göre yapılması gerekmektedir (CAC, 2003).

Pat geni kaynağı bir toprak mikroorganizması olan ve herhangi bir alerjik etkisi bulunmayan *Streptomyces viridochromogenes* bakterisidir.

GD A2704-12 soya hattının ifade ettiği tek yeni protein PAT proteinidir. PAT proteini soya tohumlarında 573-2138 ng/g oranında (total proteinin en fazla %0.00056'sı) bulunmaktadır. Soya ürünleri (kabuk, küspe, lesitin, rafine yağ, soya izolatları) içinde ise bu oran çok azalmakta, hatta tespit edilemeyecek düzeylere inmektedir (FSANZ, 2004).

Bilinen gıda alerjenleri genellikle glikozilasyona uğrayan, ısı denatürasyonuna dayanıklı, pişirme gibi yüksek sıcaklık işlemlerinde kararlılığı bozulmayan proteinlerdir. Buna karşın PAT proteinlerinde glikolizasyon bölgesi bulunmamakta ve Western blot analizlerine göre de herhangi bir glikolizasyon işlemi geçirmemektedirler (Herouet, 2002(b); Herouet ve ark, 2005). Çalışmalar sonucunda enzimin ısıya duyarlı olduğu ve 75°C üzerinde denatüre olduğu tespit edilmiştir. Buna ek olarak, Schulz ve ark. (1997), saflaştırılmış proteinin 40°C'ın üzerindeki sıcaklıklarda denatüre olduğunu göstermişlerdir.

Gıda alerjenlerinin birçoğu sindirim sisteminin peptik veya asidik ortamlarında kararlı durumda kalırlar ve bağırsak mukozasını geçmeleri durumunda da alerjik reaksiyonları ortaya çıkarırlar (Kimber ve ark. 1999; Astwood ve ark. 1996; Metcalfe ve ark., 1996). PAT proteininin pepsin içeren mide benzeri ortamda 5 saniyeden az bir sürede, pankreatin, amilaz, tripsin, lipaz, ribonükleaz ve proteaz içeren bağırsak sıvısı benzeri ortamlarda yaklaşık 15 dakika içinde sindirildiği gösterilmiştir (Schulz, 1993; Schulz, ve ark. 1997; FSANZ, 2004).

PAT proteini amino asit dizisi, SwissProt, trEMBL, GeneSeq-Prot, PIR, PDB, DAD and GenPept. gibi bilinen tüm protein veritabanlarında bulunan alerjen proteinlere ait epitoplarla karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma yapılırken birbirini izleyen 8 amino asitin alerjik bir protein ile %100 benzerliği ölçüt olarak alınmış ve değerlendirme yapılmıştır. Bu tarama sonucunda bilinen hiçbir alerjen ile benzerlik bulunamamıştır (Herouet, 2002(a); Herouet ve ark., 2005).

Transgenin alıcı genoma rastgele yerleşmesinin endojen proteinlerin ifade şekilleri üzerinde nitelik veya nicelik bakımından yaratabileceği olası değişiklikler göz önünde

bulundurularak, tüm bitkinin alerjenitesinde bir değişiklik olup olmadığı, soya alerjisi olan insan serumlarında yapılan araştırmalarla test edilmiş ve herhangi bir değişikliğe rastlanmamıştır (EFSA, 2007; Lehrer ve Reese, 1997).

Kim ve ark. (2006) yetişkinlerde izogenik kontrol soya ile GD soya özütlerinin alerjenitesinin aynı olduğunu belirtmişlerdir. Buna karşın bazı araştırmacılar, insanlar için GD soya ve diğer GD ürünlerin alerjeniteleri için daha fazla çalışma yapılması gerektiğini ifade etmişlerdir (Yum ve ark., 2005; Cantani, 2006; Cromwell ve ark., 2002; McCann ve ark., 2005).

Sonuç olarak; Bilimsel Komite, GD A2704-12 soya çeşidinin, alerjenite yönünden genetik olarak değiştirilmemiş eşdeğeriyle benzer olduğu ancak daha fazla çalışma yapılmasının gerekli olduğu sonucuna varmıştır.

Çevresel Risk Değerlendirmesi:

GD A2704-12 soya başvurusu, yalnızca gıda amaçlı ithalat için yapılmıştır. Dolayısıyla çevresel risk analizleri, taşıma ve işleme esnasında kazayla çevreye yayılma ile sınırlı tutulmuştur.

• Genetik Değişiklikten Kaynaklanabilecek Yayılma Potansiyeli

Soya (*Glycine max*), genellikle kendi kendine döllen bir bitkidir. Gen kaçışının potansiyel kaynakları tohum ve polen olarak bilinmektedir. Soya tohumlarının hayvanlar aracılığıyla taşınması, tohum yapısı bakımından elverişsiz olup, tohumların doğaya kaçışının taşıma süreçleri sırasında gerçekleşebileceği düşünölmektedir. Soya tohumlarının ender olarak dormansi göstermesi, sadece uygun koşullar altında izleyen yılda da büyüyebilmeleri, tohumların yenmesi, çürümesi, kışın çimlenme ve tarım uygulamaları nedeniyle soya bitkileri agro-ekosistemde canlılığını sürdürememektedir (Mallory-Smith ve Zapiola, 2008). Bu nedenle, GD **A2704-12** soya çeşidinin, glifosinat uygulanan araziler dışında, diğer türlere kıyasla daha uyumlu olabileceği düşünölmemektedir.

Tarla denemeleri, GD **A2704-12** soya çeşidinin, kaynağı olan genetik olarak değiştirilmemiş A2704 çeşidi ile hayatta kalma, üreme ve yayılma özellikleri bakımından, glifosinat herbisiti uygulaması dışında, herhangi bir fark göstermediği bulunmuştur. Ayrıca, GD **A2704-12** soya çeşidinde, istilacı özelliğe neden olacak herhangi bir genetik modifikasyon kanıtı bulunamamıştır (EFSA, 2007).

Sonuç olarak; Bilimsel Komite, GD A2704-12 soya çeşidinin, çevreye yayılma potansiyeli yönünden genetik olarak değiştirilmemiş eşdeğeriyle benzer olduğu sonucuna varmıştır.

- **Bitkiden bitkiye gen kaçıışı**

Gıda amaçlı olarak GD **A2704-12** soya çeşidinin ülkemize girişi bitkiden bitkiye gen kaçıışının ancak kaza ile çevreye yayılması ile mümkün olabilir. Kaza ile çevreye yayılan GD A2704-12 soya çeşidinden yabancı soya türlerine ve kültür çeşitlerine gen kaçıışı, bunların ülkemizde yaygın olarak bulunup bulunmadığına bağlıdır. Ülkemizin yabancı soya türlerinin gen merkezi olmaması ve kültürü yapılan soya çeşitlerinin ülkemizde yaygın olarak üretilmemesi GD soyadan gen kaçıışı olasılığını en aza indirmektedir. Ayrıca, soya polenlerinin tomurcuklarda olgunlaşması ve doğrudan aynı çiçekteki stigmayı tozlaması nedeniyle, bu bitkide yabancı tozlanma oranının %0.7-6.3 arasında değiştiği bilinmektedir (EFSA Journal, 2007, Chandler ve Dunwell, 2008; Ray et al 2003; Ahrent ve Caviness 1994). Ancak bu durumda bile, ekimi yapılan soya ile tohumun çevreye kaçması sonucu yetiştirilecek soya arasında yabancı tozlanma ihtimali çok düşüktür. Buna rağmen ekimi yapılan alanlara bir transgen geçişi olursa, ancak glufosinat herbisiti uygulanan bölgelerde seçici avantaj kazanması mümkün olabilmektedir (EFSA Journal, 2007).

Sonuç olarak; GD A2704-12 soya çeşidi ülkemizde yalnızca gıda amaçlı kullanılacağından ve üretimi yapılmayacağından, kazayla oluşabilecek yayılmalardan gelişen bitkilerden, kültürü yapılan soyaya gen kaçıışının son derece düşük olacağı düşünülmektedir.

- **Bitkiden bakteriye gen kaçıışı**

GD **A2704-12** soya çeşidinden üretilen besinlerde bulunan trans-genlerin, sindirim sistemlerinde bulunan mikroorganizmalarla karşılaşma riski bulunmaktadır. Bitki DNA'sının memelilerin sindirim sisteminde büyük oranda ve hızla parçalanmasına karşın, kalın bağırsakta DNA parçalarına rastlanabilmektedir (Eede ve ark., 2004). Öte yandan bu gen parçalarının prokaryot genomuyla birleşme olasılığının doğada rastlanılandan daha fazla olmadığı belirtilmektedir (Nielsen ve ark. 1998; Keese, 2008;). Ancak, *pat* geninin kökeni göz önünde bulundurulduğunda, sindirim kanalında bu gen için seçici baskının yokluğu nedeniyle, genin bakterilere yatay geçişi oldukça olağan dışı olarak kabul edilmekte ve yayınlarca da desteklenmektedir. Transgenin, son derece olağan dışı bir şekilde aktarılması durumunda bile, insan ve hayvanlara zararlı olması beklenmemektedir (EFSA Journal, 2007).

Gıda İşleme Teknolojileri

Tohumlarda ve bitkinin farklı kısımlarında lif bileşenleri, mineraller, vitaminler, amino asit grupları, yağ asitleri, fitik asit, tripsin inhibitörleri, lektinler, stakiyoz, rafinoz ve diğer ikincil metabolitler (isoflavinler) analiz edilmiştir. Bu analizlerde, GD ve GD olmayan eşdeğeri soya arasında farklılıklar (artma/azalma) gözlenmiştir. (Harrigan ve ark., 2010). Rafine transgenik soya yağı profili ise kontrol eşdeğeri soya yağı ile aynı bulunmuştur.

Soya tohumu gıda sektörü için önemli bir hammaddedir ve çok sayıda gıda maddesinin bileşimine girmektedir. GD soya ve ürünlerini içeren gıdalar işlem görüp görmediklerine göre, ya doğrudan aktarılan gen tarafından sentezlenen proteinin veya uygulanan işlemin etkinliğine göre farklı boyutlarda söz konusu DNA parçalarını içerebilmektedir.

PAT proteini soya küspesi, ham lesitin ve rafine yağda ölçülebilir düzeyde değildir. Ölçülebilir PAT proteini, tohumda, tohum kabuğunda ve çok düşük miktarlarda da küspede ve soya izolatlarında bulunmuştur. Ölçülebilir ham protein içinde PAT proteini tohumda %0,00056, kabukta %0.00092 oranında, küspe ve soya izolatlarında ise %0.000002' den azdır (Bayer CropScience, 2003).

Soya yağıyla ilgili çalışmalarda ise, daha çok rafinasyon koşullarının kalıntı DNA üzerine etkileri incelenmiştir. GD soyadan elde edilmiş soya yağları ile ticari soya yağlarını DNA açısından benzer bulan çalışmalar vardır (Padgett ve ark. 1996, Pauli ve ark. 1998, Gryson ve ark. 2002, Gryson ve ark. 2004). Buna göre, ham soya yağında yüksek konsantrasyonda ve değişik uzunlukta DNA parçası bulunmasına rağmen, rafinasyonda ilk aşama olan yapışkan maddelerin alınması işleminin (degumming) DNA'yı uzaklaştırmada en önemli uygulama olduğu, çünkü DNA'nın su fazında yoğunlaşarak işlem sonunda lesitin-su fraksiyonunda kaldığı ifade edilmiştir. Fiziksel rafinasyonda ise asit-degumming işlemi uygulanmış ve bu işlemde sonra DNA'nın belirlenebilecek düzeyin altında kaldığı saptanmıştır. Bu çalışmalarda, degumming işleminden sonra yağda kalıntı DNA tespit edilememiştir. Analiz için kullanılan örnek miktarı 5 g yerine 200-300 g'a çıkarıldığında DNA pelletleri elde edilebilmiştir. Bu bulgular, degumming işleminin DNA'yı tamamen uzaklaştırmadığını ve test edilecek örnek miktarı artırılarak pozitif PCR sonuçları alınabileceğini göstermektedir. Ayrıca, söz konusu örnek miktarı kalıntı fosfor ile de ilişkili bulunmuştur. Örnek miktarı artırılarak yapılan çalışmalarda, rafine yağlarda PCR ile yapılan analiz sonuçlarına göre, aktarılan genleri de içeren çok düşük miktarlarda kısa (yaklaşık 100 baz çifti) DNA parçalarına rastlanmıştır (Bogani ve ark., 2009; Costa ve ark. 2010a; 2010b).

Sonuç olarak; GD A2704-12 soya çeşidinin içerdiği glifosinat herbisitine toleransı sağlayan PAT enzimi gıda işleme sırasında pH ve ısıya bağlı olarak parçalanmaktadır. Ham yağlarda bu enzime ait transgenik DNA parçaları ölçülebilir düzeyde bulunmasına rağmen, rafine yağlarda DNA parçalarına rastlanılmamıştır. Rafine yağlarda, incelenen örnek miktarı artırıldığında, çok kısa ve düşük düzeylerde DNA tespit edilebilse bile, Bilimsel Komite söz konusu bulguların önemli olmadığı kanaatine varmıştır.

GENEL SONUÇ ve ÖNERİLER

Bilimsel Komite, GD **A2704-12** soya çeşidinin gıda olarak kullanımı amacıyla ithal edilmesinin olası risklerini değerlendirmiştir. GD **A2704-12** soya çeşidine biyoteknolojik yöntemlerle aktarılan genlerin yapısı, DNA dizilimi, promotör ve terminatör bölgeleri, ekstra DNA dizileri ve gen aktarım yöntemi ayrıntılı olarak

incelenmiştir. Bu çeşitle ilgili bilimsel araştırmaların sonuçları (alerjik ve toksik etki analizleri, genetik değişimin kararlılığı, morfolojik ve tarımsal özellikler, vb.) ve risk değerlendirilmesi yapan çeşitli kuruluşların (EFSA, WHO, FAO, FDA, OECD) raporları ile başvuru dosyasında yer alan dokümanlar incelenmiştir. Yine bu GD çeşitle yapılan hayvan besleme çalışmaları da incelenerek yalnızca gıda olarak kullanımı sonucu ortaya çıkabilecek riskler değerlendirilmiştir. Ek olarak bu soya çeşidinin ülkemizde kazayla yayılması durumunda ortaya çıkabilecek tarımsal ve çevresel riskler de göz önünde bulundurulmuştur.

GD A2704-12 soya çeşidinin ve içerdiği glifosinat amonyum herbisitine tolerant kılan *Streptomyces viridochromogenes* orijinli 2 kopya olarak geçen **pat** (phosphinothricin-N-acetyltransferase) geni ile ürettiği proteinin ve bu geni kontrol eden karnabahar mozayik virüsüne ait **35S** promotör ve **35S** terminatör bölgelerinin ve ayrıca bu kasetle birlikte çeşide geçen parçalanmış ve ifade edilmeyen β -laktam grubu antibiyotiklere direnç sağlayan β -laktamaz (**bla**) genini içeren bu çeşidin gıda olarak kullanılmasını değerlendirilmiştir. Ancak, Bilimsel Komite, glifosinat amonyum herbisitine karşı tolerant kılan **pat** geniyle birlikte pB2/35SAcK vektörüne ait DNA dizisi ile bakterilerde ampisilin direncini sağlayan **bla** geninin de bitkilere geçmesinin zorunlu olmadığını dikkate almıştır. Her ne kadar bu DNA dizilerinin belirtilen riskleri taşımadığı ifade edilse de, GD A2704-12 soya çeşidinde bulunmalarının gerekli olmadığı düşünülmüştür. Karşılaştırmalı analizler, GD **A2704-12** soya çeşidinin, geleneksel soya çeşitleri kadar güvenli olduğunu, alerjenite bakımından bir değişikliğe uğramadığını ve besin içeriği ile tarımsal özellikleri açısından da bir fark bulunmadığını göstermiştir. GD **A2704-12** soya çeşidinin kazayla çevreye yayılması durumunda, geleneksel çeşitlerden farklı bir çevresel etkinin oluşması olasılığı da düşüktür.

Erişilebilen bu bilimsel veriler ışığında, Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi;

GD A2704-12 soya ve ürünlerinin ülkemize ithal edilerek '**gıda ve bileşenleri olarak**' kullanılmasını değerlendirmiştir. Türkiye'nin de taraf olduğu ve uluslararası bağlayıcılığı olan Cartagena Biyogüvenlik Protokolü'ne göre "**İhtiyatlılık ilkesi**" Antlaşma'nın en yaşamsal maddesi olup "**güvenlik konusunda bir bilimsel bilgi ya da uzlaşma eksikliği olduğunda, ülkelerin GD ürünlerin ithalatını ve kullanımını yasaklama veya sınırlandırma hakkı olduğunu**" hüküm altına alır. Toksikolojik çalışmalarda kimi sınırlı bilgiler elde edilse de, insan sağlığı açısından olası olumsuz etkilerinin ortaya konmasını sağlayacak kesin bilgiler ve sonuçlar için daha çok bilimsel çalışma yapılmasının gerekli olduğu sonucuna varmıştır.

Çok az sayıda deney hayvanları ile yapılan deneysel araştırmalar ve aktarılan genlerden üretilen proteinler ile GD 2704-12 soyanın gıda olarak tüketilmesi sonucunda, insanlar üzerinde risk oluşturmayacağına ait kesin veriler elde edilememiştir.

Gönüllü insanlarda yapılmış araştırmalar bulunmamakla birlikte, ankete dayalı (GD soya tüketip tüketmediği sorgulanarak) yapılan çalışmalarda bazı olumsuz etkiler bildirilmiş olsa da, bu çalışmalarda uygulanan yöntemler başta süre sınırlılığı olmak üzere tartışmaya açıktır. Diğer yandan bu GD eşidinin en az 10 yıldan beri tüketilmesinden kaynaklanan sorunları bildiren herhangi bir yayına da ulaşılamamıştır.

Toksikolojik çalışmalarda bazı bilgiler elde edilse de, Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi, insan sağlığı açısından etkilerini ortaya koyan kesin bilgiler ve sonuçlar için daha fazla bilimsel çalışma yapılmasının gerekli olduğu, bu nedenle **GD A2704-12** soya ve ürünlerinin "**yalnızca tam rafine yağ elde etme amacı ile kullanılması**" durumunda insan sağlığı açısından riskli olmayabileceği görüşüne varmıştır.

Risk Yönetimi

Risk yönetiminin planlanması ve bu Planının uygulanması, Bilimsel Risk Değerlendirme Komitesi'nin sorumluluğu dışındadır. Ancak Komite, ithalat izni isteyen firma tarafından sunulması gereken **Risk Yönetim Planı**'nı, bilimsel açıdan değerlendirir. **A2704-12** soya çeşidinin taşınma ve işlenmesi sırasında kazayla çevreye yayılması sonucu olası çevresel riskler ortaya çıkabilir. Bu durumda 5977 sayılı Biyogüvenlik Yasası ve ilgili yönetmelikler uyarınca gerekli önlemler alınmalıdır. İthalat izni isteyen firma tarafından sunulması gereken Risk Yönetim Planı;

1- GD **A2704-12** soya çeşidinin evre, hayvan ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri dikkate alınarak, merkezi sistem yolu ile ithalatçı firma tarafından operatörler (ürünü işleyenler ve kullanıcılar) bilgilendirilmelidir.

2- Ürünü işleyen kişiler tarafından kaydedilen bilgiler, ulusal düzeyde bir eşgüdüm ve bilgi sistem ağı (Europa Bio benzeri) kurulmalıdır.

3- Elde gözetim sistemi ağı varsa, bu amaçla kullanılabilir. GD ürünlerin kaza ile ve/veya sabotajla büyük ölçekte çevreye yayılması durumlarında alınacak hızlı ve kapsamlı önlemlerin **Ulusal Afet Planları** ile gerektiğinde ilişkilendirilerek değerlendirilmesi ve planlanması uygun olacaktır.

İthalat izni isteyen firma(lar), bu izin verilirse yıllık olarak **Genel Gözetim Raporunu** ve ithal izni sonunda **Genel Değerlendirme Raporunu** Bakanlığa sunacaktır. Doğrulanın herhangi bir olumsuz etki durumunda ithalatçı firma(lar), ilgili Bakanlık birimlerini derhal yazılı olarak bilgilendirmek zorundadır.

KAYNAKLAR

Ahrent DK, Caviness CE, 1994. Natural cross-pollination of twelve soybean cultivars in Arkansas. Crop Science, 34. 376-378.

Astwood JD, Fuchs RL, 1996. Allergenicity of foods derived from transgenic plants. *in* Ortolani, C. and Wuthrich, B. (eds.) Highlights in food allergy. Monographs in Allergy, 32: 105-120.

Bayer CropScience, 2003. 1829/2003 A2704-12 -Part II – Summary Page 1 of 27-1 PART II Summary of The Request For Authorization of Gm Food And Gm Feed in Accordance With Articles 5 And 17 of Regulation (Ec) No. 1829/2003 Glufosinate Ammonium-Tolerant Soybean Transformation Event A2704-12.

Bogani P, Minunni M, Spiriti MM, Zavaglia M, Tombelli S, Buiatti M, Mascini M, 2009. Transgenes monitoring in an industrial soybean processing chain by DNA-based conventional approaches and biosensors, Food Chem, 113:658-664.

CAC, 2003. Codex principles and guidelines on foods derived from biotechnology. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Food and Agriculture Organisation, Rome.

Cantani A, 2006. Benefits and concerns associated with biotechnology derived foods: can additional research reduce children health risks? Eur Rev Med Pharmacol Sci, 10:197-206.

CERA, 2011. Center for Environmental Risk Assessment, ILSI Research Foundation, A Review of the Environmental Safety of the PAT Protein Washington D.C., USA.

Chandler S, Dunwell JM, 2008. Gene Flow, Risk Assessment and the Environmental Release of Transgenic Plants, Critical Reviews in Plant Sciences, 27: 1, 25 - 49.

Costa J, Mafra I, Amaral JS, Oliveira MBPP, 2010a. Monitoring genetically modified soybean along the industrial soybean oil extraction and refining processes by polymerase chain reaction techniques, Food Research International, 43:301-306.

Costa J, Mafra I, Amaral JS, Beatriz M, Oliveira PP, 2010 b. Detection of genetically modified DNA in refined vegetable oils. Eur Food Res Technol, 230:915-923.

Cromwell GL, Lindemann MD, Randolph JH, Parker GR, Coffey RD, Laurent KM, Armstrong CL, Mikel WB, Stanisiewski EP, Hartnell GF, 2002. Soybean meal from Roundup Ready on conventional soybeans in diets for growing-finishing swine. J Anim Sci, 80:708 - 715.

Eede G van den, Aarts H, Buhk H-J, Corthier G, Flint H J, Hammes W, Jacobsen B, Midtvedt T, Vossen J . van der , Wrijt A. von, Wackernagel W, Wilcks A, 2004. The relevance of gene transfer to safety of food and feed derived from genetically modified (GM) plants. Food and Chemical Toxicology, 42: 1127-1156.

EFSA Journal, 2007. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-NL-2005-18) for the placing on the market of the glufosinate tolerant soybean A2704-12, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC), 524, 1-22.

FSANZ, 2004. Final assessment report, application A481. Food derived from glufosinate ammonium tolerant soybean lines A2704-12 and A5547-127.

Gryson N, Ronsse F, Messens K, De Loose M, Verleyen T, Dewettinck K, 2002. Detection of DNA during the refining of soybean oil. J Amer Oil Chem Soc, 79:171-174.

Gryson N, Messens K, Dewettinck K, 2004. Influence of different oil-refining parameters and sampling size on the detection of genetically modified DNA in soybean oil. J Amer Oil Chem Soc, 81:231-234.

Harrigan GG, Lundry D, Drury S, Berman K, Riordan SG, Nemeth MA, Ridley WP, Glenn KC, 2010. Natural variation in crop composition and the impact of transgenesis. *Nature Biotechnology*, 28: 402–404.

Herouet C, 2002. (a) Phosphinothricin acetyltransferase (PAT) *pat* gene product: Overall amino acid sequence homology search with known toxins and allergens. Bayer CropScience Report No C024489.

Herouet C, 2002. (b) Phosphinothricin acetyltransferase (PAT) *pat* gene product: Epitope homology and glycosylation searches. Bayer CropScience Report No C024490.

Hérouet C, Esdaile D J, Mallyon B A, Debruyne E, Schulz A, Currier T, Hendrickx K, Klis R J, Rouan D, 2005. Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the *pat* and *bar* sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 41,134 -149.

James C, 2011. Executive Summary, Brief 43 Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops. International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications. pp 1-30.

Keese P, 2008. Risks from GMOs due to Horizontal Gene Transfer. *Environmental Biosafety Research*, 7: 123–149.

Kim SH, Kim HM, Ye YM, Kim SH, Nahm D-H, Park HS, Ryn SR, Lee BO, 2006. Evaluating the allergic risk of genetically modified soybean. *Yonsei Medical Journal*, 47 (4):505-512.

Kimber I, Kerkvliet NI, Taylor SL, Astwood JD, Sarlo K, Dearman RJ, 1999. Toxicology of protein allergenicity: prediction and characterisation. *Toxicological Sciences* 48: 157- 162.

Lehrer SB, Reese G, 1997. Recombinant Proteins in Newly Developed Foods: Identification of Allergenic Activity. *Int Arch Allergy Immunol*, 113:122-124.

Mallory-Smith C, Zapiola M, 2008. Gene flow from glyphosate-resistant crops, *Pest Manag Sci*, 64: 28 - 440.

McCann MC, Liu K, TrujilloWA, Dobert RC, 2005. Glyphosatetolerant soybeans remain compositionally equivalent to conventional soybeans (*Glycine max* L.) during three years of field testing. *J Agric Food Chem*, 53: 5331-5335.

Metcalfe DD, Astwood JD, Townsend R, Sampson HA, Taylor SL, Fuchs RL, 1996. Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 36: 165-186.

Nielsen KM, Bones AM, Smalla K, Elsas JD van, 1998. Horizontal gene transfer from transgenic plants to terrestrial bacteria- a rare event? *FEMS Microbiology Reviews*, 22: 79-103.

OECD, 2001. Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Soybean: Key Food and Feed Nutrients and Anti-Nutrients. ENV/JM/MONO(2001)15.

Padgett SR, Taylor NB, Nida DL, Bailey MR, Macdonald J, Holden LR, Fuchs RL, 1996. The composition glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans, The Journal of Nutrition, 702-716.

Pauli U, Liniger M, Zimmermann A, 1998. Detection of DNA in soybean oil. Z Lebensm Unters Forsch A, 207:264-267.

Ray JD, Kilen TC, Abel CA, Paris RL, 2003. Soybean natural cross-pollination rates under field conditions. Environ. Biosafety Res, 2:133-138.

Schulz A, 1993. L-Phosphinothricin N-Acetyl transferase – Inactivation by pig and cattle gastric juice. Hoechst Report No. A51230.

Schulz A, Lutge K, Taggeselle P, 1997. Stability of the Phosphinothricin acetyl transferase enzyme: Heat Stability and Digestion in Simulated Gastric Fluid and Simulated Intestinal Fluid. AgrEvo Report No. A58686.

Yum HY, Lee SY, Lee KE, Sohn MH, Kim KE, 2005. Genetically modified and wild soybeans: an immunological comparison. Allergy Asthma Proc, 26: 210-216.

Çıkar çatışması bildirimi : Bu raporda imzası olan tüm Bilimsel Komite üyeleri tek tek; kendilerinin ve/veya birinci derece yakınlarının, hakkında bilimsel rapor düzenlenen ürünün ithali, dağıtımı, satışı, kullanımı..gibi ticari yönü ile uğraşan firmalarla hiçbir çıkar çatışması (conflict of interest) olmadığını açıkça bildirmektedirler.